



HAL
open science

Les bactériocines : en alternative aux traitements antibiotiques

Hortense Dillenseger

► **To cite this version:**

Hortense Dillenseger. Les bactériocines : en alternative aux traitements antibiotiques. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02107732

HAL Id: dumas-02107732

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02107732>

Submitted on 23 Apr 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2019

Thèse n°23

THESE POUR L'OBTENTION DU
DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par DILLENSEGER Hortense-Lise

Née le 08/10/1993 à Dax

Le 05/03/2019

**Les bactériocines : en alternative aux traitements
antibiotiques**

Sous la direction de : Marie-Cécile BADET

Membres du jury :

M. DECENDIT Alain
Mme BADET Marie-Cécile
M. DAGES Vincent

Président
Examineur
Examineur

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2019

Thèse n°23

THESE POUR L'OBTENTION DU
DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par DILLENSEGER Hortense-Lise

Née le 08/10/1993 à Dax

Le 05/03/2019

**Les bactériocines : en alternative aux traitements
antibiotiques**

Sous la direction de : Marie-Cécile BADET

Membres du jury :

M. DECENDIT Alain
Mme BADET Marie-Cécile
M. DAGES Vincent

Président
Examinateur
Examinateur

– REMERCIEMENTS –

A ma directrice de thèse,

Mme Marie-Cécile BADET,

Pour m’avoir fait l’honneur d’accepter de diriger ce sujet,
De vous être adaptée pour moi à une thèse de Pharma,
Pour votre disponibilité, votre soutien, et vos conseils,
Je tiens à vous présenter ma plus grande reconnaissance.

Aux membres du jury,

Mr Alain DECENDIT,

Pour avoir accepté de présider cette thèse,
Pour votre enthousiasme communicatif et votre patience,
qui font que les étudiants adorent partir à la cueillette des champignons,
Je tiens à vous exprimer mon profond respect.

Mr Vincent DAGÈS,

Pour m’avoir formée pendant ces quelques années chez les Arrigans,
Dans une atmosphère de joie et de bonne humeur, tout en rigueur,
Démontrant que l’on peut s’épanouir et s’accomplir totalement en ce qu’on fait,
Je tiens à vous remercier infiniment.

A mes proches,

Mes chers parents,

Toujours là pour moi avec patience et dévouement malgré mon caractère,
Pour m'avoir appris à toujours donner le meilleur de moi-même en tout,
Pour m'avoir encouragée et m'avoir inculquée la valeur du travail,
Et tant d'autres valeurs, me permettant de faire aujourd'hui ce que j'aime,
J'espère vous rendre fiers.

Mon petit frère Maxou,

Pour être simplement la meilleure personne que je connaisse,
Toi qui m'accompagne à Bordeaux (pas souvent à la BU),
Et grâce à qui j'ai trouvé mon sujet de thèse,
Merci de toujours être volontaire et présent pour tout avec ta bienveillance.

Mon groupe de copains Dacquois,

Toujours là malgré la distance et les obligations de la vie active,
Un vrai bonheur de vous retrouver pour décompresser,
Pour tous les apéros, les bons moments ensemble, les voyages passés et à venir,
Merci d'être mes meilleurs amis.

Mes amis d'enfance,

On ne s'est pas perdu de vue et ce depuis la maternelle,
Le temps a un peu fait le tri et ces amitiés sont inoubliables,
J'ai hâte de vous revoir cet été.

Mes copains de fac,

Pour le soutien en TP afin d'éviter les catastrophes (ou pas),
Les appels en panique la veille des exams,
Et toutes les activités en dehors de l'université.

A la Pharmacie des Arrigans,

La grande équipe atypique au complet,

Pour tout ce que j'ai appris chez vous et ce que vous m'avez apporté,
Pour les fous rires bien-sûr, les chocolaines et les chips aux parfums improbables,
On se croisera aux fêtes de Dax je n'en doute pas.

*A toutes les personnes qui m'ont soutenu pendant ces années mais que je ne peux pas citer ici,
je vous remercie sincèrement.*

*Enfin, un grand merci à tous ceux qui sont venus m'encourager pour la soutenance, grâce à
vous j'aurai été très bien entourée pour cette ultime étape à la fac.*

– TABLE DES MATIERES –

REMERCIEMENTS.....	2
TABLE DES MATIERES	5
LEXIQUE	7
I. Les Antibiotiques.....	10
1. Définitions - Généralités	10
a) <i>Les antibiotiques</i>	<i>10</i>
b) <i>La résistance aux antibiotiques.....</i>	<i>11</i>
c) <i>Les biofilms bactériens.....</i>	<i>12</i>
2. L'émergence inévitable des résistances ?	13
3. Les chiffres de la consommation des antibiotiques et de la résistance	15
a) <i>Rapport du CNOP, chiffres de 2017 en France :.....</i>	<i>15</i>
b) <i>Zoom sur le Plan Ecoantibio 1 (2012-2016) en Santé Animale :</i>	<i>16</i>
c) <i>Quelques chiffres et actions de l'OMS :</i>	<i>16</i>
d) <i>Autres actions.....</i>	<i>17</i>
4. Impact pour le patient.....	18
II. Les Bactériocines	19
1. Définitions - Généralités	19
2. Production - Mode d'action.....	21
III. Matériels et méthodes : recherche d'articles	23
1. Stratégie de recherche.....	23
2. Critères de sélection des articles	23
3. Extraction des données et synthèse.....	23
4. Résultats des recherches sur les bases de données	23
IV. Revue bibliographique.....	25
1. <i>Synergistic effect between colistin and bacteriocins in controlling Gram– pathogens and their potential to reduce antibiotic toxicity in mammalian epithelial cells.....</i>	<i>25</i>
2. <i>Pumicilin 4, a novel bacteriocin with anti-MRSA and anti-VRE activity produced by newly isolated bacteria Bacillus pumilus strain WAPB4.....</i>	<i>26</i>

3. Purification, Characterization, and mode of action of pentocin JL-1, a novel bacteriocin isolated from <i>Lactobacillus pentosus</i> , against drug-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	28
4. A novel bacteriocin from <i>Enterococcus faecalis</i> 478 exhibits a potent activity against vancomycin-resistant enterococci	29
5. Harnessing bacteriocin biology as targeted therapy in the GI tract	30
6. A modified R-type bacteriocin specifically targeting <i>Clostridium difficile</i> prevents colonization of mice without affecting gut microbiota diversity	32
7. Antimicrobial Activities of Bacteriocins E 50-52 and B 602 Against Antibiotic-Resistant Strains Involved in Nosocomial Infections	34
8. Discovery, characterization and in vivo activity of pyocin SD2, a protein antibiotic from <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
9. Efficacy of Lantibiotic Treatment of <i>Staphylococcus aureus</i> -Induced Skin Infections, Monitored by In Vivo Bioluminescent Imaging.....	37
10. Purification and Characterization of Pasteuricin Produced by <i>Staphylococcus pasteurii</i> RSP-1 and Active against Multidrug-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	39
11. Bacteriocin-producing strains of <i>Lactobacillus plantarum</i> inhibit adhesion of <i>Staphylococcus aureus</i> to extracellular matrix : quantitative insight and implications in antibacterial therapy	40
12. Probiotic potential of Lactobacilli with antagonistic activity against pathogenic strains : an in vitro validation for the production of inhibitory substances	42
13. A single dose of epidermicin NI01 is sufficient to eradicate MRSA from the nares of cotton rats.....	43
14. Purification, characterization, mode of action, and enhanced production of Salivaricin mmayel, a novel bacteriocin from <i>Lactobacillus salivarius</i> SPW1 of human gut origin.	45
15. Nisin is an effective inhibitor of <i>Clostridium difficile</i> vegetative cells and spore germination	46
16. Synergistic Antimicrobial Activity Between the Broad Spectrum Bacteriocin Garvicin KS and Nisin, Farnesol and Polymyxin B Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria	48
17. Cas des biofilms : Effect of Bacteriocins on Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> Biofilm.....	52
CONCLUSION	54
ANNEXES	57
BIBLIOGRAPHIE	68

– LEXIQUE –

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

Gram négatif : bactérie négative à la coloration de Gram

Gram positif : bactérie positive à la coloration de Gram

BMR : Bactérie Multi-Résistante

MEC : Matrice Extra-Cellulaire

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline

SARV : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Vancomycine

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

EHPAD : Etablissement d'Hébergement pour Personnes Âgées Dépendantes

CNOP : Conseil National de l'Ordre des Pharmaciens

ECDC : Centre Européen de Prévention et de Contrôle des Maladies

ESKAPE : *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, groupe de microorganismes résistants

INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

ERV : Entérocoques Résistants à la Vancomycine

E. coli : *Escherichia coli*

kDa : kiloDalton

ATP : Adénosine TriPhosphate

FDA : Food and Drug Administration

GRAS : Generally Recognized As Safe

BLSE : Bêta Lactamase à Spectre Etendu

amyA : amyloliquecidine A

CRISPR/cas : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats

– INTRODUCTION –

L'existence d'interactions antagonistes ou synergiques entre les bactéries elles-mêmes est connue et étudiée depuis longtemps. Certains de nos antibiotiques sont d'ailleurs d'origine naturelle, synthétisés par des micro-organismes afin de lutter contre des bactéries concurrentes dans leur milieu.

La production de bactériocines fait partie des mécanismes utilisés par les bactéries dans des mécanismes de compétition. Dès les années 1970, des études ont été menées à ce sujet. Il a été observé que certaines souches de *Staphylococcus aureus* permettaient d'en combattre d'autres, notamment lors d'infections à staphylocoque chez les nouveaux nés ou les personnes faisant des furonculoses à répétition.(1)

En 1988, un autre article scientifique relate un essai, chez les nouveaux nés placés en soins intensifs, sur l'utilisation de ces interactions entre bactéries pour prévenir les infections.(2)

De nos jours, ces compétitions entre bactéries sont encore étudiées en détail. Ces études s'intéressent particulièrement aux médiateurs de ce genre d'interactions.

Les bactériocines constituent une piste prometteuse, les connaissances à leur sujet ne cessant de progresser et d'attirer l'attention des scientifiques.

En effet, ces molécules ont provoqué un grand intérêt pour l'industrie alimentaire à l'origine d'un nombre important d'études visant à utiliser les bactériocines en tant que bio-aliment pour la préservation des denrées alimentaires, grâce à leurs effets antibactériens.

Cette action antibactérienne peut donc avoir une application également intéressante pour le domaine médical : une utilisation thérapeutique des bactériocines pour prévenir ou soigner les infections, en association synergique ou en remplacement des antibiotiques conventionnels.

Cette application médicale est d'autant plus intéressante que nos médicaments antibiotiques actuels peinent de plus en plus à être efficaces et à se renouveler. En effet le flux très faible d'enregistrement de nouvelles molécules est préoccupant, compte tenu en plus du niveau de résistance de certaines bactéries aux antibiotiques disponibles.

Si les bactéries évoluent et s'adaptent très rapidement, le rythme auquel de nouveaux antibiotiques sont conçus est nettement plus lent. Nous pouvons même affirmer qu'il n'y a pas d'innovation dans ce domaine thérapeutique, aucun mécanisme original n'a été développé depuis plus de vingt ans.(3)

Sachant cela, il est plus que nécessaire de trouver une alternative à nos traitements conventionnels.

Les bactériocines peuvent-elles donc être une alternative aux antibiotiques ?

Pour répondre à cette problématique, nous développerons dans un premier temps les antibiotiques et les problèmes qu'ils posent, puis par une revue systématique de la bibliographie nous verrons si actuellement les bactériocines sont une alternative potentielle sérieuse.

I. Les Antibiotiques

1. Définitions - Généralités

a) Les antibiotiques

En 1928, Alexander Fleming découvre l'action antibiotique du *Penicillium*, puis en 1945, conjointement à E.B. Chain et H. W. Florey, il reçoit le « Prix Nobel de Physiologie ou Médecine » pour la découverte, l'isolement, et l'emploi thérapeutique de la pénicilline.

Entre temps, la classe des sulfamides est découverte, et sauve des milliers de vies durant la Seconde Guerre Mondiale. En 1944, S. Waksman découvre la streptomycine, antibiotique actif contre les bactéries Gram négatif et, surtout, contre le bacille de Koch (traitement antituberculeux à l'époque).

La préparation industrielle et la commercialisation des antibiotiques commencent en 1946. Ceci est une véritable révolution dans la prise en charge des maladies infectieuses, ayant jusqu'à nos jours sauvé des millions de vie.

L'antibiothérapie est un traitement médicamenteux visant à éliminer des bactéries pathogènes qui se développent et prolifèrent dans l'organisme, provoquant une infection. Généralement, dans un premier temps, une antibiothérapie dite « probabiliste », c'est-à-dire à large spectre ou fonction des germes habituellement en cause est administrée. Puis, en absence de résultat, une antibiothérapie adaptée, ciblée sur la bactérie responsable de l'infection, et sur l'antibiotique jugé le plus efficace grâce à la réalisation d'un antibiogramme, sera prescrite.

Les antibiotiques ont deux modes d'action :

- Un mode d'action dit « bactéricide » qui détruit la bactérie
- Un mode d'action dit « bactériostatique » qui inhibe la croissance de la bactérie

Chaque antibiotique possède un spectre d'action, correspondant aux germes sur lesquels il montre son activité antibactérienne. Selon l'antibiotique, le spectre peut être plus ou moins large ou étroit.

b) La résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est une aptitude des bactéries qui leur permet de survivre dans leur environnement.

Les antibiotiques à large spectre sont potentiellement plus à risque de créer des résistances. En effet, étant actifs sur plusieurs espèces, ils vont non seulement détruire ou inhiber la bactérie cible, mais également d'autres bactéries présentes dans l'organisme. Ces dernières, au fur et à mesure qu'elles seront confrontées à ces molécules, vont développer des résistances afin de pouvoir survivre. Il y aura donc sélection de populations bactériennes résistantes, qui pourront, de plus, partager leur(s) gène(s) de résistance, et ainsi le nombre de bactéries résistantes va augmenter. C'est le cas, par exemple, des *Clostridium difficile* responsables de colite pseudo-membraneuse.

L'évaluation de la sensibilité d'une bactérie à un antibiotique repose sur la recherche de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice). Cette valeur correspond à la concentration minimale de l'antibiotique dans un milieu de culture, nécessaire pour inhiber totalement la croissance des bactéries. Cette évaluation peut être effectuée par différentes techniques, dont la principale est l'antibiogramme (cf. Annexe 1). Celui-ci est basé sur la mesure de diamètres d'inhibition de croissance, sur milieu gélosé, autour de disques imprégnés de différents antibiotiques à une concentration donnée.

La résistance bactérienne aux antibiotiques est basée sur trois grands mécanismes : la modification de la perméabilité à la molécule, la destruction enzymatique de la molécule, la modification de la cible.

Elle peut être naturelle (innée, intrinsèque à l'espèce bactérienne) ou acquise. Dans ce dernier cas, elle est liée à des modifications au niveau de l'ADN bactérien (le chromosome), causées par des mutations, ou à des transferts de gènes de résistance provenant d'une autre bactérie (via un plasmide).(4)

Une bactérie peut acquérir plusieurs modifications de ce type, la rendant « multirésistante ». Ces bactéries multirésistantes (BMR), réfractaires à tout traitement antibiotique, posent de très nombreux problèmes, en particulier dans le cadre des infections nosocomiales.

Enfin, un certain nombre de bactéries ont la capacité de s'organiser en biofilms qui sont plus résistants aux antibiotiques que les bactéries isolées.

c) *Les biofilms bactériens*

Les bactéries d'une même population peuvent se réunir et s'organiser dans une matrice extracellulaire qu'elles fabriquent elles-mêmes, formant une fine couche appelée « biofilm ». Ces biofilms peuvent se former aussi bien sur un organe du vivant que sur un matériel inerte (prothèse sur un patient, ou environnement hospitalier, facilitant la contamination).

Les bactéries constituent 5 à 35% du volume du biofilm. La MEC organise un système de balayage pour capturer et concentrer les nutriments essentiels depuis l'environnement.

Cette aptitude des bactéries à former un biofilm vient augmenter le phénomène d'antibiorésistance, car ceux-ci sont très difficiles à éradiquer une fois formés, causant des infections chroniques avec des rechutes. A l'heure actuelle, la diversité d'infections à biofilm ne cesse d'augmenter, et il est estimé qu'elles représentent au moins 65% des infections bactériennes (chiffres de 2007). De plus, avec l'augmentation des matériaux implantés, la prévalence des biofilms augmentent également. (5)

Il existe plusieurs hypothèses pouvant expliquer l'antibiorésistance des bactéries organisées en biofilms, et ce ne sont pas les mêmes mécanismes que chez les bactéries isolées : (5–7)

- Les molécules antibiotiques peuvent mal ou insuffisamment pénétrer dans le biofilm : la concentration ne sera donc pas suffisante *in situ* pour être efficace. Les cellules des couches externes du biofilm subissent les dommages sans que les couches sous-jacentes ne soient atteintes.
- Il est possible que certaines bactéries se soient différenciées en un phénotype « protecteur » vis-à-vis des autres bactéries vivant dans le biofilm (exemple des bactéries Bêta-Lactamases positives).
- Des gènes codant pour des pompes à efflux peuvent être exprimés.
- Il est possible que certains agents ou certaines enzymes présents dans la MEC du biofilm capturent ou détruisent les antibiotiques. Ce phénomène peut être en plus exacerbé en réponse à un environnement hostile, traduisant l'état de stress du biofilm bactérien.
- Des changements au niveau de l'environnement du biofilm, comme des variations du pH (produits de dégradation acide), de l'oxygénation (milieu aérobie devenant anaérobie), peuvent provoquer une perte en efficacité de l'antibiotique.

- Enfin l'état de croissance des bactéries dans le biofilm joue également un rôle dans l'antibiorésistance. Celles qui se trouvent dans les couches profondes du biofilm sont dans un état dormant qui les rend persistantes et peut permettre de reconstruire le biofilm s'il est partiellement détruit par des antimicrobiens.

Les biofilms sont vulnérables au moment de leur formation, mais par la suite ces différents mécanismes peuvent souvent être simultanés, ce qui les rend encore plus résistants.

2. L'émergence inévitable des résistances ?

Dès 1945, Flemming souleva lui-même le problème de l'antibiorésistance, présentant déjà les risques liés à une mauvaise utilisation : « *Cela aboutirait à ce que, au lieu d'éliminer l'infection, on apprenne aux microbes à résister à la pénicilline et à ce que ces microbes soient transmis d'un individu à l'autre, jusqu'à ce qu'ils en atteignent un chez qui ils provoqueraient une pneumonie ou une septicémie que la pénicilline ne pourrait guérir* ». (8–10)

Ce fut le cas notamment en 1950 au Japon, avec la mise en évidence de bactéries pathogènes devenues résistantes aux antibiotiques à la suite à leur utilisation fréquente (tétracycline, streptomycine, chloramphénicol).

La méticilline, commercialisée en 1961, et dont la résistance bactérienne apparaît dès 1962, en est un autre exemple. Par la suite, des SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) se répandent progressivement dans les structures de soins, et deviennent même multirésistants (c'est-à-dire résistants à plusieurs antibiotiques de familles différentes). Cela est lié à la forte consommation d'antibiotiques en milieu hospitalier, au risque élevé de contamination, et au confinement. Puis à partir des années 1993 apparaissent les SARM communautaires (en médecine de ville), dont la multirésistance est rare. (11)

Les SARM sont désormais très présents en milieu hospitalier et responsables de cas fatals de septicémie. Jusqu'à ces dernières années, la vancomycine était l'antibiotique qui restait efficace contre ces bactéries, mais une souche de SARV (*Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine) a été identifiée en 1996 au Japon, et a été trouvée depuis dans des hôpitaux. (12) *Enterococcus faecium* est une autre bactérie multirésistante trouvée en milieu hospitalier : elle a tout d'abord été résistante à la pénicilline, puis à la vancomycine, puis au linézolide.

Escherichia coli est, quant à lui, résistant depuis 1993 à cinq variantes de quinolones. En 2016, un nouveau variant a été détecté aux États-Unis, résistant à la colistine (médicament pourtant considéré comme dernier recours contre les infections à cette bactérie).

Un autre exemple est *Mycobacterium tuberculosis* (agent de la tuberculose) qui est couramment résistant à l'isoniazide et à la rifampicine. Actuellement déjà 84 pays ont déclaré à l'OMS des cas de tuberculose ultrarésistantes.

Ces résistances sont très dangereuses et cela constitue un véritable enjeu de santé publique, comme nous allons le voir dans la partie suivante. Leur développement est dû à différents facteurs liés les uns aux autres.

Le problème le plus important est la surconsommation des antibiotiques, aussi bien en santé animale et humaine, que dans l'industrie agro-alimentaire, ainsi que par la contamination de notre environnement. En effet, la présence de trace d'antibiotiques à très faible concentration dans l'environnement (eaux usées, rivières, pollution des sols) provoque chez les bactéries une réaction de stress permettant l'acquisition de gènes de résistance.(8) L'impact environnemental de l'homme contribue donc à la création et à la propagation de résistances.

Au niveau agro-alimentaire, un bon exemple est l'apparition de résistance à l'ampicilline avant même que celle-ci ne soit commercialisée pour l'homme, mais déjà utilisée comme promoteur de croissance dans des élevages en Amérique du Sud. Cet usage massif dans l'industrie a accéléré le développement des résistances.(13)

La surconsommation en santé humaine est principalement due à une prescription abusive. L'emploi systématique des antibiotiques pour soigner des affections qui n'en nécessitaient pas (par exemple des angines virales, des rhinopharyngites non compliquées), va accroître la probabilité d'apparition de résistances acquises, sans pour autant accélérer la guérison ou améliorer le confort du patient.

Selon un rapport du groupe de travail « Tous ensemble sauvons les antibiotiques », entre 30 et 50% des antibiothérapies sont prescrites inutilement, aussi bien en ville qu'en hôpital ou en EHPAD. Du fait du vieillissement de notre population la consommation augmente encore.

L'automédication est également à prendre en compte. Les patients réutilisent des antibiotiques restant d'un traitement antérieur, et ce, sans avis médical, avec le risque qu'il soit inadapté, et générateur de nouvelles résistances.

Un mauvais choix dans la thérapie avec l'utilisation d'antibiotiques à large spectre d'action est également potentiellement plus à risque de sélectionner des bactéries résistantes.

Enfin il faut aussi envisager le problème de la propagation de ces bactéries résistantes, avec d'une part des patients confinés dans un établissement de santé, mais aussi des voyages et des migrations plus nombreux.

Les antibiotiques restent des outils thérapeutiques primordiaux qu'il convient d'utiliser correctement : la bonne molécule au bon dosage, et la durée de traitement adaptée dans la bonne indication. Chacune de ces étapes si elle est mal respectée peut être génératrice d'antibiorésistance.

Santé Publique France estime que d'ici 2050 des maladies infectieuses graves vont réapparaître alors qu'elles avaient été éradiquées grâce aux antibiotiques, et qu'elles seront une des premières causes de mortalité (cf. Annexe 2).⁽¹⁴⁾

D'après l'OMS, nous risquons de ne plus disposer d'antibiotiques efficaces même pour les infections bactériennes courantes. Cela est d'autant plus problématique qu'il y a très peu d'innovations récentes et de découvertes de nouveaux antibiotiques.

Les raisons de cette crise dans la découverte de nouveaux antibiotiques sont notamment économiques et techniques. Économiques en raison de la vitesse d'adaptation des bactéries et de leur capacité à devenir antibiorésistantes qui rendent le développement de ce type de médicaments peu rentable pour l'industrie pharmaceutique. Techniques d'autre part, car il y a un appauvrissement de notre pipeline donc les screenings de molécules n'aboutissent à rien.

3. Les chiffres de la consommation des antibiotiques et de la résistance

a) Rapport du CNOP, chiffres de 2017 en France : (15) pages 15 à 25

La consommation d'antibiotiques se partage entre 93% en ville et 7% à l'hôpital. La répartition est inégale selon les territoires. Globalement, en 10 ans, la consommation en ville a évolué à la hausse (exprimé en doses pour 1000 habitants : 28,6 en 2007 à 29,2 en 2017), alors qu'à l'hôpital elle est restée plutôt stable (2,2 à 2,1 doses pour 1000 habitants).

En santé animale, 95% de la consommation d'antibiotiques est destinée aux animaux de l'industrie agro-alimentaire, contre seulement 5% pour les animaux de compagnie.

Cependant, la consommation a elle considérablement diminué en 10 ans (–48% entre 2007 et 2017) et ce pour toutes les espèces animales concernées. L’Ordre des Vétérinaires s’en félicite d’ailleurs car les résultats ont dépassé leurs objectifs.

En ce qui concerne les résistances en fonction des souches bactériennes, on remarque que certaines se stabilisent ou diminuent (SARM) mais d’autres augmentent beaucoup (*Escherichia coli* et les céphalosporines de 3^{ème} génération).

b) Zoom sur le Plan Ecoantibio 1 (2012-2016) en Santé Animale : (15,16)

Ce plan lancé par le Ministère de l’Agriculture avait pour objectif, d’une part de « diminuer la contribution de la médecine vétérinaire au développement des résistances bactériennes », d’autre part de « préserver durablement l’arsenal thérapeutique vétérinaire ».

Il comportait 40 mesures émanant de 5 grands axes, lesquels étaient : la sensibilisation des professionnels au sujet de l’antibiorésistance, le développement d’alternatives aux traitements antibiotiques, l’encadrement de leur usage, le suivi de leur utilisation en condition réelle, et les actions à mener en dehors du cadre national.

Ces mesures se sont traduites, par exemple, par des formations des vétérinaires et des éleveurs, par des campagnes de communication et de sensibilisation à destination des propriétaires d’animaux de compagnie ou des éleveurs, afin de promouvoir la vaccination.

Les résultats ont été au-delà des objectifs, avec une baisse de 37% de l’exposition des animaux aux antibiotiques. Cette baisse est encore plus marquée pour les antibiotiques critiques faisant l’objet de restrictions réglementaires pour leur prescription, avec moins 75% pour les fluoroquinolones et moins 81% pour les céphalosporines de 3^{ème} génération.(17)

Un second plan Ecoantibio 2017-2021 suit, dans la continuité des objectifs du premier, afin de s’assurer du maintien des bons résultats auprès des vétérinaires et éleveurs, avec pour message-clé « les antibiotiques, comme il faut, quand il faut ! ».(18)

c) Quelques chiffres et actions de l’OMS : (15,19)

En 2014, l’OMS publie le rapport « *Résistance aux antimicrobiens : rapport mondial sur la surveillance* », qui fait le point sur l’ampleur inquiétante des bactéries résistantes dans le monde.

Parmi elles se trouve par exemple *E. coli*, résistante dans certaines régions du globe aux fluoroquinolones dans les infections urinaires pour plus d’un patient sur deux. L’échec des

céphalosporines de 3^{ème} génération en traitement de dernier recours contre la gonorrhée a également été confirmé dans 10 pays dont la France.

En 2015, l'OMS adopte un plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens (dont les antibiotiques). Il comporte 5 objectifs stratégiques : mieux faire connaître et comprendre ce problème, renforcer les connaissances par la surveillance et la recherche, réduire l'incidence des infections, optimiser l'usage des agents antimicrobiens, garantir des investissements durables pour combattre.

Depuis ce plan, l'OMS a établi une liste « d'agents pathogènes prioritaires pour la recherche et développement » d'antibiotiques, avec les 12 familles de bactéries les plus menaçantes pour la santé humaine. Elle comporte trois catégories selon l'urgence du besoin de nouveaux antibiotiques : critique, élevée ou moyenne. Les antibiotiques classés comme critiques font l'objet depuis 2016 de restrictions réglementaires pour leur prescription en santé animale (participant aux résultats du plan « Ecoantibio 1 » avec les fluoroquinolones et les céphalosporines de 3^{ème} génération).

d) Autres actions

L'OMS a lancé un appel international aux Etats et aux industries pharmaceutiques pour les alerter sur les bactéries multirésistantes et les inciter à trouver de nouvelles molécules, ce qui montre la nécessité d'une action mondiale globale.

A la suite à cet appel, le Danemark va créer en 2019, le « Centre international pour des solutions interdisciplinaires sur la résistance aux antibiotiques ». Ce centre de recherche international est financé par des fonds privés et publics, il a pour but de trouver des solutions face aux bactéries multirésistantes.(20)

L'ECDC (Centre Européen de Prévention et de Contrôle des Maladies) rapporte que sur tous les *Staphylococcus aureus* isolés de la peau et des tissus souples infectés, le taux de SARM est d'environ 20% en Europe. Ce chiffre monte à 47% aux Etats-Unis. Ce centre observe également que des taux de résistance similaires ou plus hauts sont retrouvés pour les mêmes bactéries, et que chez certains patients les traitements antibiotiques ne fonctionnent plus. Il s'agit du groupe de microorganisme résistants « ESKAPE » pour *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*.(21)

En France, un investissement de 40 millions d'euros dans un programme de recherche sur l'antibiorésistance a été annoncé et sera coordonné par l'INSERM.

4. Impact pour le patient

L'émergence des résistances aux antibiotiques est un phénomène biologique naturel, mais qui est accéléré par l'homme.

Avec l'apparition de ces résistances et le manque d'innovation en matière d'antibiotiques, les ressources thérapeutiques s'amenuisent et les thérapeutes peuvent se trouver dans des situations d'impasse où il n'y a pas de traitement efficace, même pour des infections banales.

Cela est très problématique face aux bactéries multirésistantes qui infectent chaque année plus de 158 000 patients en France, dont 12 500 en décèdent. Il est d'ailleurs estimé que d'ici 2050 les bactéries résistantes pourraient tuer jusqu'à 10 millions de personnes par an, soit autant que le cancer.(3,14,15)

Un exemple, parmi d'autres, montrant la gravité du problème, est celui du CHU du canton de Vaud en Lausanne où, en 2016, des interventions chirurgicales ont dûes être reportées à cause de la propagation d'entérocoques résistants à la vancomycine (ERV). Dans ce CHU, il y a eu 3 épidémies en 3 ans, un hôpital étant un milieu de propagation excellent pour ces bactéries qui peuvent survivre des mois sur des matériaux inertes et se transmettre facilement entre patients en raison de la proximité et la forte fréquentation.

II. Les Bactériocines

1. Définitions - Généralités

Louis Pasteur et Jules Joubert ont été les premiers à mettre en évidence une interaction antagoniste entre *Escherichia coli* et *Bacillus anthracis*, et montrent qu'elle est due à une protéine.

Par la suite, André Gratia, professeur spécialisé en biologie et parasitologie à l'Université de Liège, observe la production d'une substance antibiotique provoquant un antagonisme spécifique entre deux souches d'*E. coli*.(22) Il découvre le même mécanisme chez d'autres entérobactéries, et nomme ces substances à action antibactérienne des « colicines ». Le terme « bactériocine » fut utilisé pour la première fois en 1964 par André Lwoff, médecin et biologiste français.

Une bactériocine est une toxine spécifique produite par une bactérie et émise dans le milieu où elle vit afin de se protéger, favorisant ainsi sa propre croissance au détriment des autres bactéries présentes dans le milieu. Il s'agit d'un peptide antimicrobien qui tue ou bloque le développement d'autres bactéries. Elles peuvent, par exemple, être synthétisées en réponse à un environnement défavorable afin que la bactérie productrice survive. Cela lui confère un avantage sélectif vis-à-vis des autres populations bactériennes.

Des bactéries productrices ont été isolées dans des plantes, des animaux, de la nourriture, les eaux et les sols. Ce mécanisme est notamment présent au niveau du tractus gastro-intestinal, présentant une des flores les plus dynamiques avec un écosystème complexe, où la synthèse de bactériocines confère un avantage compétitif à la bactérie.

Généralement les bactériocines produites par des bactéries Gram positif sont inhibitrices d'autres souches Gram positif, et sont moins efficaces contre les souches Gram négatif.

Les bactériocines sont spécifiques de la bactérie productrice, par exemple la colicine pour *Escherichia coli*, la pyocine de *Pseudomonas aeruginosa*, la vibriocine de *Vibrio cholerae*, la staphylococcine de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, ou encore la nisine de *Lactococcus lactis*.

Selon Todd Klaenhammer, qui a donné la définition la plus largement utilisée (1988), « *les bactériocines sont des protéines, ou complexes de protéines, avec une activité bactéricide contre des espèces proches de la souche productrice. Elles représentent une large classe de substances antagonistes qui varient considérablement du point de vue de leur poids moléculaire, de leurs propriétés biochimiques, de leur spectre et mode d'action* ». Il propose, en 1993, une classification, les répartissant en 4 classes selon leur structure peptidique, leur poids moléculaire, leur mode d'action, et leurs propriétés biochimiques.(23)

- La Classe I se compose des « lantibiotiques ». Les peptides ont une taille inférieure à 5kDa, sont stables à la chaleur, et contiennent des acides aminés soufrés formés post-traductionnellement (lanthionine, déhydroalanine, déhydrobutyrine...). Cette Classe I peut être divisée en 2 sous-classes Ia et Ib selon la charge des peptides : Ia, cationiques hydrophobes avec jusqu'à 34 acides aminés, et Ib globulaires chargés négativement ou sans charge contenant jusqu'à 19 acides aminés.

- La Classe II contient les peptides de poids moléculaire inférieur à 10kDa, stables à la chaleur, ne contenant pas d'acides aminés modifiés. Elle est divisée en 3 sous-classes, Classe IIa contenant entre 27 et 48 acides aminés, une partie N-terminale hydrophobe avec un pont disulfure et une séquence « YGNGV », puis une partie C-terminale hydrophobe ou amphiphile déterminant la spécificité d'action (par exemple la pédiocine PA-1, la sakacine, l'entéroccine A...). Les bactériocines de la Classe IIa sont toutes actives contre *Listeria monocytogenes*. Elles peuvent posséder un 2^{ème} pont disulfure dans leur partie C-terminale ce qui stabilise leur structure tertiaire et leur confère une meilleure activité antimicrobienne, une meilleure résistance aux hautes températures, et un spectre d'action plus large. Ensuite la Classe IIb nécessitant l'association de 2 peptides pour être actives, de type E « Enhancing » où l'association des 2 peptides augmente mutuellement leur activité, ou S « Synergy » où ils sont complémentaires (plantaricine EF, lactocine 705, lactococcine MN...). La Classe IIc se compose des bactériocines qui ne peuvent pas être rangées dans les sous-classes IIa et IIb (plantaricine A, lactococcine A, lactococcine 972...).

- La Classe III contient les bactériocines de poids moléculaire supérieur à 30kDa et sensibles à la chaleur. Elle ne se compose que de 4 molécules qui sont l'helvéticine J, l'entérollysine A, la zoocine A, et la millericine B.

- Enfin la Classe IV est constituée des peptides nécessitant une partie lipidique ou carbohydratée pour avoir leur activité. A ce jour, aucune bactériocine de cette classe n'a été décrite.

2. Production - Mode d'action

Initialement les bactériocines sont des pré-peptides biologiquement inactifs, qui deviennent actifs sous forme de peptide à la suite de modifications post-traductionnelles. Souvent, leur production est régulée par le système de *Quorum Sensing*, un mécanisme enclenchant l'expression des gènes en fonction de la densité de la population bactérienne dans le milieu.

Les bactériocines ont différents mécanismes d'action. Soit elles vont altérer la perméabilité membranaire des bactéries, soit inhiber la synthèse de leurs peptidoglycanes, soit encore agir en détruisant les liaisons peptidiques entre les peptidoglycanes. Les « lantibiotiques » c'est-à-dire les bactériocines de Classe I, interagissent avec les membranes cellulaires par interactions électrostatiques ou par liaison à des récepteurs spécifiques. Ces interactions permettent de former des pores larges et non-spécifiques à la surface des cellules cibles, causant un efflux rapide des composés cytoplasmiques (ions, ATP, acides aminés...). Elles détruisent donc les bactéries en augmentant leur perméabilité membranaire.

Les bactériocines de Classe II agissent de la même manière, en provoquant la perméabilisation de la membrane, ce qui conduit à la mort cellulaire.

Pour la Classe III, le mode d'action est complètement différent. En effet, elles agissent par hydrolyse des liens peptidiques entre les peptidoglycanes de la membrane des bactéries sensibles. Selon le nombre de bactéries sensibles, le spectre d'action des bactériocines est plus ou moins large (étroit pour la zoocine A, large pour l'entérollysine A et la millericine B).(23)

Les bactériocines étant pour la plupart inodores, sans goût, et surtout non toxiques, elles ont été approuvées par la FDA (Food and Drug Administration) en tant qu'élément « bio-préservatif » alimentaire car elles ont le statut GRAS (Generally Regarded As Safe). De nos jours elles sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire pour la conservation des denrées.

Un exemple plus récent vient du Canada où, en 2017, pour la conservation du poisson, intervient la mise au point de la bactériocine M35, bio-ingrédient naturel permettant de protéger ses aliments contre la bactérie *Listeria monocytogenes*. Cette molécule est produite par une culture bactérienne (comme on le fait avec les probiotiques), sans conséquence pour la santé humaine, qui protège le poisson pendant 21 jours à 4 °C.(24)

Une autre application intéressante se trouve dans le domaine médical par le développement de recherches dans la prévention des caries dentaires, de la gingivite ou de la mauvaise

haleine (un bain de bouche existe déjà). Ainsi que dans le domaine qui nous intéresse ici, à savoir l'alternative aux traitements antibiotiques.

III. Matériels et méthodes : recherche d'articles

1. Stratégie de recherche

Les bases de données électroniques « Pubmed » et « Scopus » ont été utilisées, « Cochrane » n'a pas donné de résultats.

La combinaison de mots clés suivante a été appliquée dans les moteurs de recherche : *bacteriocin antibiotic alternative, bacteriocin therapy.*

Les articles trop anciens sont exclus afin d'obtenir des résultats plus pertinents.

2. Critères de sélection des articles

Une première sélection des articles est faite après lecture du titre et du résumé de chacun. Beaucoup d'articles concernant l'application des bactériocines en tant que bio-préservatif alimentaire sont exclus.

Puis après lecture complète une deuxième sélection est faite à partir de la pré-sélection.

3. Extraction des données et synthèse

Les articles ont été systématiquement lus, résumés partie par partie, puis les données ont été synthétisées. Nous retrouvons l'objectif de l'étude, les expériences effectuées, les observations, et les conclusions. Ensuite, mon avis personnel et mon ressenti sont ajoutés article par article.

4. Résultats des recherches sur les bases de données

Les recherches électroniques à partir des mots clés ont permis d'identifier 493 articles scientifiques. Après une première sélection à la suite de la lecture des titres et des résumés de chacun, 30 publications ont été sélectionnées car elles concordaient avec les informations recherchées.

Puis l'analyse des textes complets de chaque article a permis d'exclure encore des publications pour en retenir 20. Ensuite les doublons ont été exclus, c'est ainsi que 17 articles, considérés comme les plus pertinents et représentatifs du sujet, ont finalement été sélectionnés pour la revue bibliographique.

Un schéma résumant la méthode de sélection des articles scientifiques : « *Méthodologie de recherche pour la revue systématique de la bibliographie actuelle* » est présenté en annexe (cf. Annexe 3).

Une synthèse des données importantes issues des études est également présentée en annexe sous forme de tableau récapitulatif (cf. Annexe 4).

IV. Revue bibliographique

1. Etude “Synergistic effect between colistin and bacteriocins in controlling Gram-pathogens and their potential to reduce antibiotic toxicity in mammalian epithelial cells”(25) – 2013

a) Résumé

La colistine est un antibiotique ancien que les cliniciens et les microbiologistes sont de nos jours amenés à réutiliser, d’une part à cause des problèmes de résistance aux antibiotiques actuels, d’autre part du fait du manque d’innovation dans ce domaine thérapeutique. Cet antibiotique néphrotoxique et neurotoxique a été disponible dans les années 60, mais remplacé vers 1970 par d’autres molécules moins toxiques.

L’étude consiste à tester l’activité *in vitro* de la colistine seule, puis associée tour à tour à deux bactériocines, sur diverses souches toutes Gram négatif. Les bactériocines étudiées sont la nisine A et la pédiocine, les souches ciblées dans l’étude sont *Salmonella choleraesuis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica* et *Escherichia coli*. La CMI de chaque peptide antimicrobien, seul ou en combinaison, est déterminée par la méthode en microdilution.

Les objectifs sont également d’évaluer la génotoxicité de la colistine en mesurant son activité hémolytique sur des échantillons de sang frais humain, ainsi que la toxicité sur les cellules eucaryotes grâce à des lignées cellulaires de rein de singe.

b) Résultats

D’une part il est observé que l’association de la colistine et de chaque bactériocine permet de diminuer la CMI de l’antibiotique, mettant donc en évidence un effet synergique des couples colistine-nisine A et colistine-pédiocine. Ainsi une dose moindre d’antibiotique est nécessaire. D’autre part il est montré que l’activité antibactérienne de la colistine est dose et temps-dépendante.

Au niveau de la génotoxicité, il est observé que la colistine altère et détruit l’ADN des cellules sanguines. Il est très intéressant d’observer que l’augmentation de la concentration en nisine A permet de diminuer la toxicité de la colistine sur les cellules rénales de mammifère, avec même une suppression de la cytotoxicité pour 1,5 à 2mg/ml de nisine A.

c) Discussion

L'association de l'antibiotique colistine avec les bactériocines nisine A et pédiocine sur les quatre bactéries Gram négatif testées se révèle très prometteuse.

Cet article montre qu'il existe une synergie significative entre la colistine et la nisine A, ainsi qu'entre la colistine et la pédiocine. Ceci permettrait d'avoir la même efficacité antibactérienne avec une dose moindre d'antibiotique, et donc de diminuer les effets indésirables chez le patient.

De plus l'association avec la nisine A permet de diminuer la quantité nécessaire en antibiotique et ainsi de diminuer sa cytotoxicité. En effet, les peptides n'ont pas d'activité hémolytique, et la colistine cytotoxique perd sa toxicité quand elle est associée à la nisine A.

Face à ces bactériocines prometteuses, des études pharmacocinétiques et pharmacodynamiques sont nécessaires.

d) Avis personnel

Je trouve cette étude intéressante et très encourageante. Je m'interroge cependant sur la capacité de la nisine à supprimer la cytotoxicité de la colistine. Il serait utile d'étudier ce mécanisme plus en détail, est-t-il seulement dose dépendant, comment opère-t-il ? Ceci serait donc à investiguer dans une nouvelle étude, ainsi que l'aspect thérapeutique pour remplacer ou suppléer à nos antibiotiques conventionnels.

2. Etude "*Pumicilin 4, a novel bacteriocin with anti-MRSA and anti-VRE activity produced by newly isolated bacteria Bacillus pumilus strain WAPB4*"(26) – 2007

a) Résumé

La bactériocine pumiciline 4 est issue de la bactérie *Bacillus pumilus* (souche WAPB4). Cette bactériocine est active sur les SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) et les ERV (*Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine), ainsi que d'autres bactéries Gram positif.

L'augmentation de la prévalence de ces bactéries pathogènes SARM et ERV constitue un sérieux problème de santé publique dans le monde.

Cette étude évalue l'activité antibactérienne de la pumiciline sur le SARM et l'ERV, cette molécule pouvant être ainsi une alternative aux traitements auxquels ces infections deviennent résistantes.

La méthode utilisée est la diffusion sur gélose, et le titre de la bactériocine a été déterminé par des dilutions en série.

Cette étude teste également la bactériocine dans différentes conditions, afin de donner ses caractéristiques (conditions du milieu, effet de la température sur son activité, du pH, des enzymes...).

b) Résultats

L'étude permet de déduire que le mode d'action de la pumiciline est dose-dépendant sur les deux bactéries testées. Ainsi pour une dose faible de bactériocine l'effet antimicrobien sera bactériostatique, tandis que pour une forte dose il sera bactéricide.

c) Discussion

La pumiciline 4 est une bactériocine produite par *Bacillus pumilus*, ayant une activité antibactérienne sur les Gram positif, notamment le SARM et l'ERV. Son activité est même supérieure sur le SARM que sur un Staphylocoque doré sauvage.

Cette étude met en évidence le mode d'action bactériostatique puis bactéricide de la pumiciline 4 (après avoir augmenté sa concentration dans le milieu), ainsi que ses propriétés physico-chimiques.

D'autres études sont nécessaires pour exploiter le potentiel des bactériocines afin d'enrayer dans le futur les infections à SARM et à ERV.

Remarque : *Bacillus pumilus* est déjà utilisé en Asie comme probiotique dans le produit « Biosubtyl[®] ».

d) Avis personnel

Il est très intéressant de tester ces bactériocines sur des germes parmi les plus résistants qui posent des problèmes actuellement au niveau de la thérapie. Il est dommage qu'il s'agisse d'une étude *in vitro*, mais elle permet de caractériser cette bactériocine afin d'améliorer nos connaissances et la compréhension de ses mécanismes d'action.

3. *Etude “Purification, Characterization, and mode of action of pentocin JL-1, a novel bacteriocin isolated from Lactobacillus pentosus, against drug-resistant Staphylococcus aureus”*(27) – 2017

a) **Résumé**

La souche bactérienne *Lactobacillus pentosus*, provenant de cellules intestinales du requin bambou, produit la pentocine JL-1, bactériocine active sur des bactéries Gram négatif et positif, particulièrement sur les *Staphylococcus aureus* multirésistants (SARM) qui présentent un risque accru de morbidité et de mortalité. De plus, les souches de *S. aureus* résistantes aux antibiotiques représentent un risque potentiel pour les humains, car elles pourraient transférer leur résistance à d'autres bactéries pathogènes.

Cette étude a pour but de d'évaluer les propriétés de la pentocine JL-1.

b) **Résultats**

La pentocine JL-1 a un vaste spectre inhibiteur et sa CMI est basse pour le SARM. Son mode d'action est bactéricide, en effet elle perméabilise la membrane plasmique, ce qui provoque la mort cellulaire. Cet effet est dose dépendant.

L'activité antibactérienne est aussi testée sur d'autres souches de *S. aureus* provenant du porc, montrant l'efficacité sur six autres souches.

La microscopie électronique à balayage permet d'observer les dommages faits à la membrane cellulaire. Il en résulte un important changement de morphologie. Il est précisé que de tels dommages ont été rapportés pour d'autres bactériocines (nisine, pédiocine, plantaricine).

c) **Discussion**

Au cours de cette étude, plusieurs souches de SARM ont été testées, le mode d'action bactéricide contre le SARM a été observé. La pentocine JL-1 a un fort potentiel dans le domaine alimentaire pour la conservation, en préservant les denrées de la contamination par le *Staphylococcus aureus*.

d) **Avis personnel**

Cet article n'est malheureusement pas assez orienté sur l'intérêt médical de cette bactériocine pourtant prometteuse. Il serait intéressant de la reprendre pour le domaine de la santé.

4. Etude “A novel bacteriocin from *Enterococcus faecalis* 478 exhibits a potent activity against vancomycin-resistant enterococci”(28) – 2017

a) Résumé

La bactériocine EF478 testée dans cette étude provient d’*Enterococcus faecalis*, souche 478. Elle possède une activité antibactérienne sur les entérocoques multirésistants dont l’ERV. Le premier cas d’ERV a été rapporté en Europe en 1980, et depuis leur prévalence n’a cessé d’augmenter dans différents pays. Cette bactérie peut causer des infections graves (endocardites, bactériémie, d’autant plus chez les patients immunodéprimés...).

L’objectif ici est de tester l’activité antibactérienne de la bactériocine EF478 contre les entérocoques multirésistants dont l’ERV, d’évaluer ses propriétés physico-chimiques, et de chercher comment optimiser sa production.

Cette étude est d’autant plus intéressante que la bactérie productrice a été isolée à l’hôpital, sur un objet inerte. En effet, depuis 30 ans nous observons l’émergence hospitalière des entérocoques multirésistants et des entérocoques résistants à la vancomycine (ERV), antibiotique pourtant considéré comme dernier recours donc très efficace. *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* causent les infections nosocomiales les plus communes, ils peuvent survivre plusieurs semaines sur des surfaces inertes (comme à l’hôpital sur le matériel) et même dans des conditions extrêmes (température, pH...), ce qui facilite leur propagation.

b) Résultats

Parmi les échantillons 4 bactériocines sont choisies, et c’est EF478 qui est retenue car elle inhibe 41,1% des 68 souches testées d’entérocoques multirésistants et d’ERV.

Pour l’optimisation de la production il est observé que la mytomycine C permet de multiplier par 2 l’activité d’EF478.

c) Discussion

La bactériocine EF478 est un candidat prometteur pour servir d’anti-ERV. Le nombre d’entérocoques résistants n’a cessé d’augmenter alors que le nombre d’antibiotiques efficaces décline, il est donc intéressant d’approfondir ces recherches afin de trouver des solutions alternatives.

d) Avis personnel

L'étude consiste surtout en la sélection d'une souche potentiellement efficace dans la production de bactériocines. Les bactériocines sont ensuite caractérisées par diverses expériences. Le spectre d'action de la bactériocine trouvée est prometteur car cette molécule est particulièrement active sur des ERV qui posent un problème en thérapeutique actuellement.

5. Etude "Harnessing bacteriocin biology as targeted therapy in the GI tract"(29) – 2015

a) Résumé

Les entérocoques sont des bactéries Gram positif présentes dans le microbiote intestinal chez les mammifères notamment, dont l'homme. Certains sont non pathogènes, composants de la flore commensale saine et participant au bon fonctionnement du microbiome gastro-intestinal. Mais d'autres sont pathogènes et dangereux, notamment les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) qui posent un problème en santé publique.

Cette étude expérimente une stratégie thérapeutique de décolonisation du tractus gastro-intestinal par les ERV grâce à la production de bactériocines par la flore commensale. Elle est développée sur un modèle souris, avec une souche d'*Enterococcus faecalis* produisant la bactériocine 21 « B21 », qui lui confère un avantage compétitif sur les autres populations bactériennes au sein du microbiome gastro-intestinal. Les bactéries productrices sont introduites par l'eau de boisson de la souris, avec une exposition prolongée.

Cette étude a pour but de suivre la dynamique de colonisation, d'étudier le rôle et le fonctionnement de B21, et d'en évaluer le potentiel thérapeutique.

b) Résultats

Les bactéries abritant le plasmide pPD1 sont capables d'exprimer la bactériocine 21 « B21 » grâce à laquelle elles colonisent le tractus gastro-intestinal et éliminent par compétition les autres bactéries « B21 sensibles » (ne possédant pas le plasmide pPD1). Ceci permet à la population d'*Enterococcus faecalis* non pathogènes de croître au sein d'une niche stable, en diminuant la colonisation préexistante du tractus par les entérocoques résistants pathogènes (notamment les ERV).

Lors de l'étape de la « conjugaison », les bactéries sécrétrices de B21 partagent avec les membres de la même communauté bactérienne leur plasmide. Ainsi elles transfèrent leur capacité de production de B21. Le risque potentiel est le transfert de la capacité de résistance aux antibiotiques.

Une autre expérience est donc effectuée. Il s'agit d'une modification des bactéries bloquant la conjugaison. Les souches d'*Enterococcus faecalis* expérimentales produisent B21 mais sans capacité de conjugaison. Elles diminuent la colonisation du tractus par les ERV sans risquer l'apparition de résistances ultérieures.

En ce qui concerne la permanence des souches, la colonisation reste stable jusqu'à 11 semaines au total. Il y a donc un effet rémanent qui protège la souris à l'arrêt de l'exposition.

c) Discussion

La souche expérimentale d'*Enterococcus faecalis* a un potentiel thérapeutique très intéressant. L'étude décrit une diminution voire une suppression de la flore d'entérocoques résistants.

Elle permet la décolonisation des souches pathogènes sans risque de sélection d'une flore résistante puisque ses capacités de conjugaison sont bloquées.

Face aux ERV qui posent problèmes dans nos thérapeutiques, nous pouvons utiliser ce type de méthode pour suppléer ou traiter. Affaiblir la population d'ERV avant un traitement antibiotique par exemple, ou les utiliser simultanément pour avoir une synergie d'action, ou les utiliser en thérapie seule.

Autant de pistes nécessitant plus d'études afin d'approfondir les connaissances et la sécurité, car un des risques ici est encore l'apparition de résistances si les ERV apprennent à résister à B21.

d) Avis personnel

Je trouve cette étude complète et très intéressante. La colonisation de notre flore intestinale par une souche non pathogène à but thérapeutique est sans conséquences néfastes pour le microbiome, contrairement aux traitements antibiotiques qui le modifient. Par exemple en causant des effets indésirables pour le patient (diarrhées très fréquentes sous amoxicilline/acide clavulanique, mycoses vaginales...), ou étant à risque de créer des résistances (sélection de *Clostridium difficile* parmi la flore, à l'origine de colite

pseudomembraneuse, à la suite d'un usage répété de l'amoxicilline). A l'arrêt de l'exposition l'effet reste actif, observé pour au moins 11 semaines post-exposition. Il serait intéressant d'approfondir cette étude, et d'investiguer les effets chez l'homme.

6. Etude “A modified R-type bacteriocin specifically targeting *Clostridium difficile* prevents colonization of mice without affecting gut microbiota diversity”(30) – 2015

a) Résumé

Cette étude s'intéresse à *Clostridium difficile*, bactérie assez répandue et à l'origine d'infections nosocomiales notamment, dont la prévalence augmente (surtout chez les personnes âgées). Ceci constitue un problème de santé publique car nous manquons de moyens de prophylaxie efficace, et il y a des problèmes d'antibiorésistance (clindamycine).

La diffocine est une bactériocine, qui contient des structures de gaine contractiles semblables à celles d'un myophage, produite par certaines souches de *Clostridium difficile*. Elle tue la bactérie de manière classique (en créant un pore) mais sa particularité est son mécanisme de ciblage qui lui permet d'agir très spécifiquement. Ainsi contrairement aux antibiotiques conventionnels, seules les bactéries pathogènes sont ciblées et la flore bactérienne présente autour n'est pas affectée. De plus elle agit rapidement, ce qui en ferait avec sa spécificité d'action un bon agent prophylactique.

Le but ici est d'une part de tester chez la souris l'efficacité de la diffocine RT-027 sur une souche de *Clostridium difficile* (autre que la souche productrice) qui est connue pour provoquer des phénotypes infectieux très graves, d'autre part de voir si le microbiote est altéré par le traitement.

b) Résultats

Les souris sont exposées via leur cage aux *Clostridium difficile*, via leur eau de boisson à la bactériocine (prototype « avidocine »), et sont réparties en plusieurs groupes.

Chez la cohorte placebo les auteurs observent une colonisation des selles à plus de 90%. Parmi les souris traitées il n'y a aucune colonisation significative par les *Clostridium difficile*.

A l'arrêt du traitement les souris redeviennent sensibles à la colonisation au bout de 3 jours. De plus chez une souris saine exposée à l'avidocine, il n'y a pas d'altération significative de la composition du microbiote intestinal habituel.

Quant à la résistance naturelle à la colonisation que peuvent posséder les souris de façon innée, elle n'est pas non plus entravée par l'avidocine, ce qui montre encore son innocuité pour le microbiote sain.

c) Discussion

Pour prévenir la propagation des infections nosocomiales comme celles à *Clostridium difficile*, les méthodes d'hygiène et la limitation des contacts de personnes à personnes sont insuffisants, surtout en milieu hospitalier.

Cette étude propose de traiter des patients dont la flore intestinale est colonisée, car ils constituent une source primaire de dissémination des spores bactériennes. Ainsi le traitement peut être préventif en empêchant la colonisation par le pathogène, et aussi curatif pour les patients déjà atteints car il permet une décolonisation.

Cette bactériocine n'altère pas le microbiote, ce qui est un réel avantage par rapport aux antibiotiques classiques, et elle n'affecte pas non plus sa capacité de résistance naturelle à la colonisation par d'autres bactéries.

d) Avis Personnel

Cette étude est intéressante car elle est faite *in vivo*, même si ce n'est pas encore sur l'Homme c'est plus probant qu'une étude *in vitro*. La bactériocine répond aux conditions de spécificité et de rapidité d'action.

Enfin l'approche ayant pour but d'intégrer les bactériocines dans une démarche de prévention est novatrice et semble prometteuse. Il serait donc, comme pour les autres études vues précédemment, très intéressant de continuer les recherches chez l'homme.

7. Etude “Antimicrobial Activities of Bacteriocins E 50-52 and B 602 Against Antibiotic-Resistant Strains Involved in Nosocomial Infections”(31) – 2009

a) Résumé

Cette étude consiste en la recherche des CMI des bactériocines E50-52 et B-602 sur un panel de bactéries causant des infections nosocomiales. Les bactéries ont été recueillies entre 2003 et 2007 dans des hôpitaux Russes, elles sont au nombre de 64 pour l'étude. Elles sont dangereuses car elles causent des infections parfois létales, on trouve notamment des SARM, ERV, BLSE (Bêta-Lactamases à Spectre Etendu), et des bactéries multirésistantes.

Les bactériocines proviennent du caecum d'un poulet, *Enterococcus faecium* 50-52 produit la bactériocine E50-52 et *Paenibacillus polymyxa* souche B-602 la bactériocine B-602.

L'étude permet d'observer le profil d'activité antimicrobienne de ces bactériocines, et de les comparer à 19 antibiotiques conventionnels dont les CMI sont aussi effectuées sur les 64 bactéries.

b) Résultats

La caractérisation des bactériocines montre qu'elles s'apparentent à la Classe IIa en raison de leur séquence en acides aminés, mais leur spectre d'action est beaucoup plus large (elles sont actives sur des Gram négatif et Gram positif).

Les SARM testés ont tous un phénotype multirésistant. Ils sont hautement sensibles aux bactériocines avec même de très basses CMI pour la majorité d'entre eux (0,025µg/mL). Par contre, pour les antibiotiques classiques il est observé beaucoup de résistances.

En ce qui concerne les bactéries Gram négatif fermentantes (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*) qui ont pour la plupart un phénotype multirésistant, les résultats sont sensiblement les mêmes : sensibles aux bactériocines, beaucoup de résistance aux antibiotiques.

Enfin le reste des bactéries testées sont des Gram négatif de la famille des Entérobactéries, majoritairement à phénotype multirésistant et produisant des Bêta-Lactamases à spectre étendu. Parmi les antibiotiques, seul le méropenem est actif, et les bactériocines sont également efficaces.

c) Discussion

Afin d'expliquer la faible concentration nécessaire en bactériocine pour qu'elle soit active, l'hypothèse d'un récepteur spécifique à la surface de la bactérie cible est proposée (elle est validée par d'autres études que nous allons voir).

Une autre hypothèse était que la bactérie productrice de la bactériocine s'en protège elle-même en exprimant des protéines immunitaires (celle-ci aussi est validée par d'autres études).

Les CMI sur les Gram positif et Gram négatif, montrent que le mécanisme probable serait la perturbation de la membrane (elle est constituée différemment d'où les variations de CMI nécessaires).

Enfin il est à noter que *Pseudomonas aeruginosa* se distingue des autres bactéries sensibles, car sa CMI est plus élevée pour les deux bactériocines.

La conclusion est que ces bactériocines sont une alternative potentielle en remplacement ou en adjonction des antibiotiques, donc il faut continuer les recherches.

d) Avis Personnel

D'une part cette étude constitue un listing de CMI *in vitro*, dans des conditions simples de laboratoire avec un Mueller-Hinton et un bouillon. Donc même si les résultats sont positifs ils ne sont pas forcément extrapolables. Il faut cependant la replacer dans son contexte, elle date de 2009 donc depuis de nouvelles études plus poussées ont été réalisées. Néanmoins elle proposait des hypothèses qui ont été validées dans les études plus récentes.

D'autre part les antibiotiques testés ont tout de même été efficaces anciennement, les bactéries ont acquis des mécanismes de résistances qu'elles pourraient très bien acquérir contre les bactériocines avec le temps.

L'étude montre la grande efficacité des bactériocines *in vitro*, sur un panel très qualitatif de bactéries virulentes.

8. Etude “Discovery, characterization and in vivo activity of pyocin SD2, a protein antibiotic from *Pseudomonas aeruginosa*”(32) – 2016

a) Résumé

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie opportuniste Gram négatif qui cause des problèmes d’antibiorésistance et est impliquée dans des infections graves (pneumonies, infections sur plaies par brûlures, infections sur cathéters...). En effet la prévalence des bactéries multirésistantes parmi cette population ne cesse d’augmenter et les traitements efficaces diminuent. Elle produit une bactériocine appelée pyocine qui lui confère un avantage pour la compétition intra-espèce, lui permettant de croître au détriment d’autres bactéries.

L’étude est faite *in vivo* sur des souris présentant une infection pulmonaire à *Pseudomonas aeruginosa*. Le but est d’utiliser la pyocine SD2 produite par une autre espèce de ce genre bactérien (la souche productrice est protégée de la bactériocine qu’elle produit) afin de lutter contre l’infection. La bactérie utilisée à but thérapeutique produit la pyocine SD2, la bactérie pathogène produit la pyocine S2. L’effet de ces deux bactériocines sera comparé sur les *Pseudomonas aeruginosa* pathogènes.

Les mécanismes de ciblage cellulaire et de translocation membranaire sont aussi étudiés.

b) Résultats

L’étude développe très précisément, étape par étape, les mécanismes de ciblage, de liaison à la bactérie et de translocation.

Ensuite, pour l’expérience, les souris sont traitées avec la pyocine SD2 par voie intra-nasale une heure après inoculation du germe pathogène. Le groupe de souris traitées ne présente pas de signes de maladie et survit jusqu’à la fin de l’expérience (24 heures d’observation).

Dans leurs poumons, le niveau de bactéries est très bas, et elles ne sont pas résistantes à la bactériocine.

Un autre groupe de souris est traité dans les mêmes conditions mais avec la pyocine S2, produite par le germe de *Pseudomonas aeruginosa* inoculé. Elles développent la maladie (sévère), résultat prévisible qui confirme que la bactérie productrice n’est pas sensible à sa bactériocine.

c) Discussion

L'étude révèle que la pyocine SD2 a une activité puissante *in vivo* chez la souris. Cette activité est spécifique à l'espèce bactérienne (spectre étroit), ce qui en fait un bon candidat pour la thérapie.

La bactériocine se lie via un antigène présent à la surface des *Pseudomonas aeruginosa*. Il est important en termes d'applications thérapeutiques car c'est l'antigène de surface majeur de ces bactéries dans le cas des infections pulmonaires (fibroses kystiques).

d) Avis personnel

Pseudomonas aeruginosa développe des mécanismes de résistance via sa membrane externe, il est donc judicieux de s'intéresser à des thérapeutiques qui la cible. Cette étude va dans ce sens pour enrichir nos connaissances et proposer des thérapies novatrices.

Elle est intéressante car réalisée *in vivo*, et présente un traitement où la spécificité va jusqu'à l'espèce parmi un genre bactérien : elle ne touche pas les bactéries de la flore appartenant à une autre famille, et parmi la famille elle ne tue qu'une certaine souche.

9. Etude "Efficacy of Lantibiotic Treatment of *Staphylococcus aureus*-Induced Skin Infections, Monitored by *In Vivo* Bioluminescent Imaging"(33) – 2016

a) Résumé

Les *Staphylococcus aureus* sont des bactéries pathogènes causant la majorité des infections de la peau et des tissus souples, et n'échappent pas au phénomène d'antibiorésistance (SARM notamment).

La prévalence de ces infections augmente, l'efficacité de nos thérapies antibiotiques diminue, il est donc là aussi nécessaire de trouver une alternative.

Cette étude s'intéresse aux lantibiotiques, bactériocines de Classe I, qui inhibent la croissance de ces bactéries. Elle consiste en l'évaluation chez la souris de la guérison de plaies infectées avec *Staphylococcus aureus*, après traitement.

Elle compare séparément les effets de la mupirocine, traitement antibiotique de référence, et de 3 bactériocines (nisine, clausine, amyloliquecidine ou amyA).

L'évolution *in vivo* est suivie en temps réel pendant 7 jours, puis une étude histologique est faite.

b) Résultats

L'efficacité antimicrobienne des 4 substances est similaire, il n'y a pas de différence significative, la charge bactérienne est bien diminuée.

Pour la mupirocine et la nisine, l'effet apparaît plus rapidement qu'avec la clausine et l'amyA, mais le résultat final est similaire en terme de guérison.

Cependant il est observé que les lantibiotiques permettent un meilleur processus de cicatrisation que la mupirocine. En effet pour la fermeture et la réparation de la plaie, les auteurs observent une amélioration avec les bactériocines. La plaie soignée par mupirocine présente un ralentissement dans les phases d'épithélialisation et de néovascularisation du tissu, avec une inflammation, au contraire des plaies traitées avec les lantibiotiques.

c) Discussion

Pour un effet antibactérien comparable, les lantibiotiques testés ont en plus une action bénéfique sur la cicatrisation, alors que la mupirocine ralentit la réparation tissulaire. Cette classe de bactériocines, et surtout la nisine pour laquelle plusieurs études en témoignent(34), semble avoir un effet immuno-modulateur chez l'hôte. Ainsi, elle diminue les médiateurs de l'inflammation et favorise la régénération tissulaire, en plus de son activité antimicrobienne.

Autre fait intéressant, le mécanisme d'action de la nisine pour cibler et tuer les bactéries passe par la liaison à un lipide (le lipide II) dont la bactérie a besoin pour vivre. Ce lipide lui étant obligatoire, elle ne pourra pas le modifier par mutation pour résister à la nisine sans effet délétère pour elle-même.

La nisine va également avoir un effet bactéricide par un deuxième mécanisme (création de pores), elle a donc un mode d'action dual (ciblage et liaison par le lipide II puis création de pore), ce qui limite le risque d'antibiorésistance.

d) Avis personnel

Cette étude démontre l'efficacité des lantibiotiques et leurs avantages par rapport à la thérapeutique antibiotique classique, pour laquelle il existe en plus des résistances actuellement. Le double mécanisme d'action de la nisine pour tuer et son ciblage au lipide II sont très intéressants car le problème d'échappement thérapeutique ne devrait pas se poser ici.

10. Etude “Purification and Characterization of Pasteuricin Produced by *Staphylococcus pasteurii* RSP-1 and Active against Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus*”(35) – 2018

a) Résumé

Les staphylocoques provoquent diverses maladies dont des infections sévères, et il existe une antibiorésistance chez les SARM.

Ils affectent également la conservation de nos denrées alimentaires en produisant des entérotoxines staphylococciques qui sont résistantes à la chaleur, et ne seront donc pas éliminées par la cuisson.

Cette étude s'intéresse à la pasteuricine produite par *Staphylococcus pasteurii* (souche RSP-1) afin de la décrire, de caractériser ses propriétés, et de tester son activité antimicrobienne. Elle est testée contre des staphylocoques, et notamment des SARM, ainsi que contre des bactéries Gram positif et Gram négatif, pour évaluer son potentiel en tant que protecteur alimentaire ou antibiotique.

b) Résultats

Sur les 14 souches de SARM, 11 sont sensibles, la pasteuricine inhibe leur croissance. Elle est également active contre 20 espèces de staphylocoques sur les 24 testées, et sur 2 souches contaminant les aliments (*Bacillus sp*, *Listeria sp*).

Cependant elle n'a aucun effet sur les 11 souches Gram négatif testées.

Son activité antimicrobienne semble être bactéricide, et étant donné qu'elle détruit rapidement les cellules cibles, elle aurait un fort intérêt pour préserver les denrées alimentaires. En effet, les bactéries sont tuées suffisamment rapidement pour ne pas avoir le temps de sécréter leurs entérotoxines staphylococciques, qui sont extrêmement difficiles à éliminer une fois libérées.

c) Discussion

La pasteuricine est donc active et efficace sur des staphylocoques (dont des espèces SARM) ainsi que sur certaines bactéries Gram positif contaminant les aliments.

Cela en fait un bon candidat pour la conservation des denrées alimentaires (en raison aussi de ses caractéristiques physiques), et dans le domaine médical, en alternative aux antibiotiques.

d) Avis personnel

Cette étude est intéressante. Nous voyons, de plus, une bactériocine avec un bon profil antimicrobien, efficace même sur des souches résistantes difficiles à éradiquer avec nos antibiotiques classiques. Il est dommage qu'elle ne soit pas plus orientée vers l'aspect thérapeutique.

***11. Etude "Bacteriocin-producing strains of *Lactobacillus plantarum* inhibit adhesion of *Staphylococcus aureus* to extracellular matrix : quantitative insight and implications in antibacterial therapy"*(36) – 2015**

a) Résumé

Les bactéries lactiques sont connues pour leur capacité à produire des bactériocines, d'où leurs applications dans le domaine alimentaire, ainsi qu'en tant que probiotique afin d'améliorer la santé de notre flore intestinale.

Cette action vient de leur capacité naturelle à adhérer aux cellules intestinales, leur effet antagoniste sur certains pathogènes, leur rôle dans la cicatrisation de la muqueuse et dans des phénomènes d'immuno-modulation (lutte contre l'inflammation, contre la réactivité locale du système immunitaire).

L'utilisation des bactéries lactiques sous forme de probiotique pourrait permettre de prévenir la colonisation intestinale par des pathogènes, d'une part en occupant les sites de liaison, d'autre part en produisant des bactériocines et / ou d'autres métabolites.

Le germe *Lactobacillus plantarum* produit une bactériocine capable d'inhiber l'adhésion des *Staphylococcus aureus* à la matrice extracellulaire des cellules intestinales (composant la muqueuse).

Le but de l'étude est de suivre les dynamiques de liaison à la matrice extracellulaire des bactéries lactiques seules puis en présence des *Staphylococcus aureus* pour évaluer le potentiel thérapeutique.

Ensuite les auteurs investiguent les effets sur l'adhésion de la plantaricine, bactériocine provenant de bactéries lactiques isolées dans des aliments.

Pour l'expérience sont utilisées trois méthodes dites de « déplacement », « d'exclusion », et de « compétition », comparées chacune sur la capacité de liaison au collagène puis à la mucine.

Dans la technique « d'exclusion », les *Lactobacillus plantarum* sont d'abord ajoutés à la MEC, puis les *Staphylococcus aureus* dans un second temps.

Par « compétition », les *Lactobacillus plantarum* et *Staphylococcus aureus* sont ajoutés simultanément à la MEC.

Enfin, par « déplacement » les *Lactobacillus plantarum* sont ajoutés dans un second temps à la MEC, après les *Staphylococcus aureus*.

La capacité de liaison *in vitro* est évaluée par fluorescence et par cytométrie en flux.

b) Résultats

Par exclusion, les auteurs observent une forte inhibition de l'adhésion des *Staphylococcus aureus*, avec une action plus forte sur le collagène que sur la mucine.

Par compétition, même observation que précédemment.

Par déplacement, l'efficacité est considérablement inférieure. L'ajout du *Lactobacillus plantarum* sur une MEC déjà colonisée par les *Staphylococcus aureus* est beaucoup moins efficace. Il y a quand même une inhibition, mais bien moindre.

Les auteurs s'intéressent également à la plantaricine A, bactériocine produite par *Lactobacillus plantarum* qui est capable de coloniser la MEC et de provoquer la perméabilisation de ses fonctions. Ceci en ferait un bon candidat, elle est donc testée sur le collagène et la mucine séparément, puis sur trois bactéries pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*).

Il en résulte une forte activité anti-listériale, encore plus marquée sur le collagène, et globalement une diminution des liaisons pour les trois bactéries.

c) Discussion

Les résultats sont particulièrement encourageants, globalement la bactériocine de *Lactobacillus plantarum* et notamment la plantaricine sont capables d'inhiber la liaison de bactéries pathogènes à la MEC intestinale *in vitro*. Cet aspect compétitif entre souches promet des applications dans le domaine de la santé, bien au-delà de l'industrie agro-alimentaire.

d) Avis personnel

L'étude est complète car en plus d'étudier l'effet des bactéries lactiques, elle l'approfondit en faisant l'expérience avec la plantaricine. Ces bactériocines possédant une capacité naturelle

à adhérer à la MEC sont prometteuses en tant que probiotiques, avec un effet réellement thérapeutique car elles permettent de lutter contre la colonisation par un pathogène.

Il serait bon de faire des essais *in vivo*, et de comparer avec des antibiotiques (même si l'avantage déjà des bactériocines est l'absence d'effets indésirables).

12. Etude “Probiotic potential of Lactobacilli with antagonistic activity against pathogenic strains : an *in vitro* validation for the production of inhibitory substances”(37) – 2017

a) Résumé

Les bactéries du genre *Lactobacillus* permettent notamment de maintenir la stabilité du tractus gastro-intestinal, de prévenir des infections intestinales, et contribuent à la bonne santé de l'intestin. Elles sont considérées comme non pathogènes. Elles sont capables de générer des agents bactéricides bioactifs et de produire des substances antimicrobiennes (bactériocines, peroxyde d'hydrogène, acides organiques).

Dans cette étude 3 souches (T₂, T₄, T₁₆) de *Lactobacillus sp* considérées comme « idéales » étant donné leur profil, sont sélectionnées dans du fromage blanc. Le but est d'évaluer leur activité antimicrobienne pour servir d'alternative thérapeutique aux antibiotiques.

b) Résultats

Les mesures des diamètres d'inhibition de croissance sur les différentes souches pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Shigella sp*) montre que les 3 souches T₂, T₄, T₁₆ sont efficaces *in vitro*.

Selon le pathogène, elles peuvent avoir un effet bactériostatique ou bactéricide. Pour l'action bactériostatique, un minimum de croissance bactérienne est observé avant l'inhibition, tandis que pour l'action bactéricide aucune croissance ne se développe.

Au niveau de la caractérisation des substances antimicrobiennes, il résulte que T₂ agit en produisant une bactériocine, pour T₄ et T₁₆ il s'agit d'un acide organique.

Enfin, l'observation par microscopie électronique montre un changement morphologique chez les sept souches pathogènes testées, avec des altérations et / ou des ruptures de la membrane.

c) Discussion

Le but de cette étude était l'isolement, l'identification, et la caractérisation du potentiel probiotique des bactéries lactiques, à partir d'un échantillon de fromage blanc. Les souches T₂, T₄, T₁₆ se révèlent efficaces et sont de bons candidats pour un nouveau probiotique.

De plus, l'activité antibactérienne bactériostatique et bactéricide *in vitro*, due à une bactériocine pour T₂, en fait un candidat pour l'usage antibactérien.

d) Avis personnel

Cette étude reste intéressante bien qu'elle soit plus orientée vers l'aspect probiotique et pas sur l'antibiothérapie. Néanmoins, elle démontre une fois de plus l'implication des bactériocines dans l'effet antibactérien, ce qui prouve leur potentiel.

Il est possible que de nombreux probiotiques agissent par des bactériocines, et qu'actuellement leur implication soit sous-estimée. Il serait bon d'étudier plus précisément ces mécanismes d'action.

13. Etude "A single dose of epidermicin NI01 is sufficient to eradicate MRSA from the nares of cotton rats"(38) – 2016

a) Résumé

La colonisation nasale par les *Staphylococcus aureus* est un des risques majeurs d'infection post-chirurgicale ou à la suite d'une dialyse rénale. Chez le patient porteur c'est également un risque de contamination pour les autres ou pour le patient lui-même qui peut contracter une infection plus grave si le germe se déplace.

Le but de cette étude est d'évaluer l'efficacité de l'épidermicine, bactériocine de Classe II, pour éradiquer la charge bactérienne nasale du *Staphylococcus aureus in vivo*, sur le rat cotonnier. Ce modèle est choisi car la structure de ses narines est proche de celle de l'homme. L'épidermicine est active sur les Gram positif, dont le SARM, et possède un faible niveau de toxicité, ce qui en fait un bon candidat.

Son efficacité est comparée à celle de la mupirocine, antibiotique de référence pour lequel il existe malheureusement des résistances. Il est recommandé d'appliquer cet antibiotique à usage local deux fois par jour pendant trois à dix jours consécutifs.

b) Résultats

En administrant localement des doses de 0,04% ou 0,2% d'épidermicine deux fois par jour pendant trois jours, il n'y a pas d'efficacité significative, la colonisation bactérienne reste robuste.

En administrant en une seule fois une dose de 0,8% il y a une baisse de la charge bactérienne, c'est très efficace.

Quant à la mupirocine à 2%, les auteurs obtiennent la même efficacité mais avec une posologie de deux applications par jour pendant trois jours.

Enfin, l'examen histologique ne révèle pas de cytotoxicité, pas de nécrose, et aucune présence de sang.

c) Discussion

L'étude montre qu'au niveau de l'efficacité, une dose d'épidermicine à 0,8% est équivalente à six doses de mupirocine à 2%. Ceci montre la puissance de cette bactériocine par rapport aux traitements conventionnels.

Un des avantages de diminuer la dose est, d'une part économique, d'autre part positif pour le patient. Ceci diminue également le risque d'apparition de résistances et facilite l'utilisation pour le patient qui sera donc plus observant et mieux soigné.

Il existe d'autres études similaires avec notamment la lysostaphine efficace aussi sur des *Staphylococcus aureus* dont des SARM. L'étude l'utilise sous forme de crème, à très faible dose car son activité anti-staphylocoque est très forte. Il serait peut être possible d'associer ces deux bactériocines afin d'augmenter leur efficacité.(39)

d) Avis personnel

Cette étude est intéressante car elle est faite *in vivo* et en comparaison avec le traitement de référence en médecine actuellement. Elle démontre l'efficacité de cette bactériocine, qu'il serait bon de vérifier chez l'homme car elle semble très prometteuse.

14. Etude “Purification, characterization, mode of action, and enhanced production of Salivaricin mmaye1, a novel bacteriocin from *Lactobacillus salivarius* SPW1 of human gut origin”(40) – 2018

a) Résumé

La bactérie *Lactobacillus salivarius* est retrouvée dans le tractus intestinal de l’homme et d’animaux (porcs, poulets), elle produit la salivaricine.

Cette bactérie lactique est présente chez des individus en bonne santé, il est donc probable qu’elle participe au bien-être et au bon fonctionnement du microbiote intestinal, comme la majorité des bactéries lactiques.

Le but de cette étude est d’isoler, d’identifier et de caractériser cette bactériocine, pour rechercher quelles applications elle pourrait avoir.

b) Résultats

L’étude montre que cette bactériocine possède un spectre vaste. Les CMI sont basses donc elle est puissante. Elle est notamment active sur des entérocoques, certains streptocoques, d’autres bactéries Gram positif, mais aussi originalement sur deux bactéries Gram négatif.

Son mode d’action est bactéricide. Elle forme des pores sur la membrane bactérienne afin de la perméabiliser pour la détruire.

c) Discussion

En raison de l’augmentation des phénomènes d’antibiorésistance (avec même des multirésistances), et face à la demande au niveau alimentaire des consommateurs d’avoir des aliments moins chimiques, cette bactériocine se montre très prometteuse.

Elle apporte une solution alternative aux antibiotiques, le microbiote n’est pas altéré par son action (pas de toxicité rapportée), et elle peut servir de bio-conservateur.

Il serait intéressant de faire des essais *in vivo*, pour tester, par exemple, son efficacité sur des infections causées par les bactéries de son spectre d’action (à l’origine de caries dentaires, endocardites, péritonites...).

Son action est rapide, ce qui est positif pour éviter le développement de mécanismes de résistance, cependant il faudra améliorer sa stabilité pour une administration chez l’homme ou l’animal (sensible à la digestion par les protéases du tractus).

En comparaison, la nisine (qui est largement étudiée par et pour l'industrie alimentaire) possède un spectre moins vaste et ne touche aucune bactérie Gram négatif.

d) Avis personnel

Cette étude est intéressante et prometteuse bien qu'*in vitro*, la bactériocine est bien étudiée. Elle démontre vu ses propriétés qu'il serait sûrement probant de faire des essais *in vivo* chez l'homme et d'approfondir nos connaissances.

15. Etude "Nisin is an effective inhibitor of *Clostridium difficile* vegetative cells and spore germination"(41) – 2015

a) Résumé

Clostridium difficile est la bactérie la plus impliquée dans les pathologies entériques nosocomiales, à la suite de la prise d'antibiotiques qui modifient notre flore commensale.

Cette bactérie Gram positif anaérobie peut causer de simples colonisations asymptomatiques, mais aussi des diarrhées aiguës, des colites pseudomembraneuses, qui si elles ne sont pas traitées peuvent conduire à des perforations intestinales voire même au décès. Sa forme végétative produit les toxines à l'origine de la maladie, elle a aussi la capacité de former des spores responsables de sa transmission (contamination entre patients).

Les premiers traitements utilisés ne sont plus adaptés à cause de la forte résistance. Les traitements de recours (métronidazole, vancomycine) deviennent beaucoup moins efficaces avec des échecs dans 2 à 38% des cas, ou des rechutes pour 8 à 50%.

La nisine provient de bactéries lactiques, elle a le statut GRAS et est d'ailleurs déjà utilisée en tant que bio-conservateur dans des aliments, ainsi que pour la prévention des mammites bovines en médecine vétérinaire.

Dans cette étude les nisines A et Z sont testées pour leurs effets sur la croissance bactérienne de *Clostridium difficile*, et comparées à des antibiotiques conventionnels afin d'évaluer leur potentiel en tant qu'alternative, ou leur complémentarité.

b) Résultats

Les tests de sensibilité sont effectués sur des *Clostridium difficile* issus du milieu médical, 23 souches ont été recueillies.

La sensibilité est de 100% pour le métronidazole, la vancomycine, le chloramphénicol.

Il y a un peu de résistance pour la tétracycline (une souche sur 23), pour l'érythromycine (8 souches sur 23), et beaucoup pour la ciprofloxacine (22 souches sur 23).

Les deux nisines sont efficaces, avec une meilleure sensibilité pour la A que la Z.

L'observation par microscopie électronique à transmission montre que la structure des bactéries est altérée, avec la formation de trous dans sa membrane et le relargage de son matériel cytoplasmique dans le milieu, ce qui cause certainement sa mort.

Enfin l'action de la nisine A est testée sur la viabilité des spores et leur capacité de germination. A partir de 12,8µg/mL la viabilité diminue déjà, pour n'atteindre que 40 à 50% à une concentration de nisine A de 25,6µg/mL.

Quant à la germination des spores, elle diminue significativement à partir d'une concentration de nisine A de 0,4µg/mL.

c) Discussion

Les deux bactériocines testées *in vitro* se révèlent actives contre les souches de *Clostridium difficile* recueillies, la nisine A est plus puissante. Cette nisine A est aussi efficace contre la viabilité des spores et leur germination. Ceci est intéressant car les spores sont connues pour être très résistantes aux désinfectants chimiques et aux antibiotiques, elles sont difficiles à éradiquer et permettent la transmission de la bactérie pathogène.

d) Avis personnel

Les deux nisines sont efficaces même si la CMI nécessaire est supérieure à celle des antibiotiques. Elles sont moins puissantes *in vitro* mais leur usage serait à privilégier si l'efficacité est validée *in vivo*. En effet, par rapport à nos traitements conventionnels, les bactériocines n'ont pas les mêmes effets indésirables néfastes sur le microbiote, elles permettent d'éviter l'apparition de nouvelles résistances au métronidazole et à la vancomycine (notamment le risque de sélection d'ERV).

Cette étude est donc positive de ce point de vue. Elle apporte une alternative intéressante aux nombreuses difficultés rencontrées avec les antibiotiques recommandés (rechutes, échecs). Elle serait donc à approfondir, d'autant plus que la nisine A est active sur les spores, ce qui est donc très intéressant pour éventuellement bloquer la transmission entre patients, personnel médical, proches.

16. Etude “Synergistic Antimicrobial Activity Between the Broad Spectrum Bacteriocin Garvicin KS and Nisin, Farnesol and Polymyxin B Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria”(42) – 2017

a) Résumé

Cette étude se concentre sur la garvicine KS, bactériocine provenant de *Lactococcus garvieae*. Son activité est testée sur plusieurs bactéries Gram positif et Gram négatif, seule ou en association à la polymyxine B (antibiotique de la famille des polypeptides), la nisine (bactériocine de Classe I), et le farnésol (alcool de synthèse), pour évaluer s’il y a une synergie d’action entre les bactériocines et ces autres antimicrobiens.

Comme vu précédemment le spectre d’action des bactériocines est composé généralement de bactéries proches de la souche productrice. Néanmoins, il peut arriver que les bactériocines issues de bactéries Gram positif aient un spectre plus large.

Pour l’étude, 250 souches sont testées dont 240 sont des bactéries Gram positif (staphylocoques essentiellement, dont des SARM), et le reste sont des bactéries Gram négatif (*Acinetobacter spp*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*).

b) Résultats

Le spectre de la garvicine KS s’avère être large, puisqu’elle est active sur 19 espèces de Gram positif, et sur *Acinetobacter spp*. Cependant, seule, elle n’est pas active sur 53 espèces de staphylocoques ni sur *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (même avec de fortes concentrations).

En raison de l’absence d’effet sur ces 53 espèces de staphylocoques, celles-ci sont sélectionnées pour les tests de synergie sur les Gram positif. Les résultats intéressants qui ressortent de l’étude sont synthétisés sous forme de tableau dans la partie *c) Discussion* (Tableau 1).

L’association de la garvicine KS avec la nisine est efficace sur les staphylocoques, de même que l’association avec le farnésol. De plus, du fait de la synergie des trois substances, les CMI diminuent : divisée par huit pour le farnésol, par 10 pour les bactériocines. L’association des deux bactériocines éradique complètement les colonies en 12 heures, sans repousse observée après 48 heures, ce qui indique une forte synergie.

Si l'association du farnésol à la garvicine KS se révèle moins efficace, celle du farnésol avec la nisine est similaire à celle des deux bactériocines ou des trois composés (garvicine + nisine + farnésol).

Six autres souches de *Staphylococcus aureus* sont également testées, dont 3 SARM. Dans ce cas seule l'association des trois composés est efficace.

Pour les bactéries Gram négatif, les auteurs font des tests sur des souches d'*Acinetobacter spp*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*. En ce qui concerne les espèces d'*Acinetobacter spp*, l'association de la garvicine avec le farnésol n'est pas efficace, mais celle de la polymyxine B avec la garvicine l'est sur 100% des souches.

Ce résultat est intéressant car parmi les souches il y a *Acinetobacter iwoffii* qui présente des résistances à la polymyxine B en thérapie clinique.

L'efficacité de la nisine avec la polymyxine B est similaire mais incomplète car les colonies repoussent dans les 48 heures.

Enfin l'association des trois molécules (deux bactériocines + polymyxine B) est efficace avec une cinétique d'action rapide (4 heures). Il est à noter que seules, la garvicine et la polymyxine B peuvent inhiber les bactéries, mais les colonies repoussent dès 8 heures.

Pour les *Escherichia coli*, les bactériocines seules n'agissent pas, mais il y a une synergie avec la polymyxine B. Chaque bactériocine améliore le taux de mortalité bactérienne par la polymyxine B, mais il y a une repousse des colonies dans les 48 heures. Cependant l'association des trois permet une éradication après 8 heures et sans repousse.

Enfin pour *Pseudomonas aeruginosa* aucune synergie n'est observée.

c) Discussion

La garvicine KS possède un vaste spectre d'action si l'on considère la diversité des souches testées. Les associations synergiques permettent de diminuer les concentrations nécessaires, d'augmenter l'efficacité, de diminuer la repousse et la probabilité d'apparition de résistances. Certaines permettent aussi d'augmenter la cinétique d'action, ce qui est très positif.

La polymyxine B est un antibiotique conventionnel utilisé en traitement de recours dans les cas de résistances et/ou d'infections nosocomiales problématiques, mais de fortes concentrations sont nécessaires, et cette molécule est toxique.

L'association à la garvicine KS permet donc de diminuer la toxicité tout en augmentant l'efficacité, ce qui est très intéressant.

Un exemple important est donné dans l'étude, par la démonstration de l'efficacité de la polymyxine B associée à la garvicine sur *Acinetobacter iwoffii*, pathogène causant des infections nosocomiales et pour lequel la polymyxine B seule dans nos traitements conventionnels est inefficace.

En raison de la synergie existant entre ces antimicrobiens, leurs mécanismes d'action sont obligatoirement différents. Une hypothèse est que la polymyxine B détruit la membrane ce qui permet le passage des bactériocines, favorisant l'action synergique.

Enfin une autre forte synergie est celle de la polymyxine B avec la garvicine KS ou la nisine, sur les *Staphylococcus aureus*.

De plus, en ajoutant le farnésol à la polymyxine B et une bactériocine, l'éradication est totale. Ceci fait du farnésol un adjuvant prometteur, d'autant plus qu'il est inoffensif et peu cher.

Tableau 1 : résumé les points importants de cette étude, avec les synergies d'efficacité notable :

Association	Souche pathogène tuée	Conclusion
Garvicine + Polymyxine B	<i>Acinetobacter spp</i> et <i>Escherichia coli</i>	Les associations synergiques donnent une mort bactérienne rapide et une éradication totale sans repousse.
Nisine + Polymyxine B	Similaire	
Garvicine + Nisine	<i>Staphylococcus aureus</i>	La garvicine seule n'a pas d'effet. Elle est active en association avec la nisine. Les deux bactériocines ont un mécanisme d'action différent permettant une synergie.
Farnésol + Bactériocine	Eradication de toutes les souches de <i>Staphylococcus spp</i> testées, en utilisant une concentration moindre de bactériocine (baisse des CMI)	Le farnésol peut être prometteur en adjuvant.

d) Avis personnel

La garvicine KS est une bactériocine très prometteuse, son spectre est large (avec même des bactéries résistantes ou à l'origine d'infections nosocomiales graves), sa cinétique d'action est rapide.

L'étude est très intéressante et complète, les synergies sont en effet une alternative supplémentaire à approfondir en plus des bactériocines. Les modes d'action sont aussi à étudier plus précisément afin de mieux comprendre.

17. Cas des biofilms : Etude “Effect of Bacteriocins on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilm”(43) – 2013

Cette étude s’intéresse aux infections à SARM, bactéries pouvant s’organiser en biofilm.

La souche de SARM-23 est choisie car elle est rencontrée dans le domaine médical et est capable de former des biofilms robustes.

La vancomycine est l’antibiotique de recours restant assez efficace sur ces bactéries malgré des résistances. Cependant il n’est pas du tout actif lorsqu’elles sont organisées en biofilms.

Le but de cette étude est de tester l’efficacité de trois bactériocines, la nisine A, la lacticine Q, et la nukacine ISK-1. Les expériences sont faites sur bactéries SARM-23 isolées et aussi en biofilm, puis sur d’autres biofilms staphylococciques.

Les mécanismes d’action sont également étudiés en détail afin de comprendre comment agir au mieux sur les biofilms (mesures par fluorescence selon la concentration en bactériocine, mesures d’efflux d’ATP, potentiel de membrane, diffusion des bactériocines dans le biofilm).

- Résultats :

La nisine A possède la meilleure activité contre les cellules seules ou en biofilm.

Son mode d’action est dual. Elle agit d’une part de façon bactéricide en s’insérant à la membrane pour former un pore, causant une mort rapide. D’autre part, de manière bactériostatique en ciblant puis en inhibant le lipide II, ce qui empêche la biosynthèse de la membrane bactérienne.

La lacticine Q est active contre les deux configurations, mais avec un effet bien moindre sur les biofilms que la nisine A. Son action est bactéricide et originale, par formation de larges pores toroïdaux, provoquant une fuite protéique qui déstabilise la balance lipidique de la cellule, la conduisant à sa mort.

Il est à noter que pour agir elle ne nécessite pas de récepteur spécifique.

La nukacine ISK-1 a un effet bactériostatique par ciblage du lipide II, actif sur les cellules seules mais inactif sur le biofilm.

Enfin la vancomycine se montre bactéricide sur les cellules seules, avec une efficacité moindre que la nisine A et la nukacine ISK-1, mais inefficace sur les biofilms.

Une hypothèse proposée est que la MEC du biofilm inhibe son action, puisqu’elle est active sur les cellules seules.

Une autre expérimentation donne des résultats qui suggèrent que la vancomycine pénètre le biofilm et cible le lipide II des bactéries en cours de division. Or, étant donné que dans le biofilm le taux de croissance cellulaire est bas, la cible de la vancomycine sera moins accessible.

Au niveau de la diffusion des antimicrobiens dans les couches du biofilm, il résulte que la nisine A et la lacticine Q pénètrent et atteignent les couches les plus profondes. En effet, il est observé que les bactéries mortes sont réparties dans tout le biofilm. Cette expérience confirme également la meilleure efficacité de la nisine A, puis de la lacticine Q, et l'inactivité de la nukacine ISK-1 et de la vancomycine sur le biofilm.

- Conclusion – Hypothèse :

Aux vues des résultats, il ressort que les bactériocines qui agissent en formant des pores stables sur les bactéries du biofilm sont efficaces. En effet la nukacine ISK-1 et la vancomycine qui agissent toutes les deux en ciblant le lipide II vont être actives sur les cellules isolées mais pas en cas de biofilm. La nisine aurait une meilleure efficacité que la lacticine Q grâce à son mode d'action dual.

Les bactériocines constituent donc aussi une thérapie potentielle pour traiter les biofilms. Elles pourraient être administrées en prévention lors d'une chirurgie avec pose d'implant ou en traitement curatif, seules ou en association avec nos antibiotiques. Cette étude est très complète et encourageante, ce qui mérite de poursuivre les recherches dans cette voie.

– CONCLUSION –

Au cours des études présentées nous avons vu l'efficacité réelle des bactériocines en tant qu'antimicrobiens. Leurs mécanismes d'action ont été détaillés, leur toxicité pour l'hôte a été évaluée.

Leurs spectres sont très variables et intéressants, avec notamment une activité contre des bactéries résistantes aux antibiotiques qui aujourd'hui posent des problèmes de santé publique. Nous avons vu leur spécificité de ciblage des bactéries. L'effet est précis à l'espèce près au sein d'un même genre bactérien.

Une autre propriété intéressante reconnue est l'effet immuno-modulateur de certaines bactériocines sur l'hôte, avec comme exemple l'amélioration qualitative et l'accélération de la cicatrisation.

Nous avons également vu qu'il existe une synergie d'action pour certaines associations, qui permettent d'avoir une meilleure efficacité entre bactériocines, ou entre bactériocine et antibiotique. Un élément également très intéressant est que l'association d'une bactériocine à un antibiotique peut permettre de supprimer la toxicité de l'antibiotique pour le patient (cas de la nisine avec la colistine).

Enfin nous avons vu de façon notable leur efficacité face au cas des biofilms bactériens, là où nos antibiotiques échouent actuellement.

En plus de leur efficacité, les bactériocines possèdent des atouts indéniables contrairement aux antibiotiques. Le ciblage de la bactérie pathogène diminue considérablement les effets indésirables pour le patient, notamment en respectant son microbiote. Etant donnée cette spécificité d'action, le risque d'apparition de résistances est moindre.

De plus, les bactériocines semblent faciles à manipuler par bio-ingénierie afin de moduler leur expression pour plus de sécurité.

Nous pouvons envisager leur utilisation en pratique :

- Soit en traitement associé, où elles permettent de diminuer la quantité d'antibiotique nécessaire en facilitant son action. Ceci permettrait d'avoir une meilleure efficacité, une diminution des effets indésirables pour les patients, une diminution du risque de développement de résistances et une diminution du coût économique.

- Soit en traitement seul, avec la possibilité d'agir par prévention, ce qui diminue le risque de contamination des personnes entre elles, ou lors d'une chirurgie (à risque infectieux, ou de formation de biofilm). Ou encore en traitement curatif où elles remplacent nos antibiotiques.

En conclusion, nous pouvons dire qu'elles présentent un fort intérêt dans divers domaines, en raison de leur efficacité et de leur faible toxicité pour l'homme (par exemple la nisine a le statut GRAS, donc sans danger). Elles peuvent permettre la limitation de l'usage des antibiotiques en industrie agro-alimentaire, et entrer dans le domaine de la santé humaine et animale en tant qu'alternative aux antibiotiques.

Les études décrites sont réalisées *in vitro* ou *in vivo* chez des souris, les résultats sont très prometteurs, ils méritent encore plus d'études, notamment chez l'homme.

Cependant le problème d'apparition de résistance pourrait aussi se poser avec les bactériocines. Les bactéries pathogènes pourraient à la longue apprendre à se défendre, comme avec les antibiotiques. Pour parer à ce risque, une solution judicieuse serait de choisir les bactériocines qui agissent sur une cible qui ne peut pas subir de mutation.

C'est le cas des lipides ou précurseurs lipidiques, car en se liant à eux et non à une protéine quelconque de la bactérie, le médicament pourrait rester efficace dans le temps. En effet, ces lipides ou leurs précurseurs sont vitaux pour la bactérie, elle ne peut pas les supprimer ou les modifier sans mourir, donc s'il n'y a pas de possibilité de mutation(s) il n'y aura pas d'apparition de résistance. Nous l'avons notamment vu dans la revue bibliographique, avec le lipide II, cible de plusieurs bactériocines.(33,43)

En ouverture, je vais m'intéresser aux autres alternatives connues actuellement.(21,44)
Il existe d'autres solutions potentielles pour remplacer les antibiotiques, par exemple le système « CRISPR/cas » codé par l'ADN de la bactérie elle-même, que nous pouvons modifier par génie génétique afin qu'il provoque la coupure de l'ADN bactérien en exprimant des nucléases qui ciblent une séquence choisie. Cela permet de tuer les bactéries de manière « séquence spécifique », donc en plus de l'efficacité de la méthode on évite de créer de nouvelles résistances (contrairement aux antibiotiques qui n'agissent pas de façon ciblée). Cependant cette méthode requiert un système supplémentaire afin d'intégrer les modifications génétiques au plasmide bactérien, un bactériophage peut être utilisé. Enfin ce système CRISPR/cas permettrait de cibler plusieurs pathogènes en même temps, et aussi de toucher plusieurs séquences nucléotidiques sur une même bactérie.

Autre possibilité, les bactériophages qui sont des virus à bactéries, mais pour être efficace il faut remplir 3 conditions : de fortes concentrations en bactériophages sont nécessaires, la cible doit être physiquement facile d'accès, et l'infection doit être causée par un pathogène seul dont le diagnostic est simple. Cette technique serait donc à considérer dans les infections chroniques pour une meilleure efficacité. Cependant en l'état actuel des choses, la documentation clinique est insuffisante pour pouvoir parler d'alternative.

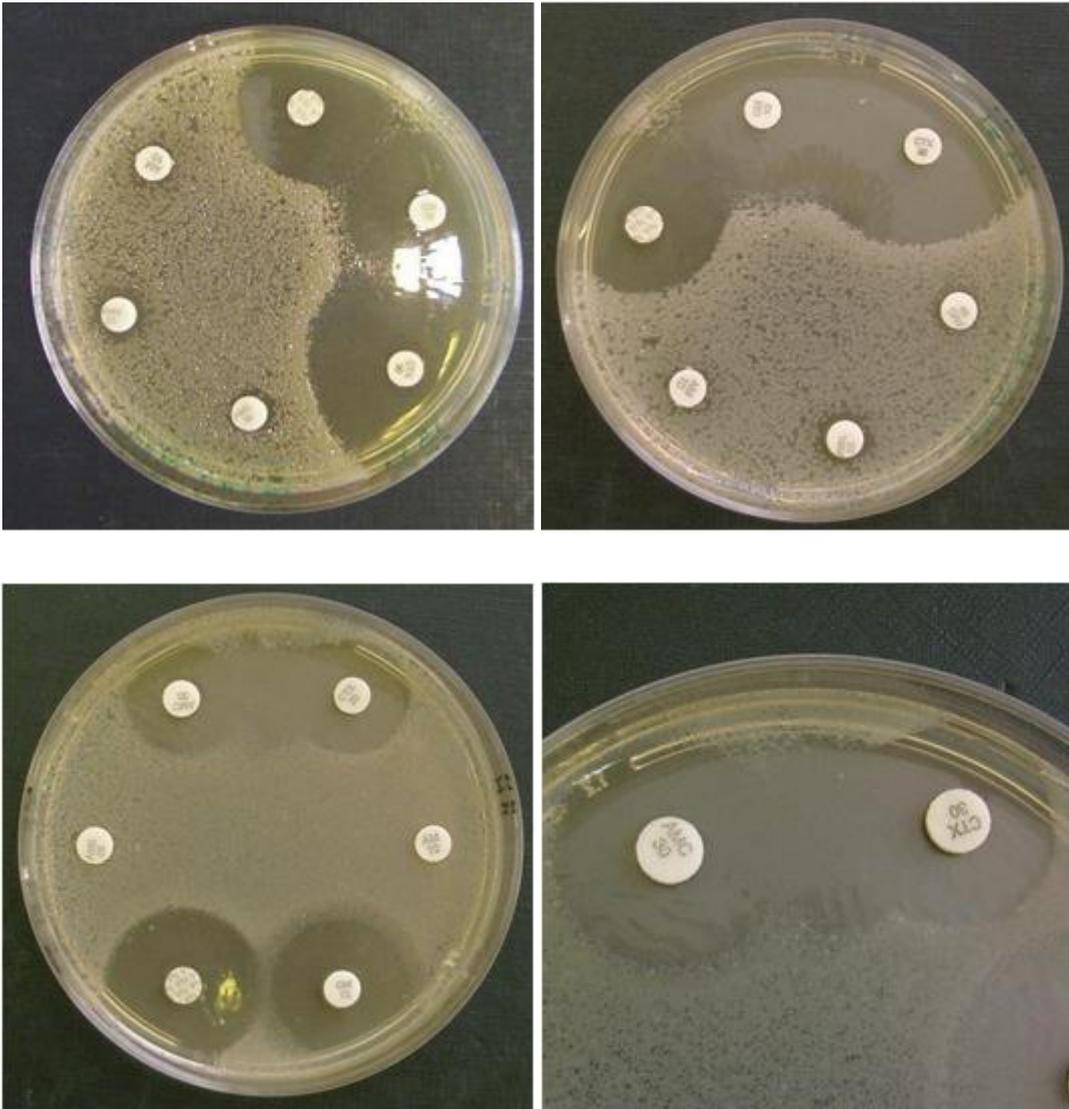
Aussi, les « endolysines » sont des enzymes qui digèrent le peptidoglycane bactérien. Elles peuvent être codées par des bactériophages. Mais le risque est qu'en détruisant la bactérie de cette manière, les toxines qu'elle contient pourront être libérées, ce qui est un risque pour le patient. Il faut donc investiguer plus en détails cet aspect.

Ensuite, l'utilisation de pré- et pro-biotiques ou la transplantation de flore fécale. Cela permet d'avoir une bonne santé du microbiote, de faire de la prévention, de soigner des états inflammatoires, de moduler la réponse immunitaire et la perméabilité de la muqueuse, toujours au niveau de ce tractus évidemment. Une autre piste serait de complètement remplacer les bactéries pathogènes par une flore saine, par mécanisme de compétition et non plus de lyse bactérienne, ce qui rejoint certaines études vues dans la revue.

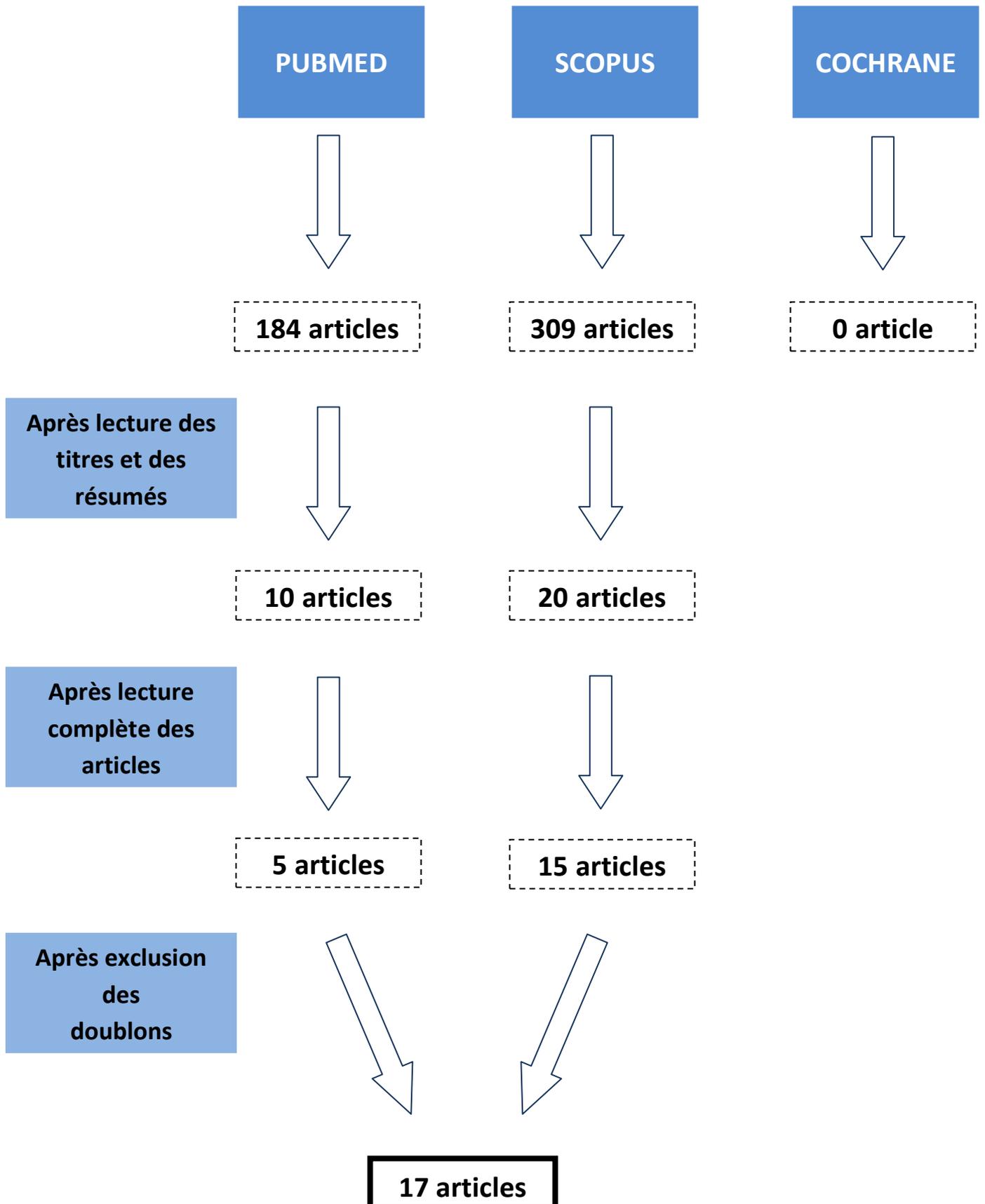
Enfin il existe les bactériovores, simplement des bactéries « mangeant » d'autres bactéries. Elles semblent être inoffensives pour l'hôte, des essais ont déjà eu lieu sur des animaux mais plus d'études sont nécessaires.

– ANNEXES –

Annexe 1 : Antibiogramme visant à déterminer la sensibilité à un antibiotique et même sa CMI(45)



Annexe 3 : Méthodologie de recherche pour la revue systématique de la bibliographie actuelle



Annexe 4 :
Tableaux de synthèse récapitulant les données importantes
issues des études de la revue bibliographique

Tableau résumant les données des études *IN VITRO* :

Article	Nom de la Bactériocine / Bactérie productrice	Spectre / Précision / Souches testées	Résultats	Applications	Intérêt / Remarques
<i>Aunpad R, Na-Bangchang K. (26)</i>	<p align="center"><u>Pumiciline</u></p> <p align="center"><i>Bacillus pumilus</i></p>	<p><u>Spectre :</u> SARM, ERV, et d'autres bactéries Gram+</p>	<p>Mode d'action dose dépendant sur SARM et ERV : à faible dose effet bactériostatique, à plus forte dose effet bactéricide</p>	<p>-Probiotique Biosubtyl® commercialisé en Asie -Potentielle alternative antibiotique pour le traitement des infections à SARM et ERV</p>	<p>Activité supérieure sur SARM que sur Staphylocoque doré sauvage</p>
<i>Jiang H, Zou J, Cheng H, Fang J, Huang G. (27)</i>	<p align="center"><u>Pentocine JL-1</u></p> <p align="center"><i>Lactobacillus Pentosus</i></p>	<p><u>Spectre :</u> vaste Bactéries Gram- et Gram+, Staphylocoque doré multi-résistant, SARM</p>	<p>-CMI basse pour le SARM, -Action bactéricide en perméabilisant la membrane cellulaire -Effet dose Dépendant</p>	<p>-Fort potentiel en agroalimentaire pour la conservation -Alternative aux antibiotiques mais pas assez approfondit dans l'étude</p>	<p>-Vaste spectre inhibiteur -CMI basse contre le SARM -Forte activité contre le SARM</p>
<i>Hong J, Kim J, Quan L-H, Heu S, Roh E. (35)</i>	<p align="center"><u>Pasteuricine</u></p> <p align="center">→ Bactériocine de Classe I ou II</p> <p align="center"><i>Staphylococcus pasteurii</i></p>	<p><u>Spectre :</u> Staphylocoques dont SARM, <i>Bacillus sp</i>, <i>Listeria sp</i>, Pas sur Gram-</p>	<p>-Action bactéricide et rapide -Domage très rapidement la membrane des cellules pathogènes</p>	<p>-Lutter contre des bactéries Gram+ (<i>Bacillus sp</i>, <i>Listeria sp</i>) contaminant nos aliments -Alternative aux antibiotiques mais pas assez approfondit dans l'étude</p>	<p>Action assez rapide pour tuer la bactérie avant qu'elle ne puisse larguer ses entérotoxines staphylococciques</p>

Article	Nom de la Bactériocine / Bactérie productrice	Spectre / Précision / Souches testées	Résultats	Applications	Intérêt / Remarques
Wayah SB, Philip K. (40)	Salivaricine <i>Lactobacillus salivarius</i>	Spectre : vaste (mais pas actif sur toutes les souches testées) Entérocoques, certains Streptocoques, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i>	-CMI basses donc puissante et efficace à faibles concentration -Bactéricide, forme des pores sur la membrane bactérienne -Expression régulée par mécanisme de « Quorum sensing »	-Probiotique bio-conservateur (meilleur spectre que la nisine dans ce domaine) -Alternative aux antibiotiques mais pas assez développé	Retrouvée dans le tractus intestinal de l'Homme et d'animaux en bonne santé donc contribue probablement au bon fonctionnement du microbiote intestinal
Phumisantiphong U, Siripanichgon K, Reamtong O, Diraphat P. (28)	Bactériocine EF478 <i>Enterococcus faecalis</i>	Spectre : Entérocoques multirésistants dont l'ERV	-EF478 inhibe 41,1% des 68 souches testées d'Entérocoques multirésistants -Mytomycine C permet de multiplier par 2 l'activité	-Candidat prometteur pour les thérapies anti-ERV	
Svetoch EA, Eruslanov BV, Kovalev YN, Mitsevich EV, Mitsevich IP, Levchuk VP, et al. (31)	Bactériocine E50-52 Bactériocine B-602 → Bactériocines de Classe IIa <i>Enterococcus faecium</i> 50-52 <i>Paenibacillus polymyxa</i> B-602	Souches testées : panel de bactéries nosocomiales, majoritairement à phénotype multirésistant Comparaison à l'efficacité d'antibiotiques conventionnels	-Efficaces sur SARM, bactéries Gram- (Entérobactéries) -Beaucoup de résistance aux antibiotiques -Mécanisme de perturbation de la membrane probable	-En alternative ou en renfort de l'antibiothérapie classique	-Hypothèse d'un récepteur spécifique à la surface de la bactérie cible -Hypothèse que la bactérie productrice de la bactériocine s'en protège elle-même en exprimant des protéines immunitaires

Article	Nom de la Bactériocine / Bactérie productrice	Spectre / Précision / Souches testées	Résultats	Applications	Intérêt / Remarques
<i>Prabhurajeshwar C, Chandrakanth RK. (37)</i>	Genre <i>Lactobacillus</i> , bactérie lactique produisant des bactériocines 3 souches (T ₂ , T ₄ , T ₁₆)	Souches testées : <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella typhii</i> , <i>Shigella sp</i>	-Action peut être bactéricide ou bactériostatique selon le pathogène -T ₂ agit en produisant une bactériocine, T ₄ et T ₁₆ un acide organique	-T ₂ , T ₄ , T ₁₆ bons candidats pour un nouveau probiotique -T ₂ bon potentiel pour l'usage antibiotique mais à approfondir	Bon nombre de bactéries lactiques sont connues pour être bénéfiques pour la santé du microbiote, il serait intéressant de plus les caractériser pour voir lesquelles agissent via des bactériocines
<i>Naghmouchi K, Baah J, Hober D, Jouy E, Rubrecht C, Sané F, et al. (25)</i>	<u>Nisine A</u> <u>Pédiocine</u>	<u>Association</u> à l'antibiotique colistine <u>Souches testées</u> : <i>Salmonella choleraesuis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> et <i>Escherichia coli</i> (= 4 bactéries Gram-)	-Association colistine/ bactériocine a un effet synergique -L'ajout de nisine A en concentration suffisante permet de supprimer la toxicité de la colistine pour les cellules de l'hôte	-Alternative potentielle aux antibiotiques en traitement associé -Besoin d'études pharmacodynamiques et pharmacocinétiques -Suppression de la toxicité par la nisine à investiguer	-Ces associations à effet synergique permettent d'augmenter l'efficacité -La toxicité diminue d'une part car la dose nécessaire en antibiotique est moindre du fait de l'association, d'autre part la nisine réduit elle-même la cytotoxicité de la colistine

Article	Nom de la Bactériocine / Bactérie productrice	Spectre / Précision / Souches testées	Résultats	Applications	Intérêt / Remarques
<i>Le Lay C, Dridi L, Bergeron MG et al. (41)</i>	<p>Nisine A</p> <p>Nisine Z</p> <p>Bactéries lactiques</p>	<p><u>Souche testée :</u> <i>Clostridium difficile</i> végétatif et sous forme de spores</p> <p><u>Comparaison :</u> érythromycine, métronidazole, tétracycline, ciprofloxacine, vancomycine, chloramphénicol</p>	<p>-Bactériocines efficaces bien que les CMI nécessaires soient supérieures à celles des antibiotiques (sauf pour la ciprofloxacine où il y a beaucoup de résistance)</p> <p>-Perméabilisation de la membrane</p> <p>-Nisine A efficace sur les spores et leur germination</p>	<p>-Nisine A active sur bactéries, germination des spores, et viabilité des spores</p> <p>-Application dans le domaine médical en thérapie curative des infections, et aussi en prévention de la dissémination (éviter la propagation de la contamination en agissant sur les spores)</p>	<p>En plus des bactéries résistantes et même multirésistantes, les formes spores posent aussi problème car très difficiles à éradiquer (et favorise la transmission)</p>
<i>Ramesh A, Mukherjee S. (36)</i>	<p>Plantaricine</p> <p><i>Lactobacillus plantarum</i></p>	<p><u>Souche cible :</u> <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>→Test de compétition pour l'adhésion à la MEC intestinale</p>	<p>Inhibe la liaison de bactéries pathogènes à la MEC intestinale</p>	<p>-Probiotique</p> <p>-Conservation alimentaire</p> <p>-Alternative à l'antibiothérapie</p>	<p>Détaille un autre mode d'action original, par compétition pour la liaison à la MEC intestinale</p>
<i>Chi H, Holo H. (42)</i>	<p>Garvicine KS</p> <p>→ Bactériocine de Classe I ou II</p> <p><i>Lactococcus garvieae</i></p>	<p><u>Souches testées :</u> 250 souches dont 240 Gram+</p> <p><u>Tests d'associations entre molécules antimicrobiennes :</u> nisine, polymyxine B, farnésol</p>	<p>Très vaste spectre en elle-même et grâce aux associations synergiques : Gram+ (Staphylocoques dont SARM), Gram- (<i>Acinetobacter spp</i>, <i>Escherichia coli</i>)</p>	<p>Domaine médical, prometteur donc à approfondir par d'autres études</p>	<p>Intérêt de l'association de molécules pour avoir une action synergique. Ceci réduit la toxicité, la durée du traitement, le risque d'apparition de résistance, tout en augmentant la cinétique et l'efficacité.</p>

Tableau résumant les données des études *IN VIVO* :

Article	Nom de la Bactériocine	Spectre / Précision / Souches testées	Résultats	Applications	Intérêt / Remarques
<i>Kommineni S, Kristich CJ, Salzman NH. (29)</i>	<u>Bactériocine 21</u> <i>Enterococcus faecalis</i>	<u>Cible :</u> Entérocoques pathogènes de la flore intestinale <u>Modèle souris</u> , avec flore colonisée par des ERV, exposée via son eau de boisson à la souche d' <i>Enterococcus faecalis</i> productrice de la bactériocine 21	-Diminution voire une suppression de la flore d'Entérocoques résistants -Sans risque de colonisation stable par l' <i>Enterococcus faecalis</i> productrice de la bactériocine 21	-Affaiblir la population d'ERV avant un traitement antibiotique -Les utiliser simultanément pour avoir une synergie d'action -Les utiliser en thérapie seule	-Modification par bio-ingénierie des bactéries les empêchant de se conjuguer, ainsi pas de remplacement de la flore par les Entérocoques « thérapeutiques » -Mais il peut exister d'autres mécanismes de résistances
<i>Gebhart D, Lok S, Clare S, Tomas M, Stares M, Scholl D, et al. (30)</i>	<u>Diffocine RT-027</u> (prototype Avidocine pour l'étude) <i>Clostridium difficile</i>	<u>Modèle souris</u> , exposée à la bactériocine via son eau de boisson, but étant de décoloniser la flore des souches de <i>Clostridium difficile</i> pathogènes	-Aucune colonisation pathogène significative -Redevient sensibles au bout de 3 jours -Création de pores membranaires, action rapide -Pas d'altération du microbiote ni de la résistance naturelle à la colonisation	-Prévention de la contamination entre patients (mesures d'hygiène sont insuffisantes) -Prévention de la colonisation de notre flore -Potentiel thérapeutique en curatif aussi -Ciblage très spécifique : capable de cibler une espèce bactérienne (donc plus précis que le genre)	Ici les <i>Clostridium difficile</i> pathogènes qui colonisent la flore intestinale sont détruits grâce à une bactériocine issue d'une autre souche de <i>Clostridium difficile</i> . Ceci démontre encore bien la compétition pour la croissance entre les bactéries d'une même espèce

Article	Nom de la Bactériocine	Spectre / Précision / Souches testées	Résultats	Applications	Intérêt / Remarques
<p>Van Staden ADP, Heunis T, Smith C, Deane S, Dicks LMT. (33)</p>	<p>Nisine</p> <p>Clausine</p> <p>Amyloliqecidine =AmyA</p> <p>→Nisine et Clausine sont de Classe I (Lantibiotiques)</p> <p>→AmyA de Classe II</p>	<p><u>Cible :</u> <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p><u>Modèle souris,</u> incisions au niveau de son dos, puis infection de ces blessures avec <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p><u>Comparaison :</u> mupirocine</p>	<p>Effet des 4 antimicrobiens testé séparément :</p> <p>-Guérison : efficacité des 4 est similaire</p> <p>-Meilleure cicatrisation avec nisine : fermeture des blessures plus rapide et de meilleure qualité</p> <p>-Tests complémentaires montrent que la mupirocine ralentit la réparation tissulaire (épithélialisation et néo- vascularisation plus lente, infiltration par les polynucléaires neutrophiles plus importante)</p>	<p>-Domaine médical</p> <p>-La mupirocine est un de nos traitements conventionnels pour lequel il y a aussi des résistances</p> <p>-D'autant plus intéressant que la nisine améliore le processus de cicatrisation, favorise la régénération tissulaire. D'autres études vont dans ce sens en montrant qu'elle diminue l'inflammation et permet une réparation plus rapide (34)</p>	<p>-L'effet immuno- modulateur de la nisine (vu aussi dans d'autres études (34)) explique l'amélioration du processus de cicatrisation</p> <p>-Mécanisme d'action de la nisine passe par la liaison au lipide II, or il n'y a pas de mutation possible à ce niveau (ce lipide est vital pour la bactérie) → Pas d'apparition de résistance par ce biais</p> <p>-Mécanisme d'action dual donc moins de risque d'échappement thérapeutique</p>
<p>Halliwell S, Warn P, Sattar A, Derrick JP, Upton M. (38)</p>	<p>Epidermicine</p> <p>→ Bactériocine de Classe II</p>	<p><u>Spectre :</u> Gram + dont le SARM</p> <p><u>Modèle rat cotonnier</u> (structure des narines proche de la notre), colonisation nasale par le <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p><u>Comparaison :</u> mupirocine</p>	<p>-L'efficacité d'une dose d'épidermicine à 0,8% est équivalente à six doses de mupirocine à 2%</p> <p>-Analyse histologique montre qu'il n'y a pas de cytotoxicité de l'épidermicine, pas de nécrose tissulaire ni de présence de sang</p>	<p>-Domaine médical, alternative ou adjuvant à l'antibiothérapie</p> <p>-Le portage nasal de cette bactérie constitue un risque infectieux grave</p> <p>-Aussi cette colonisation nasale est un des risques d'infection post- chirurgicale ou post- dialyse</p>	<p>Action similaire de la lysostaphine dans une autre étude (39)</p>

Article	Nom de la Bactériocine	Spectre / Précision / Souches testées	Résultats	Applications	Intérêt / Remarques
<p><i>McCaughey LC, Josts I, Grinter R, White P, Byron O, Tucker NP, et al. (32)</i></p>	<p>Pyocine SD2</p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p><u>Cible :</u> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (autre souche que la productrice de pyocine SD2)</p> <p><u>Modèle souris</u>, voie nasale pour causer une infection pulmonaire</p>	<p>-Activité puissante, absorption active, et spécificité de l'espèce bactérienne</p> <p>-Efficace in vivo contre l'infection : souris ne présentent pas de signes de la maladie et survivent</p> <p>-Histologie : quantité très faible de colonies pathogènes dans les poumons, et non résistantes à la bactériocine</p>	<p>-Alternative d'antibiothérapie ou traitement associé, d'autant plus qu'il y a là aussi des problèmes de résistance</p> <p>-Potentiel puissant, à spectre étroit : tue les bactéries pathogènes sans altérer la flore (bien qu'elle soit composée de bactéries très proches de la cible)</p>	<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> développe des mécanismes de résistance via sa membrane externe, donc il est judicieux de s'intéresser à des thérapeutiques qui la ciblent</p>

– BIBLIOGRAPHIE –

1. Aly R, Maibach HI, Shinefield HR, Mandel A, Strauss WG. Bacterial Interference among Strains of *Staphylococcus aureus* in ~an. 1974;5.
2. Sprunt K, Leidy G. The use of bacterial interference to prevent infection.pdf. 1988;7.
3. Rapport du groupe de travail spécial pour la préservation des antibiotiques. juin 2015;150.
4. L'émergence des résistances aux antibiotiques [Internet]. [cité 1 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.antibio-responsable.fr/antibioresistance/resistance-aux-antibiotiques>
5. Del Pozo JL, Patel R. The Challenge of Treating Biofilm-associated Bacterial Infections. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. août 2007;82(2):204-9.
6. Mathur H, Field D, Rea MC, Cotter PD, Hill C, Ross RP. Fighting biofilms with lantibiotics and other groups of bacteriocins. *npj Biofilms and Microbiomes* [Internet]. déc 2018 [cité 2 févr 2019];4(1). Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/s41522-018-0053-6>
7. Stewart PS, William Costerton J. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *The Lancet*. juill 2001;358(9276):135-8.
8. Encyclopædia. ANTIBIOTIQUES [Internet]. Encyclopædia Universalis. [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/antibiotiques/>
9. Encyclopædia. ANTIBIOTIQUES - repères chronologiques [Internet]. Encyclopædia Universalis. [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/antibiotiques-reperes-chronologiques/>
10. Antibiotiques : quand les bactéries font de la résistance [Internet]. Institut Pasteur. 2018 [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/journal-recherche/dossiers/antibiotiques-quand-bacteries-font-resistance>
11. Boisset S. Résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram positif [Internet]. [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: <http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/formation/du/grenoble/resistancegrampos-dutai-grenoble-2017-18-sboisset.pdf>
12. Dumitrescu O, Dauwalder O, Boisset S, Reverdy M-É, Tristan A, Vandenesch F. Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*: Les points-clés en 2010. *médecine/sciences*. nov 2010;26(11):943-9.

13. Résistance aux antibiotiques: un lien avec l'usage ancien de pénicilline dans les élevages - 30/11/2017 - ladepeche.fr [Internet]. [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.ladepeche.fr/article/2017/11/30/2695116-resistance-antibiotiques-lien-usage-ancien-penicilline-elevages.html>
14. ANSES, ANSM, Santé Publique. Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation rapide et durable. 2016 nov.
15. CNOP. Antibiotiques : favoriser le bon usage pour éviter les résistances. Tous Pharmaciens; 2017 déc. Report No.: 4.
16. Plan EcoAntibio 1 (2012-2017) : les 40 mesures contre l'antibiorésistance [Internet]. [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: <https://agriculture.gouv.fr/plan-antibioresistance-ecoantibio-les-40-mesures-ecoantibio-2012-2017>
17. Plan Écoantibio : baisse de 37% de l'exposition des animaux aux antibiotiques | Alim'agri [Internet]. [cité 14 nov 2018]. Disponible sur: <http://agriculture.gouv.fr/plan-ecoantibio-baisse-de-37-de-lexposition-des-animaux-aux-antibiotiques>
18. Plan EcoAntibio 2 (2017-2021) : plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire [Internet]. [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: <https://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecoantibio-2-2017-2021>
19. OMS | De nouvelles données révèlent l'existence de niveaux élevés de résistance aux antibiotiques dans le monde [Internet]. WHO. [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/fr/>
20. Antibiorésistance : le Danemark se dote d'un centre de recherche [Internet]. Le Quotidien du Pharmacien. [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: https://www.lequotidiendupharmacien.fr/actualite-pharmaceutique/article/2018/11/16/antibioresistance-le-danemark-se-dote-dun-centre-de-recherche_275157
21. Brüßow H. Infection therapy: the problem of drug resistance - and possible solutions. *Microbial Biotechnology*. sept 2017;10(5):1041-6.
22. Jack RW, Tagg JR, Ray B. Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria. *MICROBIOL REV*. 1995;59:30.
23. Dortu C. Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. :19.
24. La première bactériocine homologuée pour la conservation du poisson [Internet]. Actalia. 2017 [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: <http://www.actalia.eu/premiere-bacteriocine-homologuee-conservation-poisson/>

25. Naghmouchi K, Baah J, Hober D, Jouy E, Rubrecht C, Sané F, et al. Synergistic Effect between Colistin and Bacteriocins in Controlling Gram-Negative Pathogens and Their Potential To Reduce Antibiotic Toxicity in Mammalian Epithelial Cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. juin 2013;57(6):2719-25.
26. Aunpad R, Na-Bangchang K. Pumilicin 4, A Novel Bacteriocin with Anti-MRSA and Anti-VRE Activity Produced by Newly Isolated Bacteria *Bacillus pumilus* Strain WAPB4. *Current Microbiology*. oct 2007;55(4):308-13.
27. Jiang H, Zou J, Cheng H, Fang J, Huang G. Purification, Characterization, and Mode of Action of Pentocin JL-1, a Novel Bacteriocin Isolated from *Lactobacillus pentosus*, against Drug-Resistant *Staphylococcus aureus*. *BioMed Research International*. 2017;2017:1-11.
28. Phumisantiphong U, Siripanichgon K, Reamtong O, Diraphat P. A novel bacteriocin from *Enterococcus faecalis* 478 exhibits a potent activity against vancomycin-resistant enterococci. Hozbor DF, éditeur. *PLOS ONE*. 12 oct 2017;12(10):e0186415.
29. Kommineni S, Kristich CJ, Salzman NH. Harnessing bacteriocin biology as targeted therapy in the GI tract. *Gut Microbes*. nov 2016;7(6):512-7.
30. Gebhart D, Lok S, Clare S, Tomas M, Stares M, Scholl D, et al. A Modified R-Type Bacteriocin Specifically Targeting *Clostridium difficile* Prevents Colonization of Mice without Affecting Gut Microbiota Diversity. *mBio* [Internet]. 1 mai 2015 [cité 2 févr 2019];6(2). Disponible sur: <http://mbio.asm.org/lookup/doi/10.1128/mBio.02368-14>
31. Svetoch EA, Eruslanov BV, Kovalev YN, Mitsevich EV, Mitsevich IP, Levchuk VP, et al. Antimicrobial Activities of Bacteriocins E 50–52 and B 602 Against Antibiotic-Resistant Strains Involved in Nosocomial Infections. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. déc 2009;1(2):136-42.
32. McCaughey LC, Josts I, Grinter R, White P, Byron O, Tucker NP, et al. Discovery, characterization and in vivo activity of pyocin SD2, a protein antibiotic from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochemical Journal*. 1 août 2016;473(15):2345-58.
33. Van Staden ADP, Heunis T, Smith C, Deane S, Dicks LMT. Efficacy of Lantibiotic Treatment of *Staphylococcus aureus*-Induced Skin Infections, Monitored by *In Vivo* Bioluminescent Imaging. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. juill 2016;60(7):3948-55.
34. Heunis TDJ, Smith C, Dicks LMT. Evaluation of a Nisin-Eluting Nanofiber Scaffold To Treat *Staphylococcus aureus*-Induced Skin Infections in Mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. août 2013;57(8):3928-35.
35. Hong J, Kim J, Quan L-H, Heu S, Roh E. Purification and Characterization of Pasteuricin Produced by *Staphylococcus pasteurii* RSP-1 and Active against Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Protection*. nov 2018;81(11):1768-75.

36. Ramesh A, Mukherjee S. Bacteriocin-producing strains of *Lactobacillus plantarum* inhibit adhesion of *Staphylococcus aureus* to extracellular matrix: quantitative insight and implications in antibacterial therapy. *Journal of Medical Microbiology*. 1 déc 2015;64(12):1514-26.
37. Prabhurajeshwar C, Chandrakanth RK. Probiotic potential of *Lactobacilli* with antagonistic activity against pathogenic strains: An in vitro validation for the production of inhibitory substances. *Biomedical Journal*. oct 2017;40(5):270-83.
38. Halliwell S, Warn P, Sattar A, Derrick JP, Upton M. A single dose of epidermicin NI01 is sufficient to eradicate MRSA from the nares of cotton rats. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 20 déc 2016;dkw457.
39. Kokai-Kun JF, Walsh SM, Chanturiya T, Mond JJ. Lysostaphin Cream Eradicates *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in a Cotton Rat Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1 mai 2003;47(5):1589-97.
40. Wayah SB, Philip K. Purification, characterization, mode of action, and enhanced production of Salivaricin mmaye1, a novel bacteriocin from *Lactobacillus salivarius* SPW1 of human gut origin. *Electronic Journal of Biotechnology*. sept 2018;35:39-47.
41. Le Lay C, Dridi L, Bergeron MG, Ouellette M, Fliss I. Nisin is an effective inhibitor of *Clostridium difficile* vegetative cells and spore germination. *Journal of Medical Microbiology*. 1 févr 2016;65(2):169-75.
42. Chi H, Holo H. Synergistic Antimicrobial Activity Between the Broad Spectrum Bacteriocin Garvicin KS and Nisin, Farnesol and Polymyxin B Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Current Microbiology*. mars 2018;75(3):272-7.
43. Okuda K, Zendo T, Sugimoto S, Iwase T, Tajima A, Yamada S, et al. Effects of Bacteriocins on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilm. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. nov 2013;57(11):5572-9.
44. Seal BS, Drider D, Oakley BB, Brüssow H, Bikard D, Rich JO, et al. Microbial-derived products as potential new antimicrobials. *Veterinary Research* [Internet]. déc 2018 [cité 2 févr 2019];49(1). Disponible sur: <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13567-018-0563-5>
45. Antibioigrammes | Biotechnologies-ST2S [Internet]. [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: <http://disciplines.ac-montpellier.fr/biotechnologies/antibioigrammes>

– SERMENT DE GALIEN –

Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.



Titre : Les bactériocines : en alternative aux traitements antibiotiques

Résumé :

L'émergence sans cesse croissante de bactéries résistantes face à l'appauvrissement de nos ressources thérapeutiques et à l'absence d'avancée dans le domaine des antibiotiques, mettent en avant l'importance de trouver de nouvelles solutions. En effet, l'antibiorésistance progresse de manière inquiétante au niveau mondial, et au fur et à mesure de leur utilisation les antibiotiques perdent en efficacité. Nous nous trouvons dans une situation critique au point que même les antibiotiques dit de « secours » deviennent inefficaces. Les bactériocines sont des molécules peptidiques produites par les bactéries et qui peuvent inhiber la croissance d'autres bactéries. L'objectif de mon travail était de rechercher si les bactériocines sont une alternative possible pour suppléer aux traitements antibiotiques actuels. Pour cela, une revue systématique de la bibliographie sur ce sujet a été réalisée. Elle a montré, aussi bien dans les études *in vitro* qu'*in vivo* sur modèle souris, que les bactériocines ont un réel potentiel thérapeutique antibactérien. Elles sont même actives sur des bactéries résistantes aux antibiotiques et sur les biofilms bactériens, là où les antibiotiques classiques échouent parfois. Les résultats obtenus sont encourageants, mais montrent la nécessité d'approfondir les recherches avant que ces molécules puissent être prescrites chez l'homme.

Mots clés :

bactériocine, bactériocine alternative antibiotique, thérapie bactériocine, traitement par bactériocine, antibiorésistance

Title : Bacteriocins : as an alternative to antibiotics treatments

Abstract :

The ever-increasing emergence of resistant bacteria faced with the impoverishment of our therapeutic resources and the lack of progress in the antibiotics field, highlight the importance of finding new solutions. Indeed, antimicrobial resistance is increasing at a worrying rate worldwide, and as antibiotics are used, they lose their effectiveness. We are in such a serious situation that even so-called "rescue" antibiotics are becoming ineffective. Bacteriocins are peptide molecules produced by bacteria which can inhibit growth of other bacteria. The objective of my work was to investigate whether bacteriocins are a possible alternative to current antibiotic treatments. To this end, a systematic review of the bibliography on this subject was carried out. It has shown, both in *in vitro* and *in vivo* studies, in mouse models, that bacteriocins have a real antibacterial therapeutic potential. They are even active on antibiotic-resistant bacteria and bacterial biofilms, where conventional antibiotics sometimes fail. The results obtained are encouraging, but show the need for further research before these molecules can be prescribed in humans.

Keywords :

bacteriocin, bacteriocin alternative antibiotics, bacteriocin therapy, bacteriocin treatment, antibiotic resistance
