



HAL
open science

La phagothérapie, alternative au phénomène d'antibiorésistance? Place actuelle et devenir de ces biotechnologies dans la lutte contre les maladies infectieuses

Estelle Maffre

► To cite this version:

Estelle Maffre. La phagothérapie, alternative au phénomène d'antibiorésistance? Place actuelle et devenir de ces biotechnologies dans la lutte contre les maladies infectieuses. Sciences pharmaceutiques. 2022. dumas-03707186

HAL Id: dumas-03707186

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03707186v1>

Submitted on 28 Jun 2022

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

THESE

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA FACULTE DE
PHARMACIE DE MARSEILLE

LE 20/05/2022

PAR

Mme Estelle MAFFRE

Né(e) le 22/10/1994 à SAINT-RAPHAËL, Var

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

TITRE :

LA PHAGOTHÉRAPIE, ALTERNATIVE AU PHÉNOMÈNE
D'ANTIBIORÉSISTANCE ? PLACE ACTUELLE ET DEVENIR DE CES
BIOTECHNOLOGIES DANS LA LUTTE CONTRE LES MALADIES INFECTIEUSES.

JURY :

Président : Dr Anne Véronique DAVIN REGLI

Membres : Dr Bruno VERSAEVEL
Dr Anita COHEN

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, Mme Alexandrine BERTAUD, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, M. Philippe GARRIGUE, M. Guillaume HACHE, M. Thierry TERME
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Philippe CHARPIOT, M. Riad ELIAS
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Chloé SIMON
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT
M. Hervé KOVACIC
M. François DEVRED

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pierre REBOUILLON
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES
PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE

M. Jérémy MAGALON
Mme Carole SIANI
Mme Muriel MASI

ENSEIGNANT CDI

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

A.H.U.

PHARMACOTECHNIE

Mme Mélanie VELIER

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN
M. Romaric LACROIX

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Edouard LAMY
Mme Alexandrine BERTAUD
Mme Claire CERINI
Mme Edwige TELLIER
M. Stéphane POITEVIN
Mme Sandra GHAYAD

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Aurélie LEROYER
Mme Sylvie COINTE

MICROBIOLOGIE

Mme Anne DAVIN-REGLI
Mme Véronique ROUX
M. Fadi BITTAR
Mme Isabelle PAGNIER
Mme Sophie EDOUARD
M. Seydina Mouhamadou DIENE

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO
M. Aurélien DUMETRE
Mme Magali CASANOVA
Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

Mme Anne-Catherine LOUHMEAU
Mme Alexandra WALTON

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Amandine BONIFAY

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

PRATIQUE OFFICINALE

Mme Emmanuelle TONNEAU-PFUG

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Catherine BADENS

CHIMIE PHYSIQUE - PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. David BERGE-LEFRANC

CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE

M. Pascal RATHELOT
M. Maxime CROZET

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Patrice VANELLE
M. Thierry TERME

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL M. Quentin ALBERT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER M. Mathieu CERINO
CHIMIE PHYSIQUE - PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Duje BURIC M. Pascal PRINDERRE
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	Mme Valérie MAHIOU-LEDDER Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN M. Elnur GARAYEV

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION CHIMIE PHYSIQUE - PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ETHIQUE	Mme Laurie PAHUS
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA
DISPOSITIFS MEDICAUX	Mme Valerie MINETTI-GUIDONI

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE M. Joseph CICCOLINI
TOXICOLOGIE GENERALE	Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD Mme Marie-Anne ESTEVE
PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA Mme Anne RODALLEC M. Nicolas FABRESSE
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Pierre-Henri VILLARD

A.H.U.

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	Mme Anaïs MOYON M. Vincent NAIL
-----------------------------	------------------------------------

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire
Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire
M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie
Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier
M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 13 décembre 2021



**LE DOYEN
F. DIGNAT-GEORGE**

Remerciements

J'adresse tous mes remerciements au **Dr Anne-Véronique Davin-Régli**, qui m'a encadrée tout au long de cette thèse et qui a toujours été d'une grande gentillesse et disponibilité,

J'exprime ma gratitude à mon professeur de l'emlyon, le **Dr Bruno Versaevel**, qui m'a particulièrement bien aiguillée ces derniers mois, je suis ravie d'avoir pu profiter de son expertise et de ses conseils,

Je remercie également le **Dr Anita Cohen**, pour s'être intéressée à mon sujet de thèse et d'être membre de mon jury,

Je remercie infiniment toutes les personnes avec qui j'ai pu échanger dans ce travail de recherche, qui m'ont accordé du temps pour mieux comprendre les différents aspects de la phagothérapie (dans l'ordre alphabétique) :

- **Christophe Chatain**, Responsable Commercial de la société Vétophage qui m'a permis de mieux comprendre les enjeux de la phagothérapie en médecine vétérinaire,
- **Antoine Culot**, Co-fondateur de la société Rime Bioinformatics, qui m'a fait découvrir le monde très intéressant de la bio-informatique,
- **Dr Alain Dublanquet**, qui œuvre depuis de nombreuses années pour faire valoir la phagothérapie en France et que je remercie infiniment pour le temps qu'il m'a accordé pour répondre à tous mes questionnements, mais également pour ses articles et son dernier livre sur la phagothérapie qui m'ont grandement aidée tout au long de cette thèse,
- **Adèle James**, Co-fondatrice de Phagos qui m'a permis de mieux comprendre les objectifs de sa société et les différentes contraintes et enjeux de l'utilisation des phages en santé animale et en aquaculture,
- **Alain Lavit**, Fondateur de la société Se Soigner en Géorgie, qui a pris le temps de m'expliquer en détails la place actuelle de la phagothérapie à Tbilissi et les séjours organisés pour les patients souhaitant s'y faire soigner,
- **Laure de Ligniville**, Chef du Pôle qualité pharmaceutique biologique et sécurité virale de l'ANSM, qui a pris le temps de m'aiguiller dans mes recherches sur la réglementation des phages en France et dans l'UE,
- **Christophe Novou Dit Picot**, Fondateur de l'association Phages Sans Frontières, qui a pris le temps de me présenter son association et de m'exposer les attentes des patients en situation d'échec thérapeutique,

Je tiens à remercier également mes anciens managers qui m'ont tant appris lors de mes stages et me soutiennent toujours aujourd'hui, Frédéric Eberlé, Nathaël Menras et Christophe Dombu,

Je remercie mes amis d'enfance, Iaia et Mélanie, d'être toujours à mes côtés,

Un grand merci aussi à Manon, Selena et tous mes amis rencontrés au fil de mes études et de mes stages dans ces différentes villes en France et à l'étranger,

Il m'est impossible d'oublier Emel, mon binôme de travaux pratiques adorée,

Je remercie ma famille de m'avoir soutenue tout au long de ces dix longues années d'études, Maman, Papa, Denis, Tatïe, Tonton, Mamie J., Papi, et une mention particulière à Mamie A. qui m'a toujours tant aidée dans mon parcours pour finir sur la relecture interminable de ma thèse...

Merci à la famille Hervé,

Et enfin à Thibaut d'être dans ma vie.

“L’UNIVERSITE N’ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION
AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES. CES OPINIONS DOIVENT ETRE
CONSIDEREES COMME PROPRES A LEURS AUTEURS.”

La phagothérapie, alternative à l'antibiorésistance ?
Place actuelle et devenir de ces biotechnologies dans la
lutte contre les maladies infectieuses.

Table des matières

<i>Introduction</i>	16
<i>L'antibiothérapie et phénomène de résistance aux antibiotiques</i>	17
Histoire et marché de l'antibiothérapie	17
1.1. L'ère pré-antibiotique : « Quand une égratignure pouvait tuer »	17
1.2. Émergence et âge d'or de l'antibiothérapie.....	20
1.3. État actuel du marché de l'antibiothérapie	24
Bactéries et phénomène de résistance aux antibiotiques	32
2.1. Bactéries et infections	32
2.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	40
2.3. État actuel de l'antibiorésistance.....	46
Mesures gouvernementales et alternatives possibles	50
3.1. Recommandations du rapport O'Neill (2016).....	50
3.2. Mesures gouvernementales prises en France, en Europe et dans le Monde.....	56
3.3. Alternatives à l'antibiothérapie	60
<i>La phagothérapie</i>	65
Histoire de la phagothérapie, technologie et domaines d'application	65
1.1. Histoire de la phagothérapie	65
1.2. Technologie	70
1.3. Domaines d'application potentiels.....	76
La phagothérapie aujourd'hui	83
2.1. La phagothérapie en médecine humaine de nos jours	83
2.2. Marché de la phagothérapie	88
2.3. Statut réglementaire de la phagothérapie dans l'UE et en France.....	99
Perspectives	107
3.1. Freins au développement de la phagothérapie et ses inconvénients.....	107
3.2. Signes d'intérêt pour la phagothérapie et ses avantages	113
3.3. Phages et nouvelles technologies	122
<i>Conclusion</i>	127
<i>Bibliographie</i>	128
<i>Annexes</i>	141

Table des figures

Figure 1	Espérance de vie à la naissance de 1850 à 2019 en France, aux États-Unis et dans le monde
Figure 2	Les 10 principales causes de décès en pourcentage de l'ensemble des décès recensés aux États-Unis en 1900
Figure 3	Top 10 des pays consommateurs d'antibiotiques à usage vétérinaire soit 75% de la consommation mondiale (Chiffres de 2017)
Figure 4	Marché mondial de l'antibiothérapie 2020 - 2026
Figure 5	Marché mondial de l'antibiothérapie en 2019
Figure 6	Consommation d'antibiotiques en Europe en 2015
Figure 7	Quelques chiffres sur l'antibiothérapie en France en 2015
Figure 8	Cycle de vie d'un antibiotique
Figure 9	Schéma illustrant les deux types de protections supplémentaires accordées par l'EMA
Figure 10	Schéma de l'enveloppe cellulaire des bactéries
Figure 11	Illustration des principaux mécanismes de résistance des bactéries
Figure 12	Schéma représentatif de la formation d'un biofilm
Figure 13	Bactéries à l'origine des décès imputés et associés au phénomène d'antibiorésistance dans le monde en 2019
Figure 14	Logo et slogan de la campagne de sensibilisation « Ils sont précieux, utilisons-les mieux » lancée en 2018 par le gouvernement français
Figure 15	Cocktails de phages produits par des pays d'Europe de l'Est
Figure 16	Les deux principaux cycles de reproduction des bactériophages
Figure 17	Morphologie des principaux groupes de bactériophages
Figure 18	Schéma d'un bactériophage T4 ciblant <i>E. coli</i> et phage observé au microscope électronique
Figure 19	Boîtes de pétri avec plages de lyse
Figure 20	Extraits du Vidal datant de 1977 contenant le détail des préparations à base de phages commercialisées
Figure 21	Fiche informative sur la composition d'un produit contenant des phages vendu comme complément alimentaire
Figure 22	Mécanismes de résistance des bactéries envers les phages aux différentes étapes du cycle lytique
Figure 23	Diagramme représentant le nombre d'articles scientifiques publiés répondants aux mots-clefs « (bactériophage therapy) OR (phage therapy) » sur pubmed par année depuis 1990
Figure 24	Schéma illustrant l'élargissement du spectre d'hôte d'un phage par modification de ses récepteurs

Liste des tableaux

Tableau 1	Classification des bactéries pathogènes
Tableau 2	Récapitulatif des mécanismes de résistance aux antibiotiques
Tableau 3	Liste de l'OMS des bactéries présentant une menace pour la santé humaine
Tableau 4	Taux de résistance des trois principales bactéries à l'origine d'un fort taux de mortalité dans le monde, en Europe et en France
Tableau 5	Principaux lieux où des phages ont été mis en évidence
Tableau 6	Liste des essais cliniques dans le monde testant des bactériophages, en cours de recrutement de patients ou prévus prochainement
Tableau 7	Liste des sociétés de biotechnologie spécialisées dans les phages en santé humaine
Tableau 8	Liste des sociétés de biotechnologie spécialisées dans les phages dans les domaines de l'agroalimentaire, l'agriculture et en médecine vétérinaire
Tableau 9	Liste non-exhaustive de prestataires (CDMO, CMO, CRO) travaillant sur les phages
Tableau 10	Liste non-exhaustive de sociétés de biotechnologie utilisant des phages comme base pour développer des produits dérivés
Tableau 11	Liste des partenariats par des sociétés développant des phages

Liste de abréviations

AAC : Autorisation d'Accès Compassionnel
ABC : ATP-binding cassette
ABRIs : Acinebacter baumannii multirésistants
ADN : Acide DésoxyriboNucléique
AMC : Advance Market Commitment
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
ANR : Agence Nationale de la Recherche
ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire des Aliments
ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
ARN : Acide RiboNucléique
ATUn : Autorisation Temporaire d'Utilisation nominative
AVC : Accident Vasculaire Cérébral
BALO : Bdellovibrio et les organismes apparentés
BARDA : Biomedical Advanced Research and Development Authority
BHRe : Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergents
BMR : Bactéries Multi Résistantes
BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication (équivalent GMP)
C3G : Céphalosporines de troisième génération
CDMO/CMO : Contract (Drug) Manufacturing Organization
CE : Commission Européenne
CEA : Commissariat à l'Énergie Atomique
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
CNMIAS : Missions Nationales Infections Associées aux Soins
CNP : C-type natriuretic peptide
CPias : Centre d'appui pour la prévention des infections associées aux soins
CRO : Contract Research Organization
CSP : Code de la Santé Publique
CSST : Comité Scientifique Spécialisé Temporaire
E-BLSE : Entérobactéries productrices de Bêta-lactamases à spectre étendu
eIND : emergency Investigational New Drug
EMA : European Medicines Agency (Agence Européenne des Médicaments)
EPC : Entérobactéries productrices de carbapénémases
ERG : Enterococcus faecium résistants aux glycopeptides
FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
FDA : Food and Drug Administration
GLASS : Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System
GMP : Good Manufacturing Practice (équivalent BPF)
GRAS : Generally Recognized As Safe
GSK : GlaxoSmithKline, laboratoire pharmaceutique anglais
HCL : Hospices Civils de Lyon
HMRA : Hôpital Militaire de la Reine Astrid
IAS : Infections Associées aux Soins
INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
IPATH : Center for Innovative Phages Applications and Therapeutics
IPE : Inhibiteurs de Pompes à Efflux
JAMA : Journal of the American Medical Association
JPI-AMR : Joint Programming Initiative on Antimicrobial Resistance

LPS : Lipopolysaccharide
LSTM : Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes
MATE : multidrug facilitator superfamily
MFS : major facilitator superfamily
MVE : Maladie à Virus Ebola
OGM : Organisme Génétiquement Modifié
OIE : Organisation Mondiale de la Santé Animale
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
ORL : Otorhinolaryngologie
PBP : Protéines de liaison à la pénicilline
PCR : Polymerase Chain Reaction
PK/PD : Pharmacocinétique/Pharmacodynamie
QS : Quorum Sensing
R&D : Recherche et Développement
RND : resistance-nodulation-cell division
SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline
SMR : small multidrug resistance
TCAM : Taux de Croissance Annuel Moyen
TROD : Tests Rapides d'Orientation Diagnostique
UE : Union Européenne
URSS : Union des Républiques Socialistes Soviétiques
USDA : United-States Department of Agriculture
UV : Ultraviolets
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
VLP : Virus-like particules
VoM : Virus of Microbes (conférence)
VRS : Virus Respiratoire Syncytial

Introduction

Ce travail de thèse pose le problème de la résistance des bactéries aux antibiotiques et présente la thérapie par les bactériophages, ces virus destructeurs de bactéries.

Les maladies infectieuses sont transmissibles entre individus et ont été, jusqu'au milieu du 20^{ème} siècle, associées à un taux de mortalité élevé, en particulier celles d'origine bactérienne comme la pneumonie ou la tuberculose. A l'exception de certaines maladies comme le SIDA¹, la maladie à virus Ebola (MVE) ou la malaria, les maladies infectieuses sont aujourd'hui considérées dans l'esprit général comme vaincues par les antimicrobiens en particulier les antibiotiques. Or, dès les débuts de l'antibiothérapie, les scientifiques ont observé que les bactéries pouvaient développer des mécanismes de résistance leur permettant de survivre au traitement. Ce phénomène mondial continue de croître, plusieurs scientifiques annoncent que l'on pourrait entrer dans une ère post-antibiotiques où les maladies infectieuses reprendraient du terrain et où le nombre de morts associés à ces maladies serait plus important que les décès dus au cancer aujourd'hui. L'OMS affirme d'ailleurs que l'antibiorésistance est une menace majeure pour l'Humanité.

Face à ce problème, les gouvernements et la communauté scientifique s'accordent à penser qu'il est urgent de trouver et de développer de nouveaux traitements efficaces et durables. La phagothérapie, connue depuis une centaine d'années, serait aujourd'hui une des alternatives envisageables les plus avancées.

Dans une première partie, je m'attarderai sur l'histoire de l'antibiothérapie, son marché et les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques ainsi que sur les mesures gouvernementales mises en place et les alternatives thérapeutiques possibles.

Dans une seconde partie, je développerai la phagothérapie via son histoire, sa technologie et ses domaines d'application potentiels. Puis, je ferai un état des lieux de son marché actuel et de son statut réglementaire. Enfin, nous verrons où se situent les freins à son développement mais également les signes positifs favorisant son utilisation ainsi que les applications technologiques associées.

¹ Syndrome d'Immunodéficience Acquise

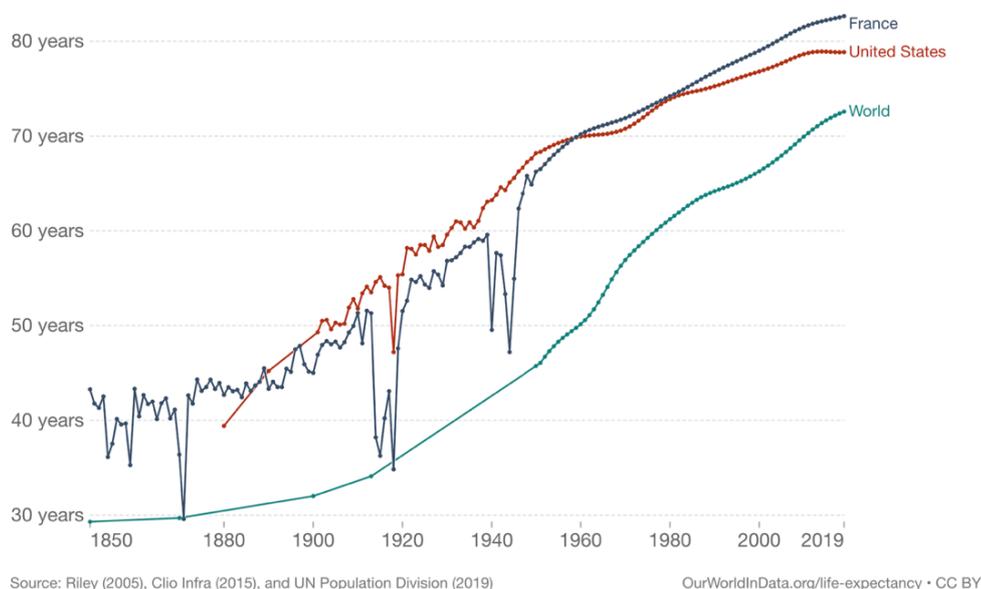
L'antibiothérapie et phénomène de résistance aux antibiotiques

Histoire et marché de l'antibiothérapie

1.1. L'ère pré-antibiotique : « Quand une égratignure pouvait tuer »

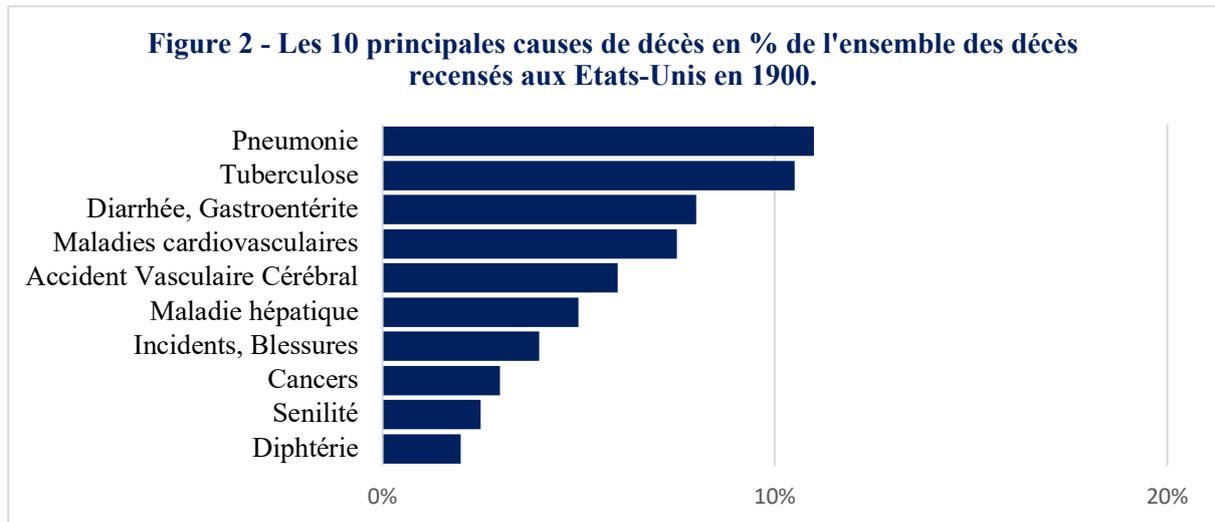
Dans les pays développés, il est aujourd'hui difficile de se rendre compte du fléau que pouvaient représenter les maladies infectieuses en termes de taux d'incidence et de mortalité avant la commercialisation du premier antibiotique en 1944. De nos jours, un adulte moyen aux États-Unis a plus de risque de décéder d'une cause accidentelle ou violente que d'une maladie infectieuse (1). A l'échelle mondiale, les maladies non transmissibles, comme les cancers ou les maladies cardiovasculaires, causent quatre fois plus de décès que les maladies infectieuses (1). L'espérance de vie à la naissance d'un Français moyen était de 82,7 ans en 2019, alors qu'au début du 20^{ème} siècle, elle ne dépassait pas les 50 ans (2) [Figure 1, (2)]. Cette augmentation importante de l'espérance de vie est le résultat d'une meilleure connaissance des maladies infectieuses et de leurs traitements dès la seconde moitié du 20^{ème} siècle. Il est estimé que les antimicrobiens ont augmenté l'espérance de vie de 5 à 10 ans aux États-Unis (3).

Figure 1 - Espérance de vie à la naissance de 1850 à 2019 en France, aux États-Unis et dans le monde



En 1900 aux États-Unis, environ un tiers de l'ensemble des décès recensés étaient dus à trois principales maladies infectieuses : la tuberculose, la pneumonie et la gastroentérite (4). [Figure 2, (4)]. A cette époque, 10% des enfants décédaient avant leur premier anniversaire et 6 à 9 mères pour 1000 naissances décédaient au cours de l'accouchement ou peu de temps après.

40% de ces décès étaient dus à une septicémie possiblement engendrée par une infection cutanée non soignée (1).



Lors de la révolution industrielle au 19^{ème} siècle, la croissance urbaine fut telle que les habitants vivaient dans des conditions de vie insalubres : logements surpeuplés, système d'assainissement des eaux limité... Les maladies infectieuses provenant de l'air ou de l'eau se répandaient alors facilement. Ces maladies n'épargnaient pas non plus les populations les plus aisées. Calvin Junior Coolidge, fils du Président américain Calvin Coolidge, est mort en 1924 d'une infection bactérienne causée par *Staphylococcus aureus*. Bien qu'il ait eu accès aux meilleurs soins médicaux, l'adolescent est décédé d'une septicémie une semaine après une ampoule au pied survenue au cours d'une partie de tennis (5). Avant l'arrivée des antibiotiques, il était en effet possible de mourir d'une égratignure, d'une coupure ou d'une ampoule d'apparence inoffensives. Dans les villes à population dense comme Paris ou Londres, la tuberculose, appelée « peste blanche », faisait également des ravages. Le taux de mortalité annuel était de 800 à 1000 pour 100.000 habitants (1). Lorsqu'une personne contractait la maladie, elle avait 80% de risque d'en mourir (1). Les patients, envoyés dans les sanatoriums, isolés et disposant de l'air frais de la montagne ou de la mer, voyaient une amélioration de leurs symptômes mais leur espérance de vie restait fragile.

Lors de la Première Guerre mondiale (1914-1918), de nombreux soldats ont perdu des membres ou sont morts après des infections de leurs plaies. Faute de solutions plus efficaces, les médecins de guerre essayaient de les combattre à l'aide d'antiseptiques qui n'étaient pas assez puissants ou alors corrosifs (6). L'amputation finissait par être souvent l'issue privilégiée

lorsqu'elle était possible. Cette pratique est parfois nécessaire encore aujourd'hui, face à la multirésistance de certaines bactéries et l'inefficacité des antibiotiques disponibles.

A l'époque, les causes des maladies infectieuses n'étaient pas très bien comprises. Avant le milieu du 19^{ème} siècle, plusieurs scientifiques avaient remarqué que certaines maladies comme le choléra étaient contagieuses mais sans en comprendre la diffusion dans une population (1). On pensait que des vapeurs nauséabondes, « les miasmes », transmettaient les maladies et étaient favorisées par l'environnement et la proximité avec la « saleté » (1). En réalité, les sources de contagion étaient mal identifiées. Beaucoup pensaient que la fièvre typhoïde était due à la contamination fécale et à la mauvaise hygiène personnelle, sans penser que cela pouvait être dû à l'eau ou l'alimentation consommées et contaminées (1).

Le développement de la théorie des germes, au milieu du 19^{ème} siècle, a changé la vision de ces maladies en démontrant que les infections étaient dues à des microorganismes. L'un des plus célèbres fondateurs de cette théorie est Louis Pasteur, chimiste français, qui s'est intéressé aux processus de fermentation et de putréfaction de la nourriture (1). Il a observé qu'elle était contaminée par des microorganismes provenant de l'environnement et non pas d'un processus intrinsèque à la nourriture elle-même comme on le pensait auparavant. Un des autres fondateurs de cette théorie, Robert Koch, médecin et biologiste allemand, a démontré, à la fin des années 1870, que les bactéries étaient des microorganismes pouvant engendrer des maladies (1). En 1882, il a réussi à isoler le bacille tuberculeux en démontrant qu'il était à l'origine de la tuberculose (1). En 1854, John Snow, médecin anglais, a mené des recherches sur le choléra en trouvant la source de contamination dans un quartier de Londres (1). Il s'agissait d'une source d'eau avec une pompe partagée, soutenant sa théorie selon laquelle le choléra pouvait se transmettre par l'eau potable. Dans les années 1860, Joseph Lister, chirurgien anglais, s'est intéressé aux recherches de L. Pasteur sur la contamination par les microorganismes et a utilisé des antiseptiques pour nettoyer les plaies de ses patients après une opération (1). Il a observé que le nombre d'infections après chirurgie avaient considérablement diminué (1).

Ces découvertes ainsi que l'acceptation de la théorie des germes ont joué un rôle crucial dans la prévention et le traitement de ces maladies dans toutes les grandes villes européennes. En Angleterre, Sally Davies, médecin travaillant pour le gouvernement, a organisé des programmes d'intervention pour protéger la santé de la population comme la création du premier système d'égout moderne à Londres dans les années 1860, la pasteurisation du lait ou encore la vaccination (1).

1.2. Émergence et âge d'or de l'antibiothérapie

Après avoir mieux compris la théorie des germes et l'origine des maladies infectieuses, les recherches se sont multipliées pour découvrir, développer et enfin commercialiser des traitements efficaces dès la seconde moitié du 20^{ème} siècle.

1.2.1. Émergence de l'antibiothérapie

L'une des figures emblématiques de cette ère des antibiotiques est Paul Ehrlich, chimiste allemand ayant eu l'idée de « balles magiques » ciblant sélectivement les microbes pathogènes et non l'hôte. Il a d'abord observé que certains colorants pouvaient cibler sélectivement différents types de tissus. Il a également engagé des recherches sur des composés à base d'arsenic pour cibler et tuer le pathogène de la syphilis, identifié en 1905 en Allemagne par Fritz Schaudinn et Erich Hoffman. La syphilis, maladie sexuellement transmissible, était en effet endémique et quasiment incurable à l'époque (7). Après avoir testé des centaines de composés sur des souris, P. Ehrlich et le bactériologiste japonais Sahachiro Hata, ont découvert en 1907 un composé à base d'arsenic détruisant sélectivement le *Treponema Pallidum*. Ce composé fut nommé arsphenamine et fut testé pour la première fois sur des humains en 1909 pour être commercialisé l'année suivante sous le nom de Salvarsan (8). Il fut considéré comme le traitement standard de la syphilis jusqu'à la Seconde Guerre mondiale (1939-1945) et le premier antimicrobien à entrer dans l'usage courant.

L'approche de criblage systématique introduite par P. Ehrlich est devenue le fondement des stratégies de recherche de médicaments dans l'industrie pharmaceutique. Les recherches sur les sulfamides en 1932 par Bayer en sont issues. La sulfamidochrysoïdine découverte par Gerhard Domagk, biologiste allemand employé du laboratoire, est le premier antimicrobien synthétique à être commercialisé, sous le nom de Prontosil, en 1935 (7), (9). En 1939, G. Domagk a d'ailleurs reçu le prix Nobel de physiologie ou médecine pour la découverte de ce médicament (10). Les molécules de la famille des sulfamides ont été largement utilisées jusqu'à la Seconde Guerre mondiale avant de rencontrer des phénomènes de résistance les rendant moins efficaces.

Une autre figure emblématique de cette ère est Alexander Fleming, chercheur britannique qui menait des recherches sur les bactéries staphylocoques et qui a découvert de façon inopinée la pénicilline en 1928. En rentrant de vacances, A. Fleming a découvert que ses

boîtes de culture de bactéries étaient contaminées par une moisissure, le *Penicillium glaucum*, et que celui-ci sécrétait une substance antimicrobienne, la pénicilline. Il n'est en revanche pas le premier chercheur à avoir observé les propriétés thérapeutiques de cette moisissure. En effet, Ernest Duchesne, médecin militaire français, avait démontré en 1897, que le *P. glaucum* se développant sur le bleu d'Auvergne avait des vertus prophylactiques contre les bactéries. Sa thèse était passée inaperçue à l'époque et ce n'est que plus de trente ans plus tard que son pouvoir curatif fut redécouvert. A. Fleming ayant réussi à isoler une souche plus efficace, le *Penicillium notatum*, ne parvint pas à la stabiliser pour en produire des quantités suffisantes. Il chercha donc en vain des chimistes pour produire et développer la pénicilline.

Ce ne fut que douze ans plus tard en 1940, qu'une équipe d'Oxford dirigée par Howard Florey et Ernst Boris Chain, publia un article décrivant un protocole de purification de la pénicilline en quantité suffisante pour effectuer des tests cliniques. Les premiers essais sur l'Homme ont pu débiter en 1941 mais les chercheurs ont rapidement eu besoin d'aide pour produire le médicament de façon plus importante. H. Florey et E. B. Chain se sont donc rendus aux États-Unis pour partager leurs recherches avec le Département Américain de l'Agriculture (US Department of Agriculture, USDA). Les résultats positifs des recherches menées dès 1942 sur *Penicillium chrysogenum*, ont conduit des laboratoires pharmaceutiques américains comme Merck, Pfizer, Squibb ou Lederle à collaborer pour produire le médicament de façon industrielle à large échelle. La molécule a été largement utilisée par les laboratoires sans avoir de brevet. Après plusieurs essais cliniques menés entre 1942 et 1943, la pénicilline a été mise à disposition des troupes alliées dès mai 1944. Elle fut commercialisée au grand public l'année suivante et est devenue le premier antibactérien blockbuster² de l'histoire. A. Fleming, H. Florey et E. B. Chain ont reçu le prix Nobel de physiologie-médecine en 1945 pour « la découverte de la pénicilline et ses effets curatifs de nombreuses maladies infectieuses » (11).

1.2.2. Age d'or de l'antibiothérapie

Après le succès de la pénicilline, les laboratoires pharmaceutiques se sont empressés de rechercher et commercialiser de nouveaux médicaments aux propriétés similaires. Ces nouveaux traitements perçus comme « miraculeux » permettaient de guérir de maladies auparavant incurables. Avant l'arrivée de la pénicilline, une pneumonie sévère pouvait tuer 90% des sujets infectés et son utilisation a permis de réduire la mortalité jusqu'à 10% seulement

² Un blockbuster est un médicament générant plus d'un milliard de dollars de chiffre d'affaires.

des sujets infectés (12). Un autre exemple probant est celui de la mortalité infantile aux États-Unis qui a diminué de plus de 50% après l'utilisation des sulfamides puis de la pénicilline (1). Le succès commercial fut tel que les laboratoires, soutenus par les médias, la distribuaient largement au grand public, au point où l'on pouvait s'en procurer sans restriction dans les pharmacies (1).

Pourtant, lors de la remise de son Prix Nobel en 1945, A. Fleming avait déjà exprimé ses inquiétudes quant au mésusage du médicament par les populations (1). Il expliquait que les personnes ignorantes risquaient de le sous doser et d'exposer leurs microbes à des quantités non mortelles les rendant ainsi résistants (1).

En 1943, deux chercheurs américains, Selman Walksman et Albert Schatz, ont découvert la streptomycine, premier antibiotique efficace contre la bactérie responsable de la tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*. Sa commercialisation fut le résultat d'une collaboration avec Merck et le gouvernement américain pour la produire de façon industrielle. S. Waksman a obtenu un Prix Nobel en 1952 pour ses recherches (13).

Les trois décennies qui ont suivies la Seconde Guerre mondiale, ont été extrêmement productives en termes de médicaments antibactériens avec plusieurs centaines commercialisés dans le monde (12). En 1947, le chloramphénicol et en 1948, l'oxytétracycline ont été les premiers antibiotiques à large spectre disponibles avant de nombreux autres. On estime qu'au début des années 60 plus des trois quarts des familles d'antibiotiques avaient été découvertes (14). La compétition entre laboratoires pharmaceutiques était très forte et de nombreux programmes de recherches ainsi que des partenariats public-privés voyaient le jour. Il faut noter que la mise à disposition d'antibiotiques efficaces a également été essentielle au développement d'opérations chirurgicales maintenant considérées comme des interventions de routine. La transplantation d'organes, opération initiée dans les années 1950, profite encore largement des antibiotiques. En effet, les patients transplantés sont mis sous immunosuppresseurs pour réduire le risque de rejet, ce qui les rend hautement vulnérables aux infections opportunistes. Ces patients ont d'ailleurs besoin d'une antibiothérapie efficace au long cours.

Parmi les familles d'antibiotiques disponibles aujourd'hui [*Annexe I*], les principales sont les bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines, monobactames et carbapénèmes), les macrolides, les aminosides, les cyclines et les quinolones. On les différencie en fonction de leur

spectre d'activité (large ou étroit), leurs indications, leur voie d'utilisation, leur mode d'action, leur fréquence d'utilisation, leurs contre-indications et leurs effets indésirables.

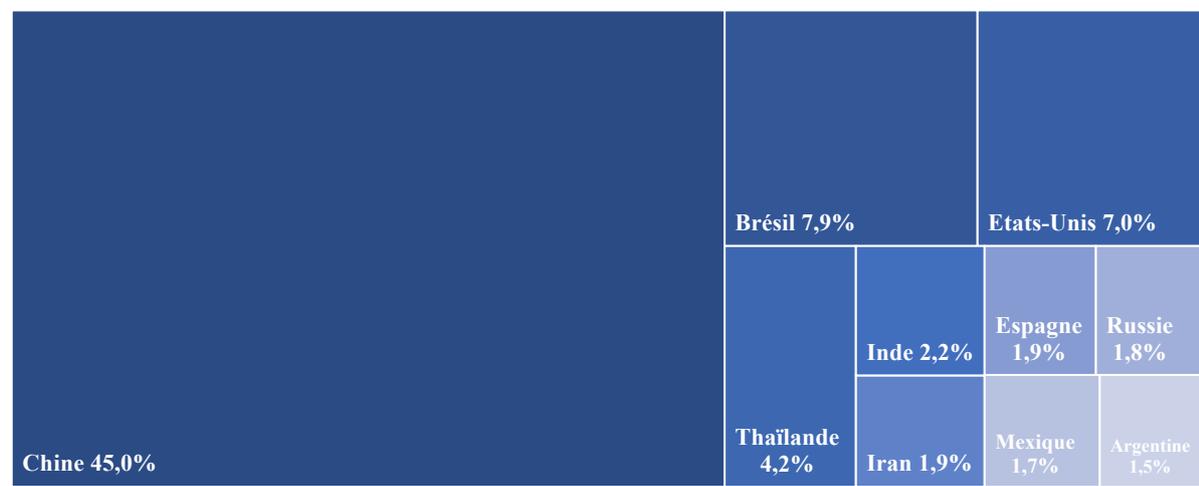
Ces médicaments peuvent être naturels ou de synthèse. Ils inhibent la croissance (effet bactériostatique) ou tuent (effet bactéricide) les bactéries.

La médecine humaine n'est pas la seule concernée par l'utilisation massive des antibiotiques. Rapidement, les mondes vétérinaire et agricole ont aussi utilisé ces médicaments. Depuis le milieu du 20^{ème} siècle, la production alimentaire a évolué avec une demande croissante en protéines animales et une banalisation de l'usage des antibiotiques dans les élevages (15).

Leur utilisation dans les élevages est de trois natures :

- A objectif curatif / thérapeutique : soigner un animal malade pour son bien-être et aussi pour obtenir une viande saine consommable.
- A objectif préventif / prophylactique : lorsque les animaux sont dans des milieux très peuplés, la maladie peut se propager rapidement. Les antibiotiques sont alors donnés à tous les animaux de l'élevage pouvant être infectés sans présenter de symptômes.
- Pour favoriser la croissance des animaux en un temps réduit dans l'agriculture intensive. On les administre alors à faible dose, dans les aliments ou dans l'eau, comme « facteurs de croissance » (16). L'Union Européenne a interdit cette pratique en 2006 mais celle-ci est courante dans certains pays (17). La Chine, le Brésil et les États-Unis sont les pays les plus consommateurs d'antibiotiques à usage vétérinaire dans le monde et leur usage comme « accélérateur de croissance » n'y est pas interdit même si on remarque des mesures dissuasives provenant de la FDA aux États-Unis (18). [Figure 3, (19)]

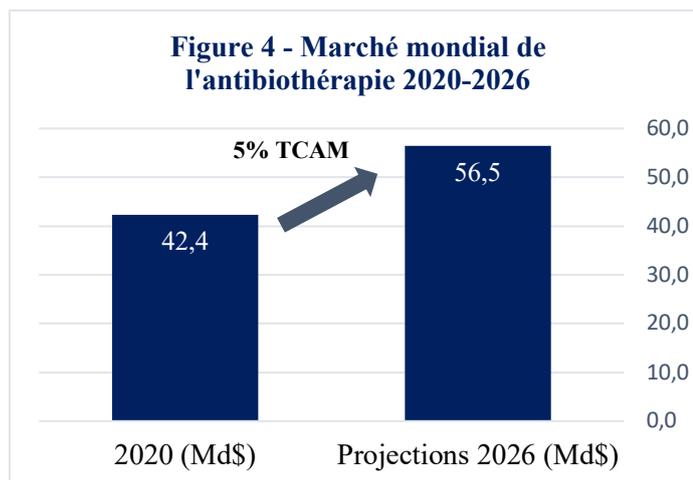
Figure 3 - Top 10 des pays consommateurs d'antibiotiques à usage vétérinaire soit 75% de la consommation mondiale (Chiffres de 2017)



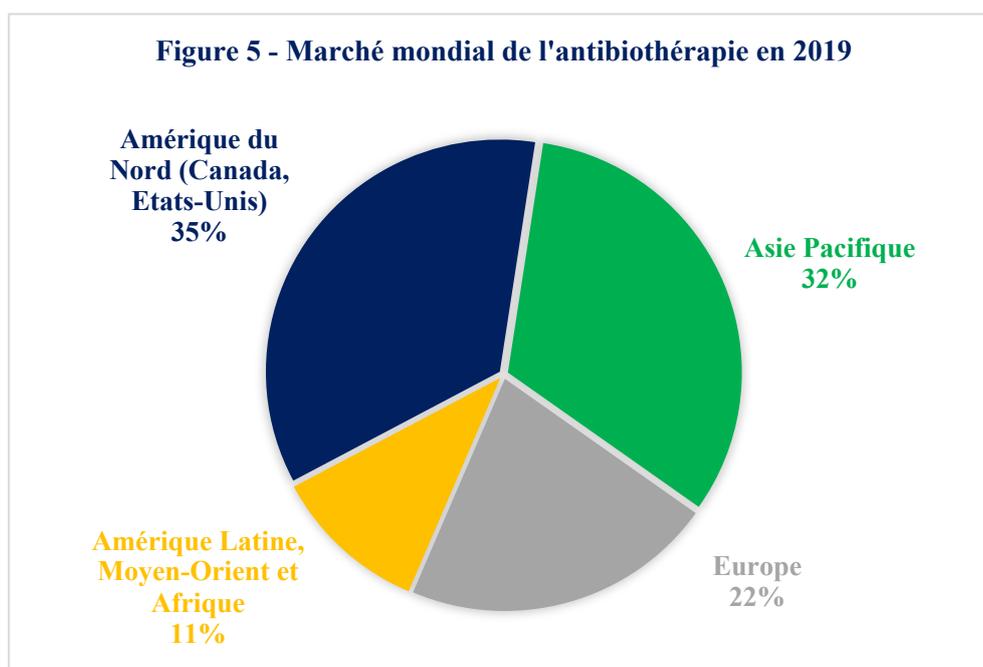
1.3. État actuel du marché de l'antibiothérapie

Selon plusieurs études de marché [Annexe 2], le marché mondial de l'antibiothérapie représentait environ **42 milliards de dollars en 2020** et devrait être de plus de **56 milliards de dollars à l'horizon 2026**, soit un taux de croissance annuel moyen (TCAM) d'environ **5%** [Figure 4]. Cela correspond à environ **3% du marché mondial des médicaments** qui était de plus de 1 200 milliards de dollars en 2020 (20), (21).

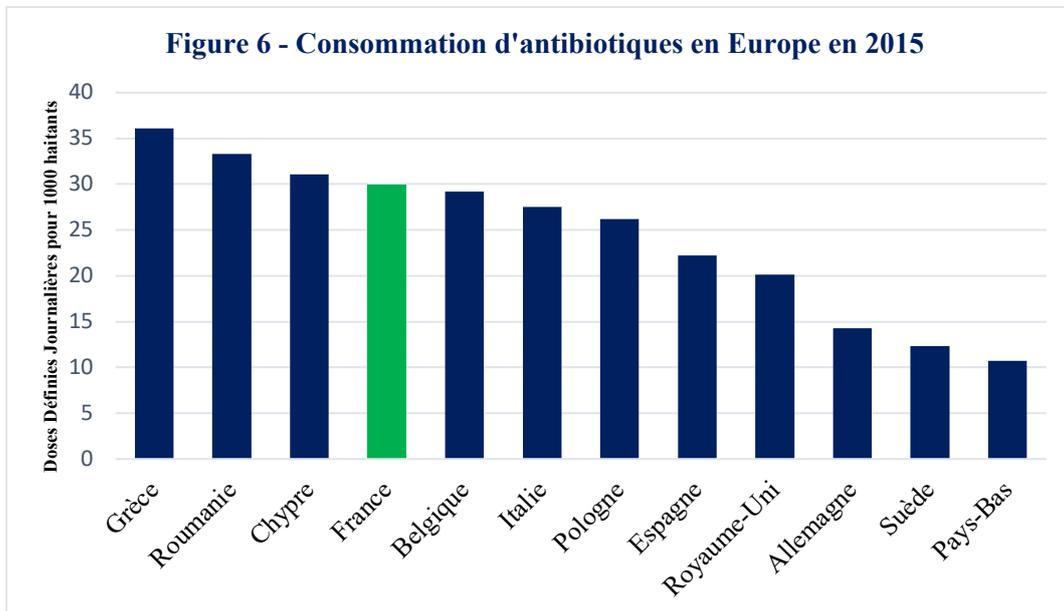
En comparaison, l'oncologie, première aire thérapeutique représentait un marché de près de 160 milliards de dollars en 2020, soit plus de 13% du marché mondial des médicaments avec un TCAM de plus de 10% d'ici 2024. Suivi par le diabète (9%) et l'immunologie (8,5%) (22), (23). Il est important de noter que



moins de 5 milliards de ces 42 milliards de dollar de ventes représentent des antibiotiques encore brevetés (24). En d'autres termes, les génériques contribuent largement au chiffre d'affaires de ces médicaments.

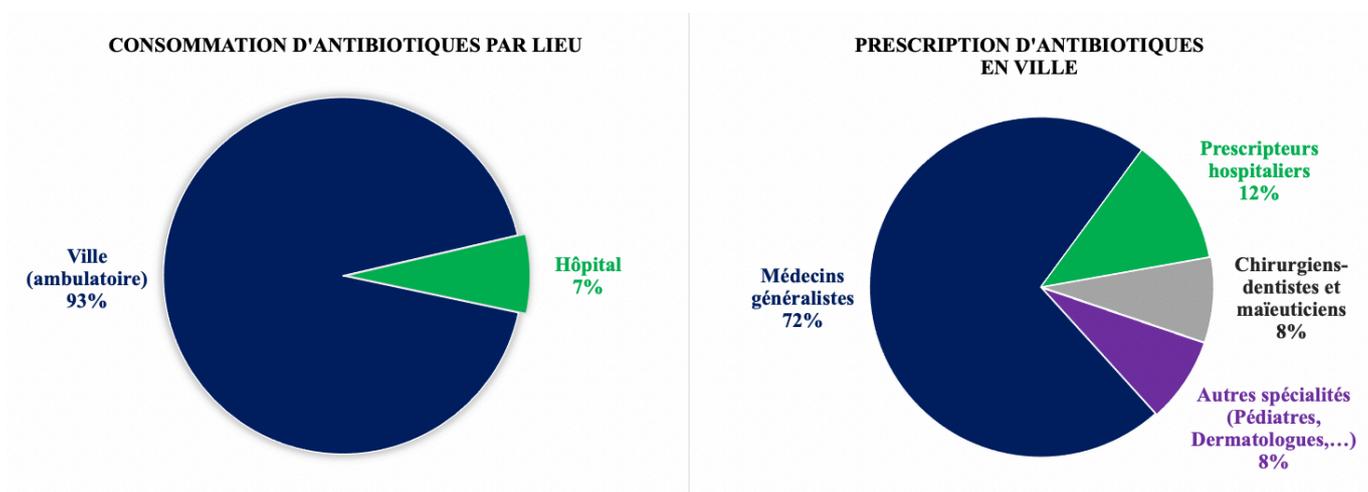


La région Asie-Pacifique devrait connaître d'ici 2027 un taux de croissance élevé se rapprochant du marché de la région Nord-américaine grâce à des mesures gouvernementales en faveur du développement des antibiotiques (25) [Figure 5, (25)].

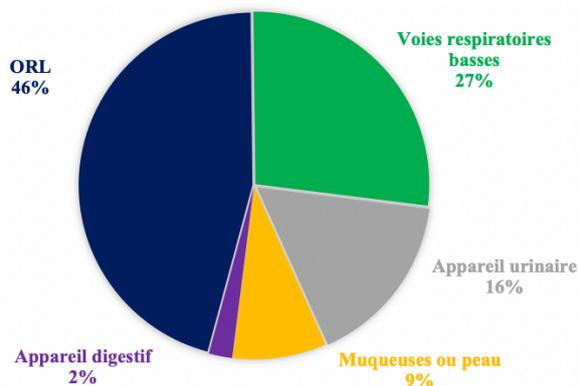


En ce qui concerne la consommation d'antibiotiques en ambulatoire, la France se trouve parmi les pays à plus forte consommation, se classant au-dessus de la moyenne européenne [Figure 6, (26)]. Même si celle-ci reste élevée, il est important de noter que les différentes mesures prises par le gouvernement français ces deux dernières décennies ont fait diminuer l'utilisation d'antibiotiques. Au début des années 2000, la France se classait 1^{er} pays européen en termes de consommation (26). D'après le rapport de la Mission SPARES publié en 2021 (27), la consommation globale d'antibiotiques en France aurait diminué de près de 10% entre 2015 et 2019.

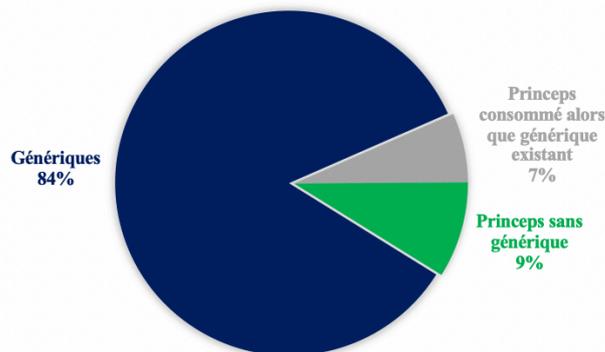
Figure 7 - Quelques chiffres sur l'antibiothérapie en France en 2015 (26)



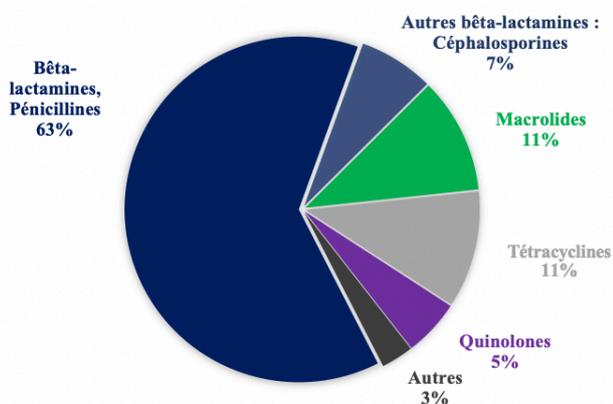
INFECTIONS LES PLUS FRÉQUENTES TRAITÉES EN VILLE



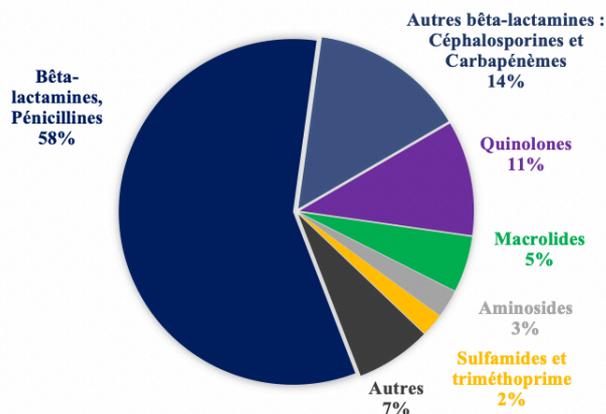
PART GÉNÉRIQUES / PRINCEPS DANS LA CONSOMMATION EN VILLE



PART DES DIFFÉRENTES CLASSES D'ANTIBIOTIQUES DANS LA CONSOMMATION EN VILLE



PART DES DIFFÉRENTES CLASSES D'ANTIBIOTIQUES DANS LA CONSOMMATION À L'HÔPITAL



On observe qu'en ville et à l'hôpital, les pénicillines sont les antibiotiques les plus utilisés, en particulier l'association amoxicilline – acide clavulanique. Cette association qui représente près du tiers des pénicillines prescrites fait partie des spécialités particulièrement concernées par le phénomène de résistance [Figure 7].

En termes Recherche et Développement (R&D), on observe que les aires thérapeutiques en forte croissance dans le monde sont celles qui concernent des maladies chroniques comme les cancers, les maladies rares, les maladies auto-immunes ou les maladies du système nerveux central (Maladie d'Alzheimer, Parkinson) (28). L'antibiothérapie fait partie des aires thérapeutique en net recul depuis de nombreuses années (28), (29). En effet, on observe depuis les années 80-90 une diminution mondiale importante du nombre d'enregistrements de nouvelles substances actives antibiotiques alors que plusieurs sont retirées du marché. Les nouveaux médicaments commercialisés sont pour la plupart des déclinaisons de familles déjà existantes ou le résultat d'investissements de longue date. Les innovations concernent la plupart

du temps l'amélioration de la tolérance et de l'observance, ce qui constitue des améliorations pour le patient mais qui ne sont pas des innovations majeures. Les retraits de marché successifs de nombreux antibiotiques, au-delà de la sécurité, sont le fait d'un trop grand nombre de spécialités déclinées des mêmes familles ayant les mêmes caractéristiques, le même spectre d'activité, les mêmes indications, ce qui n'apporte aucune amélioration par rapport à certains médicaments déjà utilisés en routine. Entre 2000 et 2015 en France, 34 médicaments ont été retirés pour seulement 12 nouveaux médicaments (ou associations de substances) commercialisées (25).

Les laboratoires pharmaceutiques montrent un désintérêt depuis des années ce qui rend l'innovation thérapeutique faible dans ce secteur. En 2000, Roche a séparé ses intérêts de recherche dans le domaine des maladies infectieuses dans une spin-off appelée Basilea Pharmaceutica pour se concentrer sur d'autres domaines thérapeutiques considérés plus stratégiques par l'entreprise (30). Plus récemment en 2016, AstraZeneca a vendu une partie de ses antibiotiques au laboratoire Pfizer pour pouvoir se focaliser sur l'immuno-oncologie (31). En 2018, Sanofi a cédé son portefeuille de R&D spécialisé dans les maladies infectieuses ainsi que son unité de recherche à Lyon au groupe allemand Evotec (32). La même année, Novartis a stoppé l'ensemble de ses programmes de recherche dans les maladies infectieuses pour se concentrer sur ses programmes de thérapie génique (33). En 2021, le pipeline clinique mondial d'antibiotiques serait seulement de 43 molécules (34), alors que celui de l'oncologie dénombrerait près de 3500 molécules en cours d'essais cliniques (35).

Les raisons pour lesquelles les Big Pharma ont délaissé cette aire thérapeutique sont plurielles. Le principal frein est le manque de **rentabilité**.

- Un antibiotique est donné en général seulement pour quelques jours pour traiter une maladie infectieuse occasionnelle. Le traitement d'une maladie chronique sera donné durant plusieurs années voire à vie au patient, générant ainsi des revenus plus élevés.
- De plus, le prix d'un antibiotique n'est pas attractif et faible en comparaison avec d'autres traitements. Il est estimé qu'un antibiotique rapporte 50 millions de dollars au laboratoire pharmaceutique alors qu'un médicament indiqué en neurologie rapporte 720 millions de dollars (36), soit plus de 14 fois le revenu généré par un antibiotique. Seulement 5 des 16 antimicrobiens ayant reçu une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) entre 2000 et 2017 ont rapporté plus de 100 millions de dollars par an ce qui

est très peu lorsque l'on compare par exemple au Tahor®³ qui a rapporté près d'1 milliard de dollars par an à Pfizer durant 14 ans (36). En dehors des maladies chroniques qui nécessitent un traitement au long cours, certains médicaments vont être administrés seulement pendant quelques semaines mais vont avoir un prix de vente très élevé. C'est le cas du sofosbuvir (Sovaldi®) de Gilead, antiviral indiqué contre l'hépatite C, qui est administré par voie orale pendant 12 semaines et qui a rapporté près de 20 milliards de dollar de revenus pour le laboratoire en 2015 (seul et en association) (37). Cela correspond à un coût par traitement complet par patient de plus de 40 000€ en France et de 74 000€ aux États-Unis (38). On est très loin des prix pratiqués dans l'antibiothérapie.

- Le coût de développement d'un médicament semble trop élevé par rapport aux ventes potentielles. Aujourd'hui on estime que le coût moyen de développement d'un médicament est de l'ordre d'1,3 milliards de dollars⁴ (39), alors qu'il était de 226 millions de dollars en 1987 (40), soit près de 6 fois plus. La R&D pour innover véritablement dans l'antibiothérapie, dans un marché du médicament de plus en plus complexe, nécessite un investissement financier très important.
- Compte tenu de ses coûts de R&D élevés et de son prix faible, il a été estimé que la rentabilité pour un antibiotique n'est atteinte que 23 ans après sa découverte (24). [Figure 8, (24)].

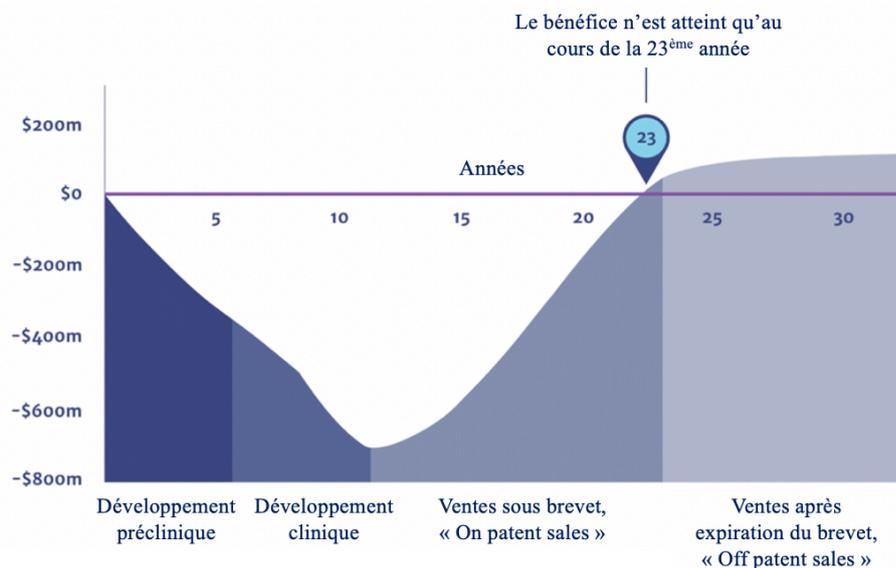


Figure 8 – Cycle de vie d'un antibiotique, adapté de (24)

³ Substance active : atorvastatine, indiquée dans l'hypercholestérolémie

⁴ Ce chiffre prend en compte les sommes dépensées en R&D pour développer le médicament commercialisé mais également celles liées à tous les candidats-médicaments testés qui n'ont pas été retenus, à cela s'ajoute le coût des fonds mobilisés pour la R&D (coût de capital)

Il faut savoir qu'un brevet n'est valable que 20 ans après son dépôt et que la R&D d'un médicament dure en moyenne 11,5 ans (41), (42). Une fois que le médicament est mis sur le marché, deux types de protections supplémentaires au brevet existent auprès de l'European Medicines Agency (EMA) : l'exclusivité de données pendant 8 ans et l'exclusivité commerciale pendant 2 ans qui est reconductible 1 an si le médicament montre un bénéfice clinique significatif par rapport aux traitements existants (43). Un laboratoire n'a donc pas le droit de commercialiser un médicament générique tant que ces protections sont valables [Figure 9, (43)].

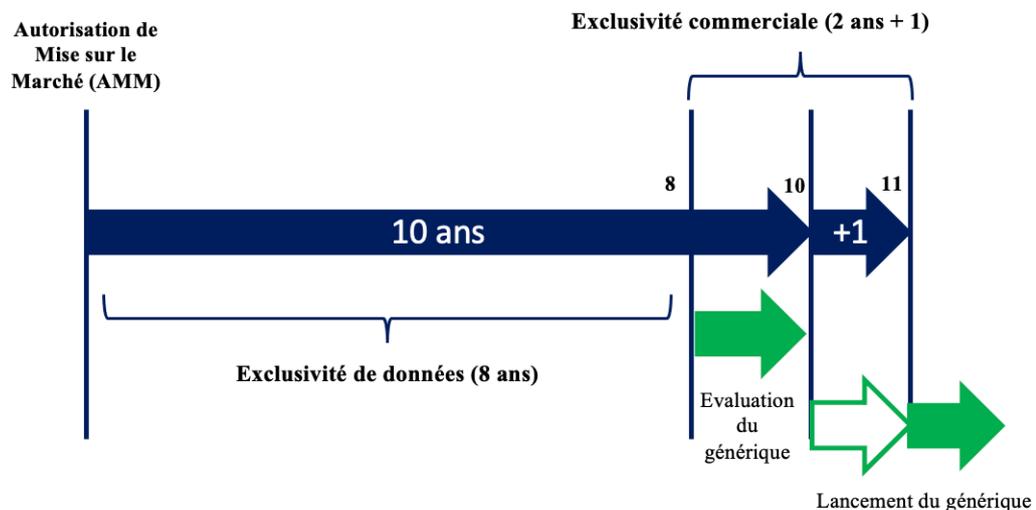


Figure 9 – Schéma illustrant les deux types de protections supplémentaires accordées par l'EMA (43)

Une autre problématique est que le marché de l'antibiothérapie est mature, saturé par de nombreux concurrents avec divers antibiotiques déclinés de mêmes classes thérapeutiques ainsi qu'un **marché du générique** très important. En France, le marché du générique dans l'antibiothérapie représente plus de 84% de la consommation en ambulatoire (26).

Le nombre conséquent de recherches effectuées depuis des décennies et celui des antibiotiques commercialisés rendent difficile la découverte d'une nouvelle classe ou d'un tout nouveau traitement. La plupart des programmes de développement dans l'industrie pharmaceutique sont principalement axés sur la modification des médicaments existants. Il n'y a pas eu de découverte de nouvelle classe d'antibiotiques depuis 1984 (44). Il faudrait investir des sommes plus importantes et retrouver une expertise parfois oubliée dans les laboratoires pharmaceutiques, pour briser cette **barrière scientifique** et proposer de véritables innovations thérapeutiques (44).

Le déclin de la R&D dans ce secteur est aussi dû au mauvais **positionnement clinique** qu'aurait un nouvel antibiotique arrivant sur le marché. En effet, les différentes politiques de maîtrise de l'utilisation de ces médicaments ont induit une utilisation plus restreinte et contrôlée pour ne pas générer davantage de phénomènes de résistance. Si un laboratoire produit un antibiotique et qu'il obtient une AMM, cet antibiotique de dernière génération ne sera pas utilisé largement mais seulement en dernier recours lorsque les médicaments de « routine » auront échoué. Si l'on suppose que le prix de l'antibiotique est équivalent à ce qui existe sur le marché, le revenu potentiel sera limité compte tenu du marché restreint. Également, on peut mentionner les évolutions des exigences méthodologiques des essais cliniques qui poussent à démontrer une supériorité par rapport à un traitement de référence. Les essais cliniques ciblent principalement les infections communautaires où le taux de guérison est aujourd'hui de plus de 90% (14). Il est donc difficile de démontrer la supériorité d'un nouveau médicament en termes de guérison du patient. Se faisant, il s'agit très souvent d'essais cliniques prouvant une non-infériorité par rapport au traitement de référence. Ceci peut permettre d'obtenir une AMM mais pas une place de choix dans la stratégie thérapeutique par rapport à des traitements déjà commercialisés depuis longtemps, que les médecins ont l'habitude de prescrire et qui sont aussi efficaces.

Certaines Big Pharma, incitées et soutenues par les gouvernements, ont tout de même continué à investir et à chercher de nouvelles classes d'antibiotiques. C'est le cas de GSK qui a lancé en 2019 un essai clinique de phase 3 d'un nouvel antibiotique, la gépotidacine, contre les infections urinaires et la gonorrhée dont les résultats sont attendus au second semestre 2022 (45). Mais également de Pfizer qui s'apprête à signer un accord avec le gouvernement britannique pour distribuer son nouvel antibiotique Zavicefta® avec un nouveau système de paiement d'ici l'été 2022 (46). Le Royaume-Uni verserait un montant fixe par an pour dix ans plutôt que le système de paiement habituel fondé sur le volume de prescriptions (46). L'objectif est d'inciter plus fortement les laboratoires à investir en R&D dans cette aire thérapeutique. Le laboratoire japonais Shionogi est également concerné par cette mesure incitative avec le Fetcroja® (46). Par ailleurs, le gouvernement anglais insiste auprès des autres pays à prendre des mesures similaires.

Aux États-Unis, une proposition de loi introduite fin 2021, Cure 2.0 Act, a pour objectif de favoriser, entre autres, le développement de nouveaux antimicrobiens (47).

On note qu'un rapport du Milken Institute aux États-Unis, datant de mars 2022, liste les différentes incitations financières possibles pour redynamiser cette aire thérapeutique et développer de nouveaux antibiotiques (48).

Sur le marché de l'antibiothérapie, on dénombre plusieurs petites et moyennes entreprises, souvent spin-off d'universités, reposant sur des technologies prometteuses (36). Cependant, elles font face à des coûts de R&D exorbitants et des revenus trop faibles, ce qui les obligent parfois à abandonner leurs projets.

Dans le cas de la société Achaogen, spécialisée dans la recherche de nouveaux antibiotiques, la mise sur le marché de son antibiotique dans le traitement des infections urinaires compliquées, ne l'a pas empêchée de faire faillite en 2019, soit moins d'un an après sa commercialisation (49).

Ces entreprises peinent à trouver des investisseurs et les retours sur investissement paraissent trop faibles pour intéresser les fonds privés (49). Certaines ont cependant relevé le défi, c'est le cas de la société américaine VenatoRx Pharmaceuticals qui a levé 42 millions de dollars en 2017 (50), et de Destiny Pharma qui a réussi son entrée en bourse sur la London Stock Exchange, en levant près de 20 millions de dollars la même année (51).

En France, quelques entreprises de biotechnologies s'activent également dans la recherche de nouveaux antibiotiques, comme la société Deinove, basée à Montpellier, qui s'intéresse à la « **matière noire microbienne** » et développe de nouveaux antibiotiques luttant contre les bactéries multirésistantes comme *C. difficile* (52).

Bactéries et phénomène de résistance aux antibiotiques

2.1. Bactéries et infections

Les bactéries sont des organismes unicellulaires microscopiques ayant un ADN double brin circulaire et une paroi cellulaire (à l'exception des mycoplasmes). Il s'agit des premiers êtres vivants apparus sur Terre il y a plusieurs milliards d'années. Elles sont ubiquitaires, présentes dans tous les types de biotopes : le sol, les eaux douces et marines, l'air, les profondeurs océaniques, la croûte terrestre, la peau et l'intestin des animaux ainsi que les plantes (53).

La plupart des bactéries présentes sur Terre sont appelées saprophytes et jouent un rôle dans l'environnement, en recyclant les biomatériaux, facilitant les processus de traitements des eaux usées, dans l'agroalimentaire et dans la production industrielle de composés chimiques (53). A la surface et à l'intérieur du corps humain, on dénombre environ cent trillions de bactéries (10×10^{18}), soit un ratio de trois bactéries pour une cellule humaine (1). La majorité d'entre elles, appelée flore commensale, est inoffensive et joue un rôle indispensable au bon fonctionnement du corps humain, comme dans la digestion des aliments.

Seulement une centaine d'espèces bactériennes est pathogène pour l'Homme et à l'origine d'infections. Certaines bactéries commensales sont qualifiées d'opportunistes comme le Staphylocoque dorée (*S. aureus*) lorsqu'elles deviennent pathogènes. Ces bactéries vont souvent concerner les individus aux défenses immunitaires altérées.

Structure des bactéries [Figure 10, (54)]

Étudier la structure des bactéries permet de mieux comprendre les mécanismes d'action des antibiotiques et les mécanismes de résistance. Certains constituants sont indispensables à leur survie, se retrouvant chez tous les types de bactéries, et d'autres sont facultatifs et permettent généralement d'augmenter leur virulence.

Parmi les structures indispensables aux bactéries, on retrouve :

- La *membrane*, enveloppe délimitant les éléments essentiels à la vie de la bactérie. Elle participe activement aux échanges. Les bactéries Gram+ n'en possèdent qu'une seule,

les bactéries Gram- possèdent une membrane cytoplasmique et une membrane externe qui augmente leur virulence.

- Le *cytoplasme*, composé du cytosol (liquide) et des organites internes.
- Le *chromosome* bactérien qui est porteur de l'information génétique. Il s'agit d'ADN bougeant librement dans le cytoplasme sans membrane nucléaire. C'est pour cette raison que les bactéries sont qualifiées de procaryotes, à l'inverse des cellules dites eucaryotes comme celles des humains, qui possèdent un véritable noyau avec une membrane nucléaire protégeant le matériel génétique.
- Les *ribosomes*, lieux de synthèse protéique lui permettant de vivre et de se multiplier.

Parmi les structures facultatives, on retrouve :

- La *paroi* : élément rigide présent chez presque toutes les bactéries. Elle la protège mécaniquement et maintient la forme arrondie (cocci) ou allongée (bacilles). Il s'agit du composant le plus spécifique des bactéries, car c'est sa nature chimique (peptidoglycane et lipopolysaccharides) qui permet la coloration de Gram et leur identification. En effet, la paroi est plus épaisse chez les bactéries Gram+ et moins importante chez les Gram-.
- Les *plasmides* : molécules d'ADN indépendantes du matériel génétique de la bactérie. Elles apportent une information génétique supplémentaire et sont généralement circulaires. Ces plasmides participent à la dissémination de gènes entre bactéries pouvant améliorer leur résistance aux antibiotiques ou leurs facteurs de virulence. Ce matériel génétique peut être intégré au génome bactérien via des transposons ou rester dans le cytoplasme avant d'être transféré à d'autres bactéries.
- Les *flagelles* : structures protéiques filamenteuses permettant la mobilité de la bactérie. Elles peuvent avoir un ou plusieurs flagelles.
- Les *pili* et *fimbria* : également des structures protéiques filamenteuses mais plus courtes que les flagelles. Certains pili participent également à l'échange d'ADN plasmidique, à l'adhésion à des bactéries ou des surfaces ou encore à la formation de biofilms.
- La *capsule* : enveloppe polysaccharidique entourant la paroi. Elle protège la bactérie de la phagocytose et participe à l'adhérence ainsi qu'à la constitution de biofilms.

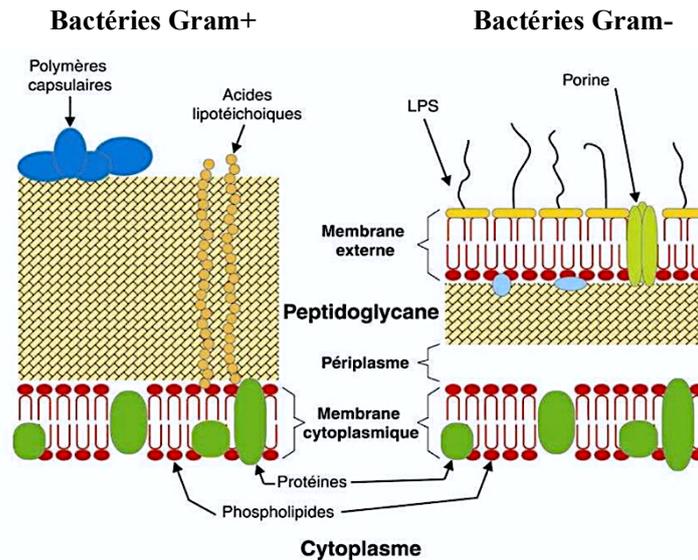


Figure 10 : Schéma de l'enveloppe cellulaire des bactéries (54),

Les bactéries Gram- possèdent une double membrane (cytoplasmique et externe) entourant une paroi (peptidoglycane) tandis que les bactéries Gram+ possèdent uniquement une membrane cytoplasmique mais une paroi beaucoup plus épaisse.

Classification des bactéries [Tableau 1]

Les bactéries pathogènes chez l'Homme sont classées selon les critères suivants (55) :

- **Morphologie** : cylindrique (bacilles), sphérique (coques ou cocci), incurvée (vibrions), ou hélicoïdale (spirochètes et tréponèmes). Les bacilles sont les plus nombreux.
- **Coloration** : la plus utilisée est la coloration de Gram. Elle permet l'identification générale des bactéries : Gram positif et Gram négatif. La coloration de Ziehl-Neelsen et de Kinyoun sont utilisées pour mettre en évidence les mycobactéries comme *M. tuberculosis*. Les colorations par fluorochrome sont aussi possibles mais nécessitent un microscope à fluorescence pour identifier des microorganismes acido-résistants.
- **Encapsulation** : certaines bactéries sont protégées par des capsules qui augmentent leur virulence. Cette structure rend plus difficile la phagocytose.
- **Besoins en oxygène** : on peut les classer en quatre types.
 - Aérobie obligatoire : besoin d'oxygène pour produire de l'énergie et croître.
 - Anaérobie stricte : l'oxygène n'est pas nécessaire pour leur croissance. L'énergie est produite par fermentation ou par respiration anaérobie. On les trouve en général dans le système digestif, le vagin ou les plaies chroniques lorsqu'il n'y a pas assez de circulation sanguine.

- Aéro-anaérobies facultatives : peuvent se développer avec ou sans oxygène.
- Parasites intracellulaires obligatoires comme les Chlamydia. Ils ne produisent pas leur propre énergie et la puisent dans la cellule hôte.

Tableau 1 - Classification des bactéries pathogènes adapté de (56), (57) (Liste non exhaustive)

Cocci à Gram + (CG +)		
Morphologie	Genre	Espèces
<i>Aérobies</i>		
En amas	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i> <i>epidermidis, saprophyticus</i>
En chaînette	<i>Streptococcus</i> - Bêta-hémolytiques - Alpha hémolytiques	<i>pyogenes</i> <i>agalactiae</i> Autres groupes <i>mutans, salivarius, anginosus, constellates, intermedius</i>
En diplocoque	<i>Streptococcus</i>	<i>pneumoniae</i> (pneumocoque)
En courtes chaînette	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis, faecium</i>
<i>Anaérobies</i>		
	<i>Peptostreptococcus</i>	Plusieurs espèces

Cocci à Gram – (CG -)		
Morphologie	Genre	Espèces
<i>Aérobies</i>		
En diplocoque	<i>Neisseria</i> <i>Branhamella</i>	<i>meningitidis</i> (méningocoque) <i>gonorrhoeae</i> (gonocoque) <i>catarrhalis</i>
<i>Anaérobies</i>		
	<i>Veillonella</i>	Plusieurs espèces

Bacilles à Gram + (BG +)		
Morphologie	Genre	Espèces
<i>Aérobies</i>		
Petits	<i>Listeria</i> <i>Erysipelothryx</i> <i>Corynebacterium</i>	<i>monocytogenes</i> <i>rhusiopathiae</i> (bacille du rouget du porc) <i>diphtheriae</i> (bacille de Loeffler)

		Autres coryneformes
Grands	<i>Bacillus</i> <i>Norcadia</i>	<i>Anthraxis</i> (bacille du charbon) Autres
Anaérobies		
	<i>Clostridium</i> <i>Actinomyces</i> <i>Peptococcus</i> <i>Propionibacterium</i>	<i>tetani</i> , <i>perfringens</i> , <i>botulinum</i> , <i>difficile</i> <i>acnes</i>

Bacilles à Gram - (BG - ou BGN)		
Morphologie	Genre	Espèces
Aérobies		
A coloration bipolaire :	<i>Escherichia</i> <i>Klebsiella</i> <i>Citrobacter</i> <i>Enterobacter</i> <i>Proteus</i> <i>Serratia</i> <i>Providencia</i> <i>Morganella</i> <i>Salmonela</i> <i>Shigella</i> <i>Yersinia</i>	<i>coli</i> (colibacille) <i>pneumoniae</i> <i>freundii</i> <i>cloacae</i> <i>mirabilis</i> <i>marcescens</i> <i>rettgeri</i> <i>morganii</i> <i>typhimurium</i> <i>sonnei</i> <i>enterolitica</i>
Coccobacilles	<i>Brucella</i> <i>Haemophilus</i> <i>Moraxella</i> <i>Pasteurella</i> <i>Bordetella</i> <i>Legionella</i> <i>Kingella</i> <i>Gardnerella</i> <i>Eikenella</i> <i>Aggregatibacter</i> <i>Cardiobacterium</i>	<i>melitensis</i> <i>influenza</i> , <i>parainfluenza</i> <i>aphrophilus</i> , <i>paraphropilus</i> <i>catarrhalis</i> <i>multocida</i> <i>pertussis</i> <i>pneumoniae</i> <i>kingae</i> <i>vaginalis</i> <i>corrodens</i> <i>actinomycetemcomitans</i> <i>hominis</i>
Aérobie stricte	<i>Pseudomonas</i> Autres (<i>Burkholderia</i> , <i>Stenotrophonas</i> ...) <i>Acinetobacter</i>	<i>aeruginosa</i> (bacille pyocanique) <i>baumannii</i>

Vibrions	<i>Vibrio</i> Autres vibrions <i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter</i>	<i>Cholerae</i> <i>jejuni</i> <i>pylori</i>
Anaérobies		
	<i>Bacteroïde, Prevotella,</i> <i>Fusobacterium, Porphyromonas,</i> <i>Eubacterium</i>	

Autres bactéries		
Morphologie	Genre	Espèces
Bactéries de forme spiralée		
Spirochètes	<i>Treponema</i> <i>Leptospira</i> <i>Borrelia</i> <i>Spirillum</i>	<i>pallidum</i> <i>icterohemorragiae</i> <i>recurrentis, burgdorferi</i> <i>minus</i>
Mycoplasmes		
Sans paroi	<i>Mycoplasma</i> <i>Ureaplasma</i>	<i>pneumoniae, hominis</i> Autres <i>urealyticum</i>
Bactéries intracellulaires		
Très petite taille	<i>Chlamydia</i> <i>Rickettsia</i> <i>Coxiella</i>	<i>trachomati, psittaci, pneumoniae</i> <i>conorii</i> Autres
Mycobactéries		
Bacilles alcool- acido-résistants	<i>Mycobacterium</i>	<i>tuberculosis</i> (bacille de Koch) <i>leprae, avium</i>

Selon le lieu où le patient a contracté la maladie infectieuse, on peut les classer selon deux types : les **infections communautaires**, les plus fréquentes, acquises en dehors d'un établissement de soins et les **infections nosocomiales**.

On parle également d'**infections associées aux soins** (IAS), dès lors qu'un professionnel de santé prodigue un soin responsable d'une infection, qu'il soit diagnostique, thérapeutique, palliatif, préventif, éducatif ou opératoire (58). Une IAS peut donc être contractée en dehors mais aussi au sein d'un établissement de soin.

Point sur les infections nosocomiales

Les infections nosocomiales sont les infections contractées au cours d'un séjour dans un établissement de santé (59). Une infection est considérée comme nosocomiale lorsqu'elle survient après 48h d'hospitalisation ou jusqu'à 30 jours après une opération chirurgicale même si le patient est sorti de l'établissement et cela peut aller jusqu'à 1 an pour les prothèses ou les implants (59), (60). Elle peut être directement liée aux soins dispensés, par exemple par un cathéter ou une sonde, ou simplement au cours de l'hospitalisation, indépendamment d'un acte médical, comme lors d'une épidémie de grippe. Les microorganismes, à l'origine de l'infection, peuvent provenir des mains du personnel soignant, des autres malades ou de l'environnement, c'est-à-dire dans l'eau, l'air, les équipements, ou encore l'alimentation (60).

En France, ce type d'infection aurait une **prévalence de 4,98%** au cours des hospitalisations (61), soit un patient sur vingt (62). En 2019, cela représentait plus de **640 000 patients** sur 12,9 millions de patients hospitalisés (63). En Europe, le nombre de personnes atteintes d'une infection nosocomiale était près de 9 millions en 2016 (64). D'après un rapport de l'OMS datant de 2011 (65), la prévalence de patients hospitalisés ayant contracté au moins une infection nosocomiale dans les pays développés variait entre 3,5% et 12%.

Les principales infections nosocomiales (plus de 70%) recensées en 2017 en France sont (61) :

- Infections urinaires (28,5%)
- Infections de site opératoire (16%)
- Pneumonies (15,6%)
- Bactériémies (11,4%)

Les principales bactéries à l'origine de plus de 50% des infections sont (61) : *Escherichia coli* (23,6%), *Staphylococcus aureus* (13,8%), *Enterococcus faecalis* (6,5%), *Pseudomonas aeruginosa* (6,3%), *Klebsiella pneumonia* (5,6%) et *Staphylococcus epidermidis* (5,4%).

Ces infections seraient à l'origine de **4 000 à 20 000 décès par an en France** selon les études sur le sujet (66), soit la 4^{ème} cause de décès à l'hôpital (67). En Europe, plus de 37 000 décès seraient directement imputables aux maladies nosocomiales chaque année, auxquels nous pourrions ajouter les 110 000 décès où « l'infection aurait contribué au décès » (65). Aux États-

Unis en 2002, 99 000 décès étaient recensés (65), soit près de 6% des patients ayant déclaré une infection à l'hôpital.

Il est important de noter que ces chiffres sont à manier avec précaution. Certaines études françaises indiquent que le taux de mortalité d'infections nosocomiales en France pourrait être sous-estimé. En effet, il est difficile de trouver des études robustes sur le sujet, beaucoup de chiffres mentionnés datent des années 1980-2000 et il est, dans certains cas, difficile de savoir si l'infection a été la cause directe ou unique du décès. Les patients hospitalisés sont souvent plus fragiles. De plus, les chiffres rapportés dans ces études ne prendraient pas en compte les décès survenant après la sortie de l'hôpital alors qu'ils pourraient représenter 24% de l'ensemble de ces décès (66).

Les principales infections à l'origine de ces décès en France à l'hôpital entre 2008 et 2017 sont les suivantes (68) :

- Bactériémies (43%)
- Pneumopathies (27%)
- Infections digestives (18%)
- Infections de site opératoire (12%)

Les principales bactéries associées aux décès sont celles-ci (68) :

- *Staphylococcus aureus* (25%)
- *Clostridium difficile* (11%)
- *Pseudomonas aeruginosa* (11%)

Pour **près d'un quart** d'entre elles (68), une résistance aux antibiotiques a été observée. La France fait partie des pays ayant une proportion de souches bactériennes antibiorésistantes dans ses établissements de santé plus élevée que la moyenne européenne (69).

2.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

D'après le Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine (70), la résistance bactérienne aux antibiotiques est « un phénomène biologique qui se traduit, dans l'organisme, par le développement d'une souche bactérienne malgré la présence d'un antibiotique administré à des posologies usuelles ». En d'autres termes, il s'agit de la capacité d'une bactérie à contourner le mécanisme d'action d'un ou de plusieurs antibiotiques alors qu'elle y était auparavant sensible. La sensibilité et la résistance d'une bactérie à un antibiotique sont mesurées en fonction de la concentration minimale inhibitrice (CMI), c'est-à-dire la concentration minimale de médicament qui inhibe la croissance des bactéries (71).

On parle aujourd'hui également de **Bactéries Multi Résistantes (BMR)** aux antibiotiques. Ces dernières possèdent plusieurs mécanismes de résistances à différentes familles d'antibiotiques. Certaines font l'objet d'une surveillance :

- Entérobactéries productrices de Bêta-lactamases à spectre étendu (**E-BLSE**)
- *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (**SARM**)
- *Acinetobacter baumannii* multirésistants (**ABRIs**).

Un second concept est celui des **Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes (BHRe)**. Il s'agit de bactéries commensales du tube digestif sensibles à une seule ou deux classes d'antibiotiques (72). Elles sont résistantes à de nombreux antibiotiques, parfois tous et leur mécanisme de résistance se transfère entre bactéries (72). Le risque d'impasse thérapeutique est donc élevé, elles sont sous surveillance et de deux types (72) :

- *Enterococcus faecium* résistants aux glycopeptides (ERG)
- Entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC)

Ces mécanismes de résistance sont liés au mode d'action de l'antibiotique. Pour mieux les comprendre, voici une explication synthétique des différents modes d'action de ces médicaments :

- Les bêta-lactamines, les glycopeptides et la fosfomycine vont **inhiber la synthèse de la paroi bactérienne** (71). Ils vont bloquer le fonctionnement des transpeptidases qui permettent la synthèse du peptidoglycane composant la paroi. Celle-ci ne peut plus être remaniée, l'eau y entre par osmose ce qui entraîne une lyse de la bactérie (73).

- Les lipopeptides comme les polymyxines, la colimycine et la daptomycine vont **inhiber la synthèse de la membrane** en la dépolarisant (71). Ces molécules chargées positivement vont agir comme des agents tensio-actifs cationiques sur les bactéries à Gram négatif en perturbant la membrane externe puis la membrane cytoplasmique, faisant fuir les éléments hydrosolubles de la bactérie vers le milieu extérieur.
- Les quinolones vont **inhiber la synthèse de l'ADN bactérien** (71). Ces antibiotiques vont inhiber de façon directe ou indirecte les voies de synthèse des acides nucléiques.
- Les aminosides, les macrolides, les tétracyclines, les phénicolés, l'acide fusidique et les oxazolidinones vont **inhiber la synthèse protéique à l'intérieur du cytoplasme** (71). La synthèse protéique, indispensable à la vie cellulaire, est réalisée par des ribosomes. Ces antibiotiques vont inhiber la synthèse des protéines à différentes étapes. Certains interagissent avec l'ARN ribosomique alors que d'autres vont inhiber la traduction en bloquant les facteurs de traduction liés au ribosome.
- Les sulfamides et le triméthoprimé vont avoir une action **par inhibition de voies métaboliques** (71). Elles vont bloquer des précurseurs des bases des acides nucléiques. Ces antibiotiques vont se fixer de façon irréversible sur les sites actifs des enzymes de la bactérie ou sur un autre site de liaison. Ils vont inhiber la synthèse d'acide folique nécessaire à la synthèse d'acides nucléiques. Ils peuvent être utilisés en combinaison pour un effet synergique.
- La rifampicine quant à elle, va **inhiber la transcription du génome bactérien** en se fixant à l'ARN polymérase. Cette inhibition empêche la transcription de l'ADN bactérien et donc la formation d'ARN messagers, ARN de transferts et des ARN ribosomiaux (74).

La résistance aux antibiotiques peut être qualifiée de **naturelle** ou d'**acquise**.

La résistance naturelle peut être **intrinsèque**, c'est-à-dire qu'elle touche toutes les souches d'une même espèce ce qui les rend insensibles à un antibiotique donné (75). Elle conditionne le **spectre d'activité d'un antibiotique** (large ou étroit) (75). En d'autres termes, certains antibiotiques n'agissent naturellement pas sur certaines bactéries, c'est le cas de la vancomycine qui agit uniquement sur les bactéries Gram positif (73). Cette résistance naturelle peut aussi être **induite**, c'est-à-dire que les gènes de résistance sont naturellement présents dans

la bactérie mais ne s'expriment qu'après exposition à un antibiotique (71). C'est le cas notamment de certaines pompes d'efflux⁵ présentes chez les bactéries Gram positif (71).

La résistance acquise quant à elle touche une ou plusieurs souches d'une espèce qui étaient auparavant sensibles à l'antibiotique (75). La résistance apparaît lorsqu'une **mutation** a lieu au niveau de l'ADN bactérien (76). Ces mutations sont rares et naturelles, de l'ordre d'une bactérie pour un milliard (77). Le problème étant que les bactéries porteuses de ces mutations vont échapper à l'action de l'antibiotique et vont se multiplier en transmettant la résistance (75). L'antibiotique devient alors inefficace contre ces souches. Certaines résistances acquises peuvent aussi être le résultat d'une **acquisition de matériel génétique mobile porteur de gènes de résistance** comme les plasmides, les transposons et les intégrons (61), (77). Ce mécanisme de résistance par transfert est très répandu, de l'ordre d'une bactérie sur cent, et représenterait 80% des résistances acquises (76), (78).

On observe 4 grands mécanismes de résistance [Figure 10, (79)], [Tableau 2] :

- **Imperméabilité membranaire** : absence ou modification de pénétration du médicament dans la bactérie. La membrane externe des bactéries Gram- est constituée du lipopolysaccharide (LPS) et de phospholipides où s'insèrent plusieurs protéines comme les porines (71). Ces protéines transmembranaires sont des canaux permettant l'entrée de solutés hydrophiles comme les bêta-lactamines et les fluoroquinolones (79). On parle d'imperméabilité membranaire lorsqu'il y a une disparition progressive des porines, par diminution de leur expression, en commençant par celles au diamètre le plus large pour finir par celles au diamètre le plus fin. En fonction du degré de résistance, on peut observer la quasi-disparition de tous les canaux. Un autre phénomène est possible par mutation, il s'agit de la modification de la conformation interne des porines entraînant un blocage des molécules hydrophiles à l'extérieur de la cellule, ne leur permettant pas d'atteindre leur cible pharmacologique (79).
- **Modification de la cible** sur laquelle le médicament agit. Un des mécanismes de résistance aux bêta-lactamines est la modification de la structure ou du nombre de protéines de liaison à la pénicilline (PBP) nécessaire à la synthèse du peptidoglycane de la paroi cellulaire (71). Ce mécanisme a un impact direct sur la quantité de médicament pouvant se lier aux PBP, celui-ci devient par conséquent moins efficace. Un autre exemple est celui de la résistance

⁵ Une pompe d'efflux ou « transporteur » est une protéine transmembranaire utilisant l'énergie pour rejeter des composés toxiques à l'extérieur de la cellule

à la daptomycine. Cet antibiotique nécessite du calcium pour se lier à la membrane cellulaire des bactéries. Lors de mutations génétiques, la membrane se charge positivement ce qui inhibe la liaison du calcium et donc de l'antibiotique (71).

- **Inactivation enzymatique** : la bactérie synthétise des enzymes inactivant le médicament soit par hydrolyse soit par transfert d'un groupement chimique sur celui-ci. L'un des exemples fréquemment observés chez les bactéries Gram- est celui des bêta-lactamases, enzymes hydrolytiques inhibant les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines en agissant sur leur noyau (71), (79). Un autre médicament concerné par ce phénomène est la tétracycline. Le mécanisme d'inactivation par transfert de groupement chimique intervient fréquemment sur les aminoglycosides, le chloramphénicol, les streptogramines et les fluoroquinolones. Différentes enzymes modificatrices, appelées transférases, sont la cause de ces inactivations (71).
- **Efflux actif** : mécanisme permettant l'élimination de l'antibiotique dans le milieu extérieur. Les bactéries possèdent naturellement différents types de pompes d'efflux qui rejettent à l'extérieur les substances toxiques pour la cellule, certaines pompes peuvent aussi être acquises (79). Il en existe 5 familles qui sont classées en fonction de leur structure et de leur source d'énergie : ABC (ATP-binding cassette), MATE (multidrug and toxic compound extrusion), SMR (small multidrug resistance), MFS (major facilitator superfamily) et RND (resistance-nodulation-cell division) (79). Les pompes à efflux les plus fréquemment observées chez les bactéries Gram+ sont celles de la famille MFS (NorA, QacA, PmrA) qui éliminent la tétracycline en utilisant l'échange de protons comme source d'énergie (80), (81). Chez bactéries Gram-, il s'agit fréquemment de celles de la famille RND, en particulier AcrAB et MexAB (81), (82).

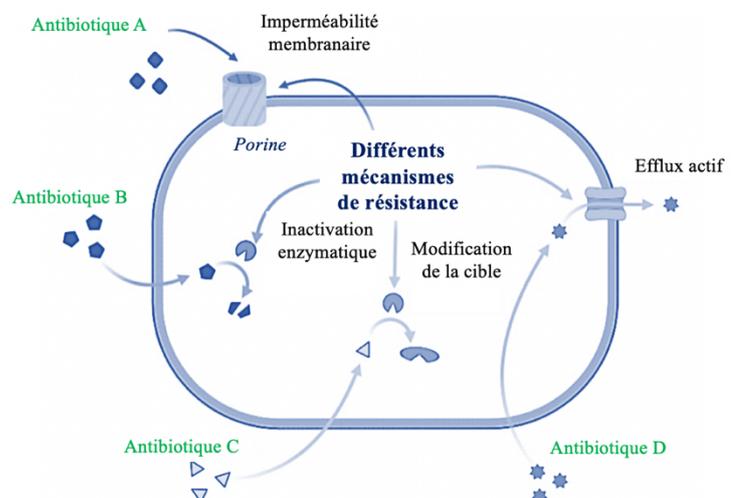


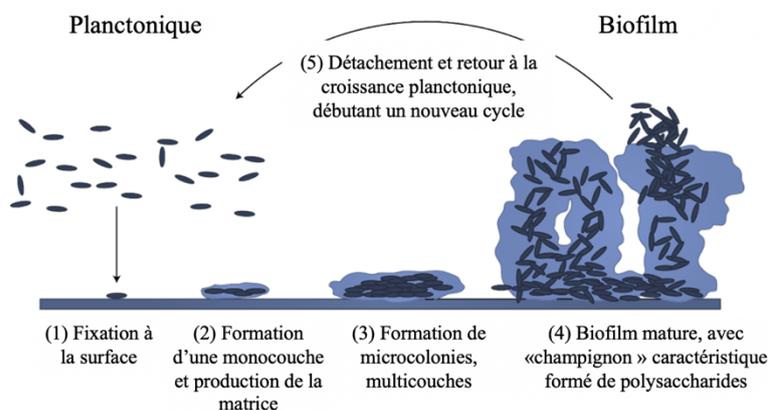
Figure 11 – Illustration des principaux mécanismes de résistance des bactéries, adapté de (79)

Tableau 2 – Récapitulatif des mécanismes de résistance aux antibiotiques adapté de (71)

Antibiotiques	Imperméabilité membranaire	Modification de la cible pharmacologique	Inactivation de l'antibiotique	Pompes à efflux
Bêta-lactamines <i>Carbapénèmes</i> <i>Céphalosporines</i>	Diminution du nombre de porines, pas de paroi cellulaire Sélectivité de la porine modifiée Sélectivité de la porine modifiée	Gram+ : altérations des PBP	Gram+, Gram- : bêta-lactamases	RND
Glycopeptides	Paroi cellulaire épaissie, pas de paroi cellulaire	Modification du peptidoglycane		
Lipopeptides		Modification de la polarité de la cellule		
Aminoglycosides	Polarité de la paroi cellulaire	Mutations ribosomales et méthylation	Enzymes de modification des aminoglycosides, acétylation, phosphorylation, adénylation	RND
Tetracyclines	Diminution du nombre de porines	Protection des ribosomes	Modification de l'antibiotique, oxydation	MFS, RND
Chloramphenicol		Méthylation des ribosomes	Acétylation de l'antibiotique	MFS, RND
Lincosamides		Gram+ : méthylation des ribosomes		ABC, RND
Macrolides		Mutations ribosomales et méthylation		ABC, MFS, RND
Oxazolidinones		Méthylation des ribosomes		RND
Streptogramines				ABC
Fluoroquinolones		Gram- : modification de l'ADN gyrase / Gram+ : topoisomérase IV	Acétylation de l'antibiotique	MATE, MFS, RND
Sulfonamides		DHPS à liaison réduite, surproduction de DHPS résistant		RND
Trimethoprim		DHPS à liaison réduite, surproduction de DHPS résistant		RND

Enfin, un autre phénomène pouvant empêcher l'action des antibiotiques et également du système immunitaire est la formation de **biofilms** [Figure 12]. Les bactéries colonisatrices vont former une communauté bactérienne, c'est-à-dire une structure à la matrice épaisse et collante constituée de polysaccharides, de protéines et d'ADN extracellulaire (71), (79). Pour qu'un antibiotique soit efficace face à ce phénomène, il faut des concentrations beaucoup plus élevées car la résistance serait jusqu'à mille fois supérieure à celle des bactéries dites planctoniques, c'est-à-dire « libres » (71), (79). De plus, les biofilms favoriseraient le transfert de gènes de résistance par la proximité des cellules bactériennes entre elles (71). La forme planctonique caractérise les infections aiguës contrairement aux biofilms qui caractérisent les infections chroniques et celles induites par des dispositifs comme des prothèses ou des implants médicaux (79).

Figure 12 – Schéma représentatif de la formation d'un biofilm, adapté de (83)



Facteurs favorisant les mécanismes de résistance

Les principaux facteurs pouvant favoriser les bactéries résistantes sont l'**utilisation excessive** des antibiotiques que ce soit dans la médecine humaine ou vétérinaire ou encore leur **mésusage**. A. Flemming avait mentionné lors de la remise son prix Nobel en 1945 (1), que les résistances acquises peuvent être favorisées par une antibiothérapie peu efficace, c'est-à-dire lorsque l'antibiotique est en concentration trop faible ou pendant une durée restreinte dans l'organisme du patient (75). C'est pour cette raison que les antibiotiques sont délivrés sur prescription médicale dans de nombreux pays et pas à la disposition directe du grand public et qu'aujourd'hui les médecins et pharmaciens insistent auprès du patient sur l'importance de respecter la durée du traitement. Cependant, les antibiotiques peuvent aussi être mal prescrits. Pour gagner du temps et/ou par manque d'outils diagnostic performants et fiables⁶, les médecins de ville n'analysent pas forcément si l'infection est d'origine virale ou bactérienne. Les antibiotiques prescrits pourraient donc être inutiles au patient. De plus, la bactérie responsable de l'infection n'est pas forcément analysée, les médecins prescrivent donc souvent des antibiotiques à large spectre alors qu'il est recommandé d'utiliser des antibiotiques au spectre étroit ciblant précisément la bactérie concernée (84).

Les mauvaises mesures de prévention et de contrôle des infections entraîneraient directement la propagation des résistances (85). Les pays à faibles et moyens revenus seraient par conséquent plus impactés que les pays développés car ils disposent d'un accès limité à certaines ressources, d'un manque de formation dans le domaine, ou d'un manque d'infrastructures permettant une surveillance numérique appropriée (85), (86).

De plus, certains pays rejettent directement dans l'environnement des déchets d'origine animale, alors que les animaux ont pu être traités par des antibiotiques durant leur vivant (87). Ces médicaments peuvent alors se retrouver dans les eaux souterraines, l'eau potable, les sols ou les cultures vivrières et favoriser l'apparition de bactéries résistantes (87).

⁶ Tests d'Orientation Diagnostique (TROD). Exemples : test de diagnostic rapide dans l'angine ou la bandelette urinaire dans la cystite.

2.3. État actuel de l'antibiorésistance

L'OMS estime que le phénomène de résistance aux antimicrobiens est l'une des dix principales menaces pour la santé publique mondiale (88). Les taux de résistance de certaines bactéries et les taux de mortalité mondiaux liés à cette menace sont préoccupants et ne cessent d'augmenter. *The Review on Antimicrobial Resistance*⁷ a estimé qu'il serait à l'origine d'au moins 700 000 décès par an dans le monde (89). Ce chiffre, souvent pris comme référence, a été reconsidéré à la suite d'une étude épidémiologique réalisée en 2016 en Thaïlande (90), pouvant représenter les pays à faibles et moyens revenus. Dans ces pays, les taux de résistance seraient plus élevés car leurs systèmes d'assainissement sont moins efficaces, les établissements de soins de moins bonne qualité et le contrôle de la délivrance des antibiotiques plus faible (1). La mortalité mondiale liée aux résistances serait donc aujourd'hui plus proche de **1,5 millions de personnes par an**, soit l'équivalent du nombre de décès liés au diabète et plus que les décès causés par un accident de la route (1). Ce chiffre correspond aux résultats d'une étude mondiale publiée en 2022 dans *The Lancet*, où il est estimé que **1,27 millions de décès** en 2019 étaient directement imputables à la résistance aux bactéries (91). En 2050, ce fléau pourrait être la cause de **10 millions de décès par an** dans le monde si aucune action efficace n'était engagée pour le contrer (89).

A l'échelle de l'Europe, plus de 33 100 décès ont été recensés en 2015 sur près de 672 000 infections à bactéries résistantes (92), soit un taux de mortalité de 4,9% après avoir contracté une infection à bactérie résistante [Annexe 3]. Quant à la France, près de 125 000 patients ont développé une infection à bactéries résistantes en 2015 pour un taux de mortalité de 4,4% (92).

Les six principales bactéries responsables de plus de 73% des décès imputés et associés au phénomène d'antibiorésistance en 2019 dans le monde étaient les suivantes : *E.coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *A. baumannii* et *P. aeruginosa* (91) [Figure 13].

⁷ Ce rapport a été commandé en juillet 2014 par le Premier Ministre britannique à l'économiste Jim O'Neill pour analyser le problème de la résistance croissante aux antibiotiques et pour proposer des actions concrètes à mettre en place au niveau international.

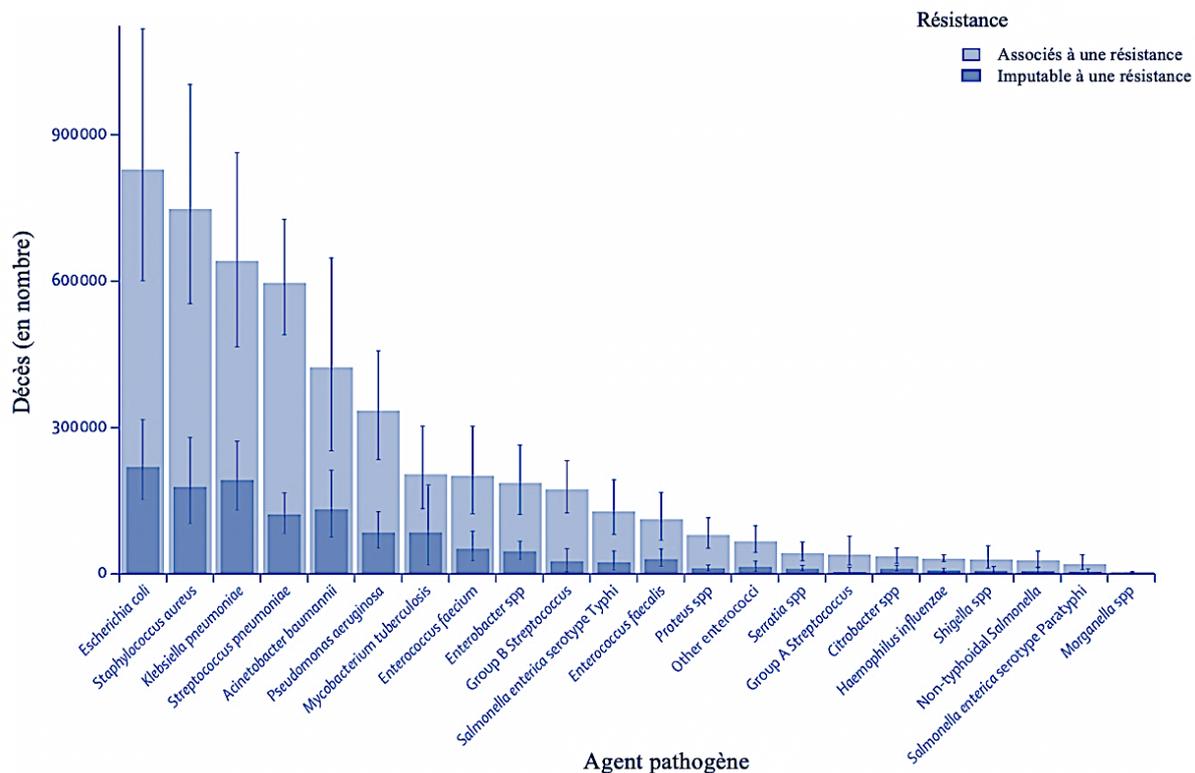


Figure 13 – Bactéries à l’origine des décès imputés et associés au phénomène d’antibiorésistance dans le monde en 2019 (91)

Ces bactéries sont à l’origine d’infections bactériennes courantes comme les infections urinaires, le sepsis ou certaines formes de diarrhée (93). En 2017, l’OMS a publié une liste de bactéries décrites comme « pathogènes prioritaires » menaçant la santé humaine pour promouvoir la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques (94) [Tableau 3]. Ces bactéries multirésistantes sont recensées principalement à l’hôpital, dans les établissements accueillant des personnes âgées ou chez des patients ayant des dispositifs médicaux invasifs comme des cathéters sanguins.

Tableau 3 – Liste de l’OMS des bactéries présentant une menace pour la santé humaine

Priorité 1 : CRITIQUE	
<i>A. baumannii</i>	Résistance aux carbapénèmes
<i>P. aeruginosa</i>	Résistance aux carbapénèmes
Entérobactéries : <i>E. coli</i> et <i>K. pneumoniae</i>	Résistance aux carbapénèmes, production de BLSE
Priorité 2 : ÉLEVÉE	
<i>E. faecium</i>	Résistance à la vancomycine
<i>S. aureus</i>	Résistance à la méthicilline, vancomycine
<i>H. pylori</i>	Résistance à la clarithromycine
<i>Campylobacter spp.</i>	Résistance aux fluoroquinolones
<i>Salmonellae</i>	Résistance aux fluoroquinolones
<i>N. gonorrhoeae</i>	Résistances aux céphalosporines et fluoroquinolones
Priorité 3 : MOYENNE	
<i>S. pneumoniae</i>	Insensible à la pénicilline
<i>H. influenzae</i>	Résistance à l’ampicilline
<i>Shigella spp.</i>	Résistance aux fluoroquinolones

La dernière enquête réalisée par le système mondial de surveillance aux antimicrobiens (GLASS)⁸ affirme qu’une personne atteinte d’une infection par *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM) aurait 64% plus de risque de décéder qu’une personne infectée par *S. aureus* non résistant (93).

La tuberculose, maladie infectieuse que l’on pensait contrôlée depuis de nombreuses années, fait l’objet de nos jours d’une vigilance particulière compte tenu de la multiplication de souches bactériennes *M. tuberculosis* multirésistantes. En 2018, l’OMS a estimé que 3,4% des nouveaux cas de tuberculose, soit près de 500 000 personnes par an dans le monde, étaient résistants à la rifampicine (tuberculose-RR) dont la majorité étaient des cas de tuberculose multirésistante (tuberculose-MR). Chez les patients ayant déjà reçu un traitement pour cette maladie, ce taux de résistance était de l’ordre de 18%. De plus, seulement 59% des cas de tuberculose-RR/tuberculose-MR seraient traités avec succès pour cause de protocoles thérapeutiques plus longs, coûteux et moins efficaces (95).

⁸ Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System, organisation mondiale créée en 2015 par l’OMS.

Les résultats de plusieurs enquêtes (92), (93) permettent de comparer les taux de résistance des trois principales bactéries à l'origine de décès dans le monde, en Europe et en France [Tableau 4].

Tableau 4 - Taux de résistance des trois principales bactéries à l'origine d'un fort taux de mortalité dans le monde, en Europe et en France, adapté de (92), (93)

	Monde (pays du système GLASS) - 2019	Europe - 2020 (2016)	France - 2020 (2016)
<i>E. coli</i> résistant aux C3G	36%	14,9% (15,7%)	9,5% (11,2%)
<i>K. pneumoniae</i> résistant aux C3G	NC	33,9% (34,7%)	27,8% (28,9%)
SARM	12,11%	16,7% (19,3%)	12,1% (NC)

Les taux de résistance sont toujours trop élevés mais il faut noter qu'ils tendent à diminuer en Europe et en France entre 2016 et 2020. Cela est imputable aux différentes mesures prises par les gouvernements pour mieux contrôler l'utilisation des antibiotiques.

Le phénomène d'antibiorésistance engendre un coût humain important mais également un coût économique non négligeable dont les pays ont pris conscience ces dernières années à la suite des résultats de *The Review on Antimicrobial Resistance*. Cette étude a estimé qu'il y aurait **82 trillions de dollars de pertes entre 2015 et 2050**, 100 trillions en incluant le SIDA et la malaria (89), soit une moyenne de 2,9 trillions de dollars de pertes par an. En 2017, une autre étude réalisée par la Banque Mondiale montre des résultats assez similaires, puisqu'il est estimé que les pertes liées à ce phénomène seraient **entre 1 et 6,1 trillions de dollar par an** selon le scénario choisi (96). Ces pertes sont liées au fait que les patients atteints de maladies infectieuses à bactéries résistantes passent plus de temps à l'hôpital, ont besoin de plus de personnel, de médicaments plus onéreux et doivent être isolés des autres patients.

Aux États-Unis, le coût pour traiter un patient atteint d'une infection à SARM serait en moyenne de 35 000 dollars (97). Le *Centers for Disease Control and Prevention*, a estimé en 2019 que 6 des 18 résistances alarmantes coûteraient plus de 4,6 milliards de dollar par an en dépenses de santé au pays (98). En France, une étude publiée en 2020 a démontré que le coût lié aux infections à bactéries résistantes serait de **290 millions d'euros par an** (99).

Face à ces constats alarmants, des actions concrètes ont été proposées par l'économiste Jim O'Neill entre 2014 et 2016. Les différents pays semblent avoir pris conscience du phénomène et ont engagé différentes mesures visant à lutter contre ce fléau mondial.

Mesures gouvernementales et alternatives possibles

3.1. Recommandations du rapport O’Neill (2016)

En 2014, David Cameron, Premier Ministre britannique à l’époque, a commandé un rapport indépendant sur la résistance aux antimicrobiens à l’économiste Jim O’Neill. L’objectif était de chiffrer le phénomène, émettre des recommandations et proposer des solutions concrètes à mettre en place. Le groupe de travail, supervisé par J. O’Neill, a publié huit rapports au cours de l’enquête pour enfin publier en mai 2016 un rapport final « The Review on Antimicrobial Resistance » regroupant l’ensemble de leurs travaux de recherches et leurs recommandations (24).

- Décembre 2014 : “La résistance antimicrobienne : une crise à combattre pour la santé et la richesse des nations”
- Février 2015 : “S’attaquer à une crise sanitaire mondiale : premières étapes”
- Mai 2015 : “Sécuriser les nouveaux médicaments : le pipeline d’antibiotiques”
- Octobre 2015 : “Diagnostic rapide : mettre fin à l’utilisation inutile d’antibiotiques”
- Novembre 2015 : “Sûre, sécurisée et contrôlée : gérer la chaîne d’approvisionnement en antimicrobiens”
- Décembre 2015 : “Les antimicrobiens dans l’agriculture et l’environnement : réduire l’utilisation inutile et les déchets”
- Février 2016 : “Vaccins et approches alternatives : réduire notre dépendance aux antimicrobiens”
- Mars 2016 : “Prévention, contrôle et surveillance des infections : limiter le développement et la propagation de la résistance aux médicaments”

Ce travail a depuis été largement repris et a inspiré de nombreux pays pour mener leur politique de santé sur l’antibiorésistance.

Dix recommandations détaillées ressortent de ces recherches (24) :

1. Diffuser une large campagne de sensibilisation mondiale : au niveau des patients, des médecins, des vétérinaires et des agriculteurs.

Cette campagne aurait pour objectif de changer les comportements au niveau de la population : ne plus réclamer systématiquement des antibiotiques aux médecins, ne plus acheter

d'antibiotiques en vente libre (sans ordonnance) sans véritable besoin mais aussi convaincre d'autres acteurs impliqués comme les agriculteurs de ne plus utiliser ces médicaments de façon inutile.

Une campagne comme celle-ci a été chiffrée et coûterait entre 40 et 100 millions de dollars par an. Le groupe de travail a démontré qu'elle serait rentable sur le long terme en modifiant durablement les comportements. L'objectif est d'obtenir des messages fondamentaux communs à tous les pays avec des thèmes et des symboles reconnaissables et emblématiques. Ils proposent également un système de label sur les boîtes de médicaments pour aider le grand public à repérer les antibiotiques ou sur les aliments, par exemple un label « Utilisation responsable des antibiotiques ».

2. Améliorer l'hygiène, l'assainissement et prévenir la propagation des infections

L'objectif est de réduire l'apparition et la propagation des infections pour pouvoir diminuer l'utilisation d'antibiotiques et par conséquent le développement de résistances aux bactéries. Dans les pays à faibles et moyens revenus, il paraît indispensable d'améliorer les conditions de vie des populations en leur donnant accès à de l'eau potable et à des systèmes d'assainissement durables. Les affections diarrhéiques sont corrélées positivement à ces mauvaises conditions de vie, ce qui en fait la deuxième cause de mortalité chez les enfants. Elles sont par ailleurs traitées très souvent par antibiothérapie alors que la plupart sont d'origine virale, ce qui n'a donc pas l'effet thérapeutique escompté. Au-delà de la mortalité recensée, cette utilisation inutile de ces médicaments accélère le phénomène de résistance.

Un second constat est aussi la diffusion plus rapide des infections dans les établissements de soin. Il paraît indispensable d'instaurer des principes de base pour limiter la propagation d'infections comme le lavage des mains des professionnels de santé entre chaque patient ou le nettoyage efficace des surfaces et des outils. Pourtant d'apparence simple, l'hygiène des mains n'est pas forcément respectée, il est estimé que l'adhésion réelle des soignants pour cette pratique est en moyenne seulement de 40% (100).

3. Réduire l'utilisation inutile d'antimicrobiens dans l'agriculture et leur diffusion dans l'environnement

L'utilisation des antibiotiques dans l'agriculture et l'aquaculture est dans certains cas nécessaire pour soigner les animaux et pour assurer la sécurité des aliments. Cependant, on remarque qu'ils sont souvent donnés, dans certains pays, à but préventif ou pour favoriser la croissance. Une mauvaise utilisation de ces antibiotiques représente un danger réel pour la santé humaine en favorisant le phénomène de résistance.

Trois mesures sont proposées pour améliorer la situation :

- Un objectif de 10 ans dès 2018 pour réduire l'utilisation inutile d'antibiotiques dans l'agriculture avec des jalons pour soutenir les progrès réalisés en compatibilité avec le développement économique des pays.
- Des restrictions et/ou des interdictions de certains antibiotiques considérés comme « hautement critiques ». De nombreux médicaments sont utilisés en agriculture alors qu'ils sont des traitements de dernière ligne en médecine humaine.
- Améliorer la transparence sur les pratiques des producteurs pour permettre aux acheteurs de choisir consciemment.

Pour mettre en place ces mesures, la coopération des organismes internationaux est indispensable pour proposer des bonnes pratiques agricoles, une surveillance et des données récoltées harmonisées, ainsi que l'établissement d'une liste d'antibiotiques considérés critiques pour la santé humaine.

Un autre problème soulevé est celui de la dissémination de ces médicaments dans l'environnement. Elle peut être de trois natures : déchets animaux, humains ou de production. Ces déchets contaminent les sols, les cultures et les sources d'eau en favorisant l'émergence de résistances. Deux mesures peuvent être mises en place :

- Établir des normes minimales visant l'émissions de déchets de production contenant des « ingrédients pharmaceutiques actifs ».
- Encourager l'industrie pharmaceutique à appliquer des normes plus strictes tout au long de ses chaînes d'approvisionnement.

4. Améliorer la surveillance mondiale de la résistance aux médicaments et de la consommation d'antimicrobiens chez l'homme et l'animal

La surveillance est indispensable à la gestion de toute maladie infectieuse et pourrait améliorer la santé des patients à différents niveaux :

- Local : en permettant aux soignants de prendre des décisions cliniques de façon plus éclairée et ainsi mieux soigner les patients
- National : en orientant les politiques de santé pour qu'elles soient adéquates et efficaces
- Mondial : en fournissant des alertes précoces et des données pour identifier le problème et agir sur le long terme.

5. Promouvoir de nouveaux tests diagnostiques rapides pour réduire l'utilisation inutile d'antibiotiques

La très grande majorité des prescriptions médicales d'antimicrobiens est faite en ambulatoire sans utiliser d'outil diagnostique. Ces médicaments sont alors considérés comme gaspillés car ils sont prescrits à des patients pour qui l'infection est d'origine virale, ce qui rend le traitement inutile. Aux États-Unis, une étude a montré que parmi 40 millions de patients traités pour une infection respiratoire, 27 millions ont été traités par antibiotiques alors qu'ils n'en avaient pas besoin (101). Le développement et l'utilisation de tests rapides d'orientation diagnostique (TROD) permettraient de réduire significativement cette consommation massive et inadéquate d'antibiotiques. Pourtant, cette pratique n'est pas utilisée en routine car les médecins estiment qu'elle demanderait plus de temps et coûterait plus cher à mettre en place. Ces derniers favorisent alors l'option de prescrire un antibiotique « juste au cas où cela serait nécessaire », alors qu'à l'échelle du système de santé, l'utilisation de ces tests permettrait de réduire les coûts de santé et le gaspillage de ces médicaments. D'autant plus que cette pratique favorise l'émergence de résistances.

La promotion des tests diagnostiques peut se faire à plusieurs niveaux :

- Inciter les soignants à les utiliser pour poser un diagnostic plus clair, cela pourrait aller jusqu'à les rendre obligatoires pour prescrire des antibiotiques
- Inciter à investir dans la recherche et le développement d'outils diagnostiques innovants
- Inciter financièrement les pays à faible et moyen revenus à les utiliser

6. Promouvoir le développement et l'utilisation des vaccins et de leurs alternatives

L'utilisation des vaccins permettrait de prévenir avant de devoir traiter une maladie infectieuse que ce soit chez les humains ou les animaux, réduisant ainsi les coûts liés à l'antibiothérapie et le phénomène de résistance lié à leur utilisation massive. Il a été estimé que la vaccination antipneumococcique peut réduire de 47% la quantité d'antibiotique utilisée pour traiter les pneumonies causées par *S. pneumoniae* chez les enfants de moins de 5 ans (102).

Des alternatives aux antibiotiques sont aujourd'hui en cours de développement comme la phagothérapie, la stimulation immunitaire, les lysines, les anticorps, les probiotiques ou encore différents inhibiteurs.

7. Améliorer le nombre, la rémunération et la reconnaissance des personnes travaillant dans le domaine des maladies infectieuses.

Les médecins spécialistes des maladies infectieuses, les microbiologistes, les infirmiers et les pharmaciens jouent un rôle déterminant dans le contrôle des maladies infectieuses et sur la limitation de l'usage des antibiotiques. On observe cependant que ces professionnels de santé sont moins nombreux à travailler dans cette aire thérapeutique mais qu'ils sont aussi sous-évalués par rapport à leurs confrères travaillant dans un domaine différent. En effet, les études de recherche académique sur le sujet sont moins souvent citées que les autres, et les revues sur la microbiologie sont considérées comme moins prestigieuses, aucune n'est d'ailleurs présente dans le top 30 des journaux médicaux les plus influents dans le monde. Cela a entraîné un désintérêt progressif des étudiants et des chercheurs pour poursuivre leur carrière dans le domaine des maladies infectieuses. De plus, ils sont également moins bien rémunérés que leurs confrères des autres spécialités [Annexe 4]. Les gouvernements et les systèmes de santé devraient trouver des solutions pour financer et inciter les soignants en première ligne face à l'antibiorésistance.

8. Créer un fonds mondial d'innovation pour la recherche précoce (early-stage) et non-commerciale

L'investissement dans la R&D pour contrer l'antibiorésistance est faible que ce soit via des fonds privés ou des fonds publics. Cependant, on note une amélioration des initiatives depuis quelques années, notamment en Europe avec le programme IMI ND4BB et aux États-Unis avec

les programmes BARDA (Biomedical Advanced Research and Development Authority) pour soutenir les entreprises recherchant de nouveaux antibiotiques.

9. Proposer de meilleures incitations pour promouvoir l'investissement dans la recherche et le développement de nouveaux médicaments ainsi que l'amélioration des médicaments existants

Les raisons pour lesquelles les laboratoires pharmaceutiques ont délaissé les antibiotiques sont nombreuses et détaillées dans le 1.3. de cette thèse. Une des solutions possibles pour inciter les laboratoires à rechercher et développer de nouveaux antibiotiques ou alternatives serait d'instaurer une récompense à l'entrée sur le marché. Sur le modèle de l'AMC (Advance Market Commitment) instauré en 2009 pour le vaccin anti-pneumococcique (103), ce système permettrait de rendre ces médicaments plus rapidement rentables en offrant entre 800 millions et 1,3 milliard de dollars au laboratoire recevant une AMM répondant à un « besoin non satisfait ». En d'autres termes, ce système récompenserait les laboratoires qui auraient commercialisé des médicaments luttant contre des infections pour lesquelles le besoin clinique est important à cause du phénomène d'antibiorésistance. Cette liste de « besoins non satisfaits » serait définie en avance par les gouvernements et institutions.

10. Créer une coalition mondiale pour une action concrète

La création d'une entité mondiale pour lutter contre le phénomène d'antibiorésistance semble indispensable pour harmoniser les pratiques et avoir une véritable action. Les priorités de cette coalition pourraient répondre à certaines questions fondamentales dans la lutte contre les maladies infectieuses :

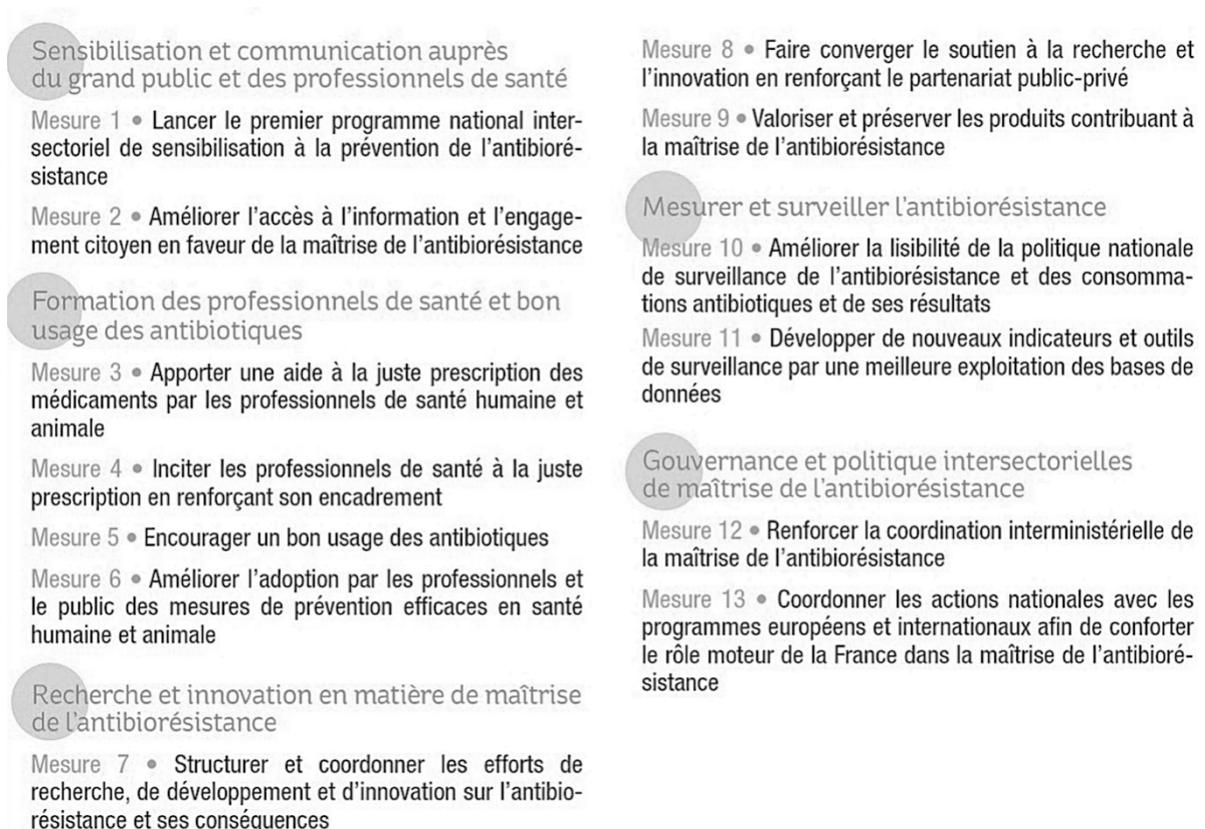
- Quels sont les pathogènes les plus préoccupants pour lesquels nous avons besoin de nouveaux médicaments, vaccins ou outils diagnostiques en médecine humaine ?
- Idem en médecine vétérinaire
- Quelles sont les bonnes pratiques et normes à mettre en place pour partager en toute sécurité les données de surveillance à l'échelle mondiale ?

L'OMS semble être l'entité s'étant chargée de ces questions ces dernières années.

Les coûts liés à ces dix recommandations seraient estimés à 40 milliards de dollars entre 2016 et 2026. Une telle coalition devrait permettre un financement mondial pour lutter efficacement contre ce fléau.

3.2. Mesures gouvernementales prises en France, en Europe et dans le Monde

En France, une politique est menée depuis les années 2000, pour maîtriser l'antibiorésistance avec des plans stratégiques entre 2000-2005, 2007-2010 puis 2011-2016. En novembre 2016, pour donner suite aux recommandations de l'OMS en 2015, un programme interministériel a été lancé pour mieux sensibiliser le public, mieux utiliser ces médicaments, soutenir la recherche et l'innovation dans cette aire thérapeutique mais également renforcer la surveillance en France. Treize mesures ont été proposées par le groupe de travail et constituent la « feuille de route » suivie pour les stratégies menées par le gouvernement (104) [Figure 14].



Début 2022, le Ministère des Solidarités et de la Santé a présenté sa « **Stratégie nationale 2022-2025 de Prévention des Infections et de l'Antibiorésistance** » composée de 42 actions à mettre en place pour répondre à 3 objectifs [Annexe 5], (67) :

- « Prévenir les infections courantes, comme les bronchites, les gastro-entérites, grâce à des gestes du quotidien et à la vaccination »
- « Réduire le risque d'infections associées aux soins, notamment les infections nosocomiales ». Cette nouvelle stratégie est dans la continuité du Programme de prévention des infections associées aux soins instauré en 2015 (PROPIAS).

- « Préserver l'efficacité des antibiotiques, pour que nous puissions continuer à guérir des infections bactériennes [...] comme les infections urinaires ».



Figure 14 : Logo et slogan de la campagne de sensibilisation « Ils sont précieux, utilisons-les mieux » lancée en 2018 par le gouvernement français.

Cette stratégie s'inscrit comme le « volet opérationnel en santé humaine » des 13 mesures proposées en 2016 (104). Pour aider à lutter contre les infections nosocomiales, cinq missions ont été créées en 2018 par un Comité Expert « Missions Nationales Infections Associées aux Soins » (CNMIAS) pour couvrir la période 2018-2023. Parmi celles-ci deux missions ont pour objectif de récolter des données sur la consommation d'antibiotiques et les bactéries résistantes en établissements de santé :

- Mission PRIMO, associée au Centre d'appui pour la prévention des infections associées aux soins (CPias) Grand Est.
- Mission SPARES, associée au CPias Nouvelle-Aquitaine

Les mesures et actions mises en place en médecine vétérinaire font partie du **plan Ecoantibio 2** (2017-2022), et visent à réduire les risques d'antibiorésistance (105). Ce plan répond aux recommandations internationales de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE), de l'OMS et de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO). Quatre axes le composent :

- Développer les mesures de prévention des maladies infectieuses et faciliter le recours aux traitements.
- Communiquer et former les différents acteurs sur les enjeux de la lutte contre l'antibiorésistance, sur la prescription raisonnée des antibiotiques et sur les alternatives existantes.
- Mettre à disposition des outils d'évaluation et de suivi du recours aux antibiotiques
- S'assurer de la bonne application des règles de bon usage au niveau national, et favoriser leur adoption aux niveaux européen et international.

Enfin, une **interface nationale**, coordonnée par l'INSERM, a été créée pour promouvoir la recherche et l'innovation de nouveaux antibiotiques ou d'alternatives thérapeutiques. Cette plateforme permet de répertorier les projets de recherche français publics ou privés luttant contre l'antibiorésistance. Le réseau créé permet aux différents acteurs de collaborer ou simplement de s'informer du développement de médicaments au niveau national (106).

Au niveau européen et international, la lutte contre les résistances antimicrobiennes est considérée comme l'une des grandes priorités mondiales en matière de santé publique depuis plusieurs années. L'OMS a publié un rapport en 2014 faisant un état des lieux préoccupant du phénomène, ce qui a conduit à la publication en mai 2015 d'un plan d'action mondial en collaboration avec FAO et OIE dans une démarche collaborative « une seule santé⁹ » (107), (108). Celui-ci est composé de recommandations pour élaborer des « plans nationaux intersectoriels » de maîtrise du phénomène pour répondre à cinq objectifs (107) :

- « Mieux faire connaître et comprendre le phénomène de résistance aux antimicrobiens grâce à une communication, une éducation et une formation efficaces »
- « Renforcer les connaissances et les bases factuelles par la surveillance et la recherche »
- « Réduire l'incidence des infections par des mesures efficaces d'assainissement, d'hygiène et de prévention des infections »
- « Optimiser l'usage des médicaments antimicrobiens en santé humaine et animale »
- « Dégager les arguments économiques en faveur d'investissements durables qui tiennent compte des besoins de tous les pays et accroître les investissements dans la mise au point de nouveaux médicaments, outils diagnostiques, vaccins et autres interventions »

Un système mondial de surveillance (GLASS) est également lancé la même année par l'OMS et compte aujourd'hui plus de 109 pays et territoires participants (109). L'objectif est de surveiller la résistance aux antimicrobiens, leur utilisation et leur consommation en utilisant des indicateurs précis comme la résistance aux C3G d'*E. coli* ou MRSA (109). Plusieurs rapports ont été rendu publics depuis son entrée en vigueur, dont le dernier date de 2021. Celui-ci a pour objectif d'expliquer les différentes méthodologies à mettre en pratique pour obtenir des résultats fiables et harmonisés permettant de comparer les différents pays entre eux (109). Les dernières données recueillies datent de 2019 et ont été publiées dans un rapport en 2020.

⁹ « One Health ». Cette démarche résume l'idée selon laquelle la santé des animaux, des humains et des écosystèmes sont interconnectées et interdépendantes.

Le G7 et le G20 sont également l'occasion de rappeler aux différents pays les engagements à prendre pour lutter efficacement contre l'antibiorésistance mais aussi de lancer des initiatives de collaboration R&D comme le « Global AMR R&D hub »¹⁰ lancé en 2018 et coordonné par l'Allemagne (110).

A l'échelle européenne, la Commission Européenne a publié en 2017 un plan d'action en trois axes (110) : « Faire de l'UE une région de pratiques d'excellence », « Encourager la recherche, le développement et l'innovation en matière de résistance aux antimicrobiens » et « Donner corps aux objectifs mondiaux ».

Celle-ci propose des objectifs à atteindre et met en place un réseau européen intersectoriel « One Health Network » pour coordonner les politiques de santé entre États membres (110). Un programme a également été lancé « Joint Programming Initiative on Antimicrobial Resistance » (JPI-AMR) pour soutenir la recherche et mettre en relation les chercheurs de différents pays (111). A ce jour, le programme a aidé plus de 1300 chercheurs, ce qui représente une centaine de projets ayant reçu plus de 125 millions d'euros (111).

Concernant l'usage vétérinaire des antibiotiques, des seuils réglementaires ont été fixés par l'EMA et sont entrés en vigueur dès 2017. En 2019, l'EMA a émis des recommandations à la Commission Européenne sur l'utilisation d'antimicrobiens devant être exclusivement réservés à l'homme pour limiter les phénomènes de résistance (112). Si un médicament antimicrobien répond à ces trois critères, il devrait être réservé uniquement à la médecine humaine (112) :

- A : l'antimicrobien est très important en santé humaine car il permet de traiter des infections graves pouvant mettre la vie du patient en danger lorsque peu ou pas d'alternatives thérapeutiques sont disponibles
- B : il y a un risque de transmission de la résistance à l'antimicrobien des animaux aux humains
- C : l'antimicrobien n'est pas essentiel à la santé animale, celui-ci n'aurait pas d'impact significatif s'il était réservé uniquement aux humains.

Le rapport a dénombré plus d'une trentaine de médicaments qui devraient être utilisés uniquement en médecine humaine (112).

Il est indéniable que la lutte contre l'antibiorésistance se fera à plusieurs niveaux et si l'ensemble des pays met en place des mesures efficaces au sein d'une politique commune.

¹⁰ Ce programme est un partenariat entre pays, organisations non gouvernementales et gouvernements pour améliorer la coordination et la collaboration dans la R&D mondiale dans le cadre de l'antibiorésistance.

3.3. Alternatives à l'antibiothérapie

En parallèle des mesures gouvernementales pouvant être mises en place pour maîtriser l'usage des antibiotiques et freiner les phénomènes de résistance, il semble aujourd'hui nécessaire de développer des alternatives thérapeutiques efficaces. Face aux impasses thérapeutiques causées par des bactéries multirésistantes, nous parlons désormais d'ère « post-antibiotiques ». Nous ne pourrions certainement pas nous passer totalement de l'utilisation des antibiotiques traditionnels. Mais des alternatives thérapeutiques ou des traitements complémentaires nous aideront à lutter efficacement contre les maladies infectieuses.

Parmi les moyens dont nous disposons aujourd'hui, la **vaccination** est celui permettant la prévention de ces maladies avant de devoir les traiter. Cette pratique devrait être entretenue dans les pays développés pour limiter l'utilisation d'antibiotiques mais également être rendue plus accessible dans les pays à faible revenu souffrant plus largement de ces maladies. Dans les pays à revenu élevé, parmi les dix principales causes de mortalité, une seule est liée à une maladie transmissible : les infections des voies respiratoires basses, les autres causes étant des maladies non transmissibles comme la maladie d'Alzheimer, les AVC ou les cancers (113). En revanche dans les pays à faible revenu, parmi les dix principales causes de mortalité, six sont dues à des maladies transmissibles (113). Il s'agit des affections néonatales, des infections des voies respiratoires basses, des maladies diarrhéiques, du paludisme, de la tuberculose et du sida (113). En addition des mesures à prendre pour aider ces pays à l'amélioration des conditions de vie et d'hygiène de leur population, la vaccination est sans doute une option à privilégier pour prévenir ces maladies infectieuses et pour diminuer le taux de mortalité associé.

On dénombre aujourd'hui une vingtaine d'alternatives thérapeutiques ou de traitements complémentaires à l'antibiothérapie potentiellement existants ou en cours de R&D (114).

Depuis 2016, un inhibiteur de bêta-lactamases est utilisé comme adjuvant des antibiotiques, il s'agit de l'avibactam (115). Plusieurs autres inhibiteurs de la même famille sont en cours de développement clinique (115).

Les approches semblant susciter le plus d'intérêt ces dernières années sont les suivantes (sans ordre d'importance) :

- **L'inactivation de l'agent pathogène par des anticorps monoclonaux.** Cette approche pourrait avoir un impact clinique majeur car elle repose sur une technique utilisée depuis longtemps donc peu risquée. Elle serait efficace dans les infections par bactéries Gram+ ou Gram- (114). Plusieurs anticorps monoclonaux sont déjà commercialisés et utilisés en virologie notamment contre le virus respiratoire syncytial (VRS), le VIH ou le virus de la rage mais également en bactériologie contre *C. difficile* ou contre *E. coli* dans le cadre de syndrome hémolytique et urémique atypique (116). Fin 2018, on recensait plus de 300 études cliniques en phase 2 ou 3 utilisant cette technique comme anti-infectieux, principalement contre le VIH, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ou encore le virus de la grippe (116).
- **L'utilisation de peptides antimicrobiens** synthétiques ciblant la membrane bactérienne ou ciblant les mécanismes de synthèse de la paroi cellulaire ou de synthèse de protéines (114). Certains comme la Polymyxine B et la colistine sont déjà sur le marché et sont utilisés lors d'infections résistantes et complexes (117). Les peptides antimicrobiens sont généralement administrés par voie inhalée ou topique et peuvent présenter une toxicité importante, ce qui représente le principal frein lors de leur développement (117). On dénombre plusieurs molécules en développement clinique mais des échecs en phase 3 sont recensés comme pour le murepavadin développé par Polyphor dans la pneumonie ou encore le pexiganan développé par Dipexium Pharmaceuticals dans l'ulcère du pied diabétique (117).
- **L'utilisation de peptides ciblant les biofilms.** Ces molécules sont encore en stade précoce de développement mais se montrent prometteuses pour diminuer la virulence bactérienne en complément d'un traitement antibiotique (114). Un exemple en cours de recherche en France est celui du « C-type natriuretic peptide » (CNP), produit naturellement dans les poumons. Les premiers résultats ont démontré qu'il aurait la capacité d'inhiber fortement la formation de biofilms par *P. aeruginosa*, de l'ordre de 80% (118).

- **L'utilisation de probiotiques** pour prévenir ou traiter les infections diarrhéiques liées à *C. difficile* (114). Les probiotiques sont des microorganismes vivants non pathogènes ayant un effet bénéfique sur la santé en rééquilibrant le microbiote (119). La principale cause de diarrhée à l'hôpital, dont l'incidence augmente chaque année dans les pays occidentaux, est liée à une infection à *C. difficile* (119). Cette infection est favorisée par une perturbation du microbiote intestinal (dysbiose) pouvant être due à l'âge, à des maladies chroniques ou pouvant être induite par une prise de médicaments comme les antibiotiques (119). Les études sur l'utilisation de probiotiques dans ce type d'infection ne sont actuellement pas unanimes sur l'efficacité, d'autres recherches doivent être menées pour démontrer des effets bénéfiques chez les humains (119).
- **Le transfert de microbiote** par greffe fécale. L'objectif est d'introduire des microorganismes stables pour rééquilibrer le microbiote et limiter les rechutes de diarrhées à *C. difficile* (120). Les résultats dans cette indication seraient très satisfaisants montrant une efficacité supérieure à celle des antibiotiques, ce qui permettrait de réduire la mortalité liée à cette bactérie (120).
- **Le repositionnement de médicaments non-antibiotiques** comme compléments aux antibiotiques pour lutter contre l'antibiorésistance. D'après une quinzaine d'études, les statines, indiquées normalement dans l'hypercholestérolémie, pourraient agir en synergie avec les antibiotiques et stimuler le système immunitaire (121). La statine étudiée la plus prometteuse serait la simvastatine (121). Cependant, ces médicaments pourraient également avoir l'effet contraire en favorisant le développement de souches résistantes (121). On comprend que d'autres recherches sont nécessaires sur le sujet pour mieux comprendre les mécanismes d'action concernés. Un autre exemple étudié ces dernières années est celui du diclofénac, anti-inflammatoire non stéroïdien, qui pourrait également aider à lutter contre l'antibiorésistance et notamment dans les infections à *S. aureus* résistant à la méthicilline (MRSA). Une étude publiée en 2021 (122), a montré que des doses élevées de diclofénac pouvaient inhiber la croissance de MRSA dans les infections liées aux implants médicaux. La même étude indique qu'une administration à faible dose du médicament sensibiliserait de nouveau des bactéries aux bêta-lactamines alors qu'elles y étaient résistantes, améliorant ainsi l'efficacité des antibiotiques (122). De plus, l'utilisation de diclofénac à faible dose combiné à une bêta-

lactamine permettrait d'inhiber la formation de biofilms par MRSA au niveau des implants (122).

- **L'utilisation d'inhibiteurs du quorum sensing (QS)**, c'est-à-dire du système de communication entre bactéries utilisé pour coordonner leur comportement via des mécanismes de régulation génétiques (123). Lorsque la densité de bactéries est élevée, cela déclenche des signaux qui peuvent avoir un impact sur la virulence et activer les mécanismes de résistance comme les pompes à efflux ou les biofilms (123). L'approche utilisée pour inhiber ce phénomène est appelée « quorum quenching ». On utilise généralement des enzymes ou des molécules chimiques agissant sur la molécule-signal du QS, soit en inhibant sa production, soit en la dégradant, soit en inhibant son transport ou sa liaison aux récepteurs cibles (123). Les recherches, bien qu'existantes depuis les années 90, doivent être soutenues car cette approche pourrait être un outil supplémentaire dans la lutte contre l'antibiorésistance (123).
- **L'utilisation d'inhibiteurs de pompes à efflux (IPE)** chez les bactéries Gram- pour empêcher l'expulsion de l'antibiotique en dehors de la cellule. La production excessive de pompes à efflux contribue à la multirésistance de certaines bactéries (81). L'utilisation d'IPE permettrait de retrouver le niveau de sensibilité naturelle des bactéries mais leur toxicité fait qu'ils ne sont actuellement pas au point pour une utilisation chez les patients, d'autres études sont nécessaires (81).
- **L'utilisation de plantes ou d'huiles essentielles** pour rendre les antibiotiques plus efficaces. En 2017, l'office européen des brevets a décerné le prix de l'Inventeur à un chercheur marocain, Adnane Remmal, pour ses travaux sur des principes actifs provenant d'huiles essentielles et facilitant de façon naturelle les traitements antibiotiques (124). Ce chercheur a également développé des compléments alimentaires à base de plantes pour remplacer l'usage d'antibiotiques dans les élevages (124).
- **L'utilisation de bactéries prédatrices obligatoires d'autres bactéries** ou l'approche par cannibalisme bactérien. Certaines bactéries comme les Bdellovibrio et les organismes apparentés (BALO), ont besoin de bactéries Gram- pour compléter leur cycle cellulaire (125). Ces bactéries sont ubiquitaires et joueraient un rôle dans l'équilibre des eaux, notamment des lacs (125). Cependant, la majorité des BALO ne

sont aujourd'hui pas cultivables, les études sur cette approche devraient être multipliées pour mieux comprendre les interactions complexes entre prédateurs et proies et ainsi trouver des applications concrètes en médecine ou dans d'autres domaines (125).

- **L'utilisation de virus prédateurs naturels des bactéries**, appelés bactériophages. Cette technique, existant depuis une centaine d'années et utilisée par des pays d'Europe de l'Est, semble être un candidat de choix pour devenir une alternative ou un traitement complémentaire fiable à l'antibiothérapie (126). Nous observons un attrait particulier ces dernières années pour les sociétés de biotechnologies spécialisées dans la phagothérapie. On dénombre plus d'une vingtaine d'études cliniques dans le monde en cours de recrutement pour tester des phages dans différents types d'infections.
- **L'utilisation de lysines** pouvant traiter les infections liées aux bactéries Gram⁺ en détruisant leur paroi. Ces enzymes, dérivées des bactériophages, peuvent être utilisées comme alternatives ou comme compléments aux antibiotiques car elles réduiraient la charge bactérienne et fragiliseraient les biofilms (114). Appelées « enzybiotiques » par contraction du mot enzyme et antibiotiques, on en dénombrait une vingtaine en 2012 faisant l'objet de près de soixante-dix essais cliniques dans le monde (127). Un exemple récent publié dans Nature est celui d'une lysine chimérique montrant des résultats prometteurs *in vitro* et *in vivo* contre *S. aureus* dans sa forme planctonique ou en biofilm (128).
- **Les thérapies géniques à vecteurs bactériens ou viraux** ciblant le génome des bactéries. Après avoir déterminé les gènes de virulence ou de résistance d'une bactérie, il serait possible de cibler spécifiquement le génome pour les inactiver et tuer la bactérie (129), (130). Un exemple français est celui d'Eligo Bioscience développant des « eligobiotiques », vecteurs viraux (bactériophages) contenant une nucléase qui ciblent spécifiquement des gènes bactériens (129). Cette piste thérapeutique pourrait être une alternative ou un complément envisageable dans la lutte contre les maladies infectieuses.

Nous allons nous intéresser dans la seconde partie à l'alternative thérapeutique apportée par ces virus prédateurs, les bactériophages pour mieux comprendre la technique, les applications, les challenges et la place que pourraient avoir ces biotechnologies dans l'arsenal thérapeutique pour lutter efficacement contre les maladies infectieuses.

La phagothérapie

Histoire de la phagothérapie, technologie et domaines d'application

1.1. Histoire de la phagothérapie

La découverte du premier virus à la fin du 19^{ème} siècle est attribuée à deux hommes : Dmitri Ivanovski, biologiste et botaniste russe et Martinus Willem Beijerinck, microbiologiste et botaniste hollandais (131). D. Ivanovski démontra qu'une feuille de tabac malade restait infectieuse malgré sa filtration par une bougie de Chamberland. Cet outil, conçu par Charles Chamberland lors d'une épidémie de fièvre typhoïde en 1884, est un filtre de porcelaine poreuse utilisé pour retenir les microorganismes présents dans l'eau (132). D. Ivanovski a conclu que l'infection était provoquée par une toxine ou une bactérie de très petite taille non retenue par le filtre (131). Ce fut seulement en 1898 que M. W. Beijerinck montra que cet agent pathogène responsable de la mosaïque du tabac était un virus, ses propriétés de solubilité étant différentes de celles des bactéries (131). A la même époque, Ernest Hanbury Hankin, bactériologiste anglais, observa que l'eau prélevée dans le Gange et la Jumna en Inde avait un effet bactéricide sur l'agent pathogène du choléra (53). Il décrivit une « substance » non filtrée par la bougie de Chamberland et qui pouvait être détruite par ébullition (53). Également en 1898, Nikolay Gameleya, médecin microbiologiste russe, mit en évidence un phénomène de lyse du bacille du Charbon attribuable selon lui à des « ferments » (53). Aucun des scientifiques de l'époque n'approfondit les études sur ce phénomène mais ces découvertes montrèrent qu'il existait de nouveaux agents infectieux dont la taille était inférieure à celle des bactéries...

La découverte des bactériophages est liée à deux chercheurs : Frederick Twort, bactériologiste anglais et Félix d'Hérelle, biologiste français (53). En 1915, F. Twort publia dans *The Lancet* ses observations de zones vitreuses (« glassy areas ») dans ses cultures, signe d'un phénomène de destruction bactérienne. Il décrivit un agent « invisible » traversant le filtre de Chamberland qui pourrait être selon lui un virus (« ultra-microscopic virus ») produisant un « ferment », qu'il appela « diastase » (53), (133). Cependant, il ne poursuivit pas ses études sur le sujet et n'en fit aucune application médicale (53). F. d'Hérelle, à la même période mais de façon indépendante, observa également la destruction de bactéries dans ses cultures par des agents qu'il qualifia d'abord de « microbes invisibles ». Contrairement à F. Twort, il approfondit ses recherches, à l'Institut Pasteur à Paris, ce qui lui permit d'isoler ce qu'il appela

des « bactériophages », du grec ancien *bakterion* (petit bâton) et *phagos* (mangeur). Ses études portèrent sur l'action des phages contre des bactéries du genre *Shigella*, *Salmonella* ou encore *E. coli* (53), (134), (135). F. d'Hérelle fut le premier à utiliser ces virus comme thérapie, en 1919 pour traiter des enfants atteints de dysenterie sévère causée par *Shigella* (134). Par la suite, il développa d'autres traitements curatifs, en utilisation topique ou par voie orale, contre les agents pathogènes responsables d'infections cutanées et digestives (134). Il est considéré comme l'inventeur des phages « prêt-à-l'emploi », car il développa à l'époque cinq spécialités de cocktails de phages, qu'il appela « *Bacté-intesti-phage* », « *Bacté-pyo-phage* », « *Bacté-coli-phage* », « *Bacté-rhino-phage* » et « *Bacté-staphy-phage* », en fonction du type d'infection concernée (134). Il les produisit à l'Institut Eliava en Géorgie, cofondé en 1923 avec son élève George Eliava (134), (135) mais aussi dans son laboratoire (Le Laboratoire du Bactériophage) par l'intermédiaire des laboratoires français *Robert & Carrière* qui les commercialisèrent dans les années 1930 (53).

Mais dès 1921, ses travaux de recherche avaient été largement diffusés dans le monde (53). On dénombrait plusieurs essais cliniques sur de multiples infections ainsi que des thèses de médecine sur le sujet dans divers pays (53). F. d'Hérelle insistait auprès des scientifiques car il avait compris à l'époque qu'il fallait utiliser des phages hautement virulents envers les bactéries pour ne pas « courir à l'échec » (53). En effet, les premiers essais effectués à l'étranger n'avaient pas été concluants jusqu'à ce qu'il décrive des protocoles pour isoler et purifier les bactériophages afin de les rendre efficaces (53). En Europe, plusieurs sociétés ont commencé à développer et à commercialiser des produits à base de phages pour traiter diverses infections (53). On peut citer la société allemande *Antipol* avec l'Enterofagos® ou suisse *Saphal* avec la Coliphagine®, l'Instestiphagine®, la Pyophagine® et la Staphagine® disponibles sous différentes formes d'administration (53), (136), (137).

A la fin des années 1920, soutenu par l'université de Yale, F. d'Hérelle s'est rendu aux États-Unis pour y développer sa thérapie et a publié un article en 1931 dans le rapport annuel de l'Académie de Médecine de New-York qui vantait les mérites de l'utilisation des bactériophages pour lutter contre les infections (134).

Dans les années qui ont suivi, la communauté scientifique américaine n'étaient toujours pas complètement convaincue par cette thérapie : on la trouvait peu stable et de mauvaise qualité car on n'arrivait pas toujours à détecter des bactériophages actifs dans les préparations (134). Certains ont donc jugé cette thérapie inefficace alors même que des laboratoires

pharmaceutiques américains comme Eli Lilly, E.R. Squibb et Abbott produisaient et commercialisaient déjà largement des cocktails de phages au cours des années 1930-1940 (134).

En plus des doutes dus à la qualité des produits, la théorie même des phages a longtemps été controversée car elle semblait aller à l'encontre de la théorie de l'immunité soutenue par Jules Bordet, immunologiste et Directeur de l'Institut Pasteur en Belgique (53). Ce dernier avait en effet reçu le prix Nobel de physiologie ou de médecine en 1919 pour ses travaux sur les anticorps et le complément (138). On comprend que la phagothérapie tentant d'expliquer le phénomène d'immunité et de guérison par un « virus invisible », ait pu être perçue comme incompatible avec la théorie des anticorps largement admise à l'époque (53). F. d'Hérelle n'a cessé de défendre sa théorie, tout en dénonçant, comme ses homologues, la qualité des produits commercialisés par les laboratoires pharmaceutiques qui ne respectaient pas des conditions essentielles pour obtenir des bactériophages « bien préparés » et donc efficaces (53). Il expliquait qu'il s'agissait d'une thérapeutique du « tout ou rien », où les phages pas assez virulents n'auraient aucune action sur les bactéries et qu'il fallait impérativement sélectionner des phages hautement virulents (53). En France à la même époque, André Raiga-Clémenceau, élève de F. d'Hérelle, étudiait les infections osseuses et articulaires, et rapportait que la phagothérapie était complexe à utiliser et ne semblait pas efficace dans certaines conditions cliniques (134).

D'autres observaient cependant leur efficacité remarquable lorsque les phages étaient utilisés de façon personnalisée sur les patients. Un exemple datant de 1932 est celui d'un acteur américain atteint d'une péritonite grave qui ne pouvait pas être traitée et produisait des abcès (134). Son médecin, R.N. Smith, fit appel alors au microbiologiste Edwin William Schultz, spécialisé dans la phagothérapie, pour produire des phages ciblant sélectivement les bactéries de son patient après lui avoir envoyé un prélèvement du site d'infection (134). Ces derniers furent directement injectés dans son abdomen et cela le sauva d'une mort certaine. (134) Face à ce succès thérapeutique, R.N. Smith utilisa cette thérapie personnalisée avec des phages sur différents patients atteints d'infections similaires (134). Cette pratique de sélection de phages « sur-mesure » représentait sans nul doute les premiers pas du futur « phagogramme ».

On comprend néanmoins que les résultats thérapeutiques de la phagothérapie aient été finalement controversés... Face aux polémiques, l'Agence du Médicament américaine de l'époque a même demandé à des scientifiques d'analyser les travaux publiés (53). Découlant de ces recherches, deux articles furent alors publiés dans le journal prestigieux JAMA en 1934

et en 1941 appuyant la thèse selon laquelle l'efficacité des phages n'était pas forcément démontrée et allant jusqu'à dire qu'ils pouvaient même s'avérer dangereux en favorisant l'apparition de facteurs de virulence chez les bactéries (139), (140). En réalité, la nature virale des bactériophages n'était toujours pas démontrée à cette époque et les scientifiques penchaient alors pour la théorie d'une réaction chimique (53).

Ce n'est qu'à partir de 1939 que la biologie des bactériophages a été mieux appréhendée grâce aux travaux de Max Delbrück, biophysicien allemand et d'Emory L. Ellis, biochimiste américain. Par la suite, leur collaboration avec Salvador Luria, microbiologiste italo-américain et Alfred D. Hershey, microbiologiste et généticien américain, a fait l'objet de nombreuses études sur les bactériophages permettant de poser les bases de la biologie moléculaire¹¹ (135). Ce n'est qu'en 1941, que le premier bactériophage fut observé et photographié au microscope électronique par l'ingénieur et chercheur allemand Helmut Ruska qui avait inventé cet appareil en 1933 (53), (135), (141). On a démontré alors que ces « microbes invisibles » étaient en réalité des virus d'une taille de l'ordre du nanomètre (134). Quelques décennies plus tard, les travaux de M. Delbrück, A. Hershey et S. Luria furent récompensés par l'attribution du prix Nobel de physiologie ou médecine pour leur découverte du « mécanisme de réplication et la structure génétique des virus » (142). Par la suite, de nombreux chercheurs ont continué à développer la biologie moléculaire en s'appuyant sur les différentes découvertes sur les bactériophages (135).

Après la Seconde Guerre mondiale, la diffusion massive de la Pénicilline et des autres antibiotiques a freiné de façon importante la phagothérapie (53), (134). L'antibiothérapie était indéniablement plus simple d'utilisation car stable chimiquement et à large spectre d'activité sur la majorité des bactéries, ce qui a rendu ces médicaments particulièrement efficaces contre de nombreuses maladies infectieuses (134). Cela a permis de les produire rapidement et en très grande quantité... Ainsi la phagothérapie controversée fut progressivement abandonnée.

On note néanmoins que certains médecins français convaincus par cette thérapie, résistèrent et continuèrent à l'utiliser jusque dans les années 1990 (134). A Lyon, ils se servaient de banques de bactériophages sélectionnés par phagogramme qu'ils « entraînaient » pour les rendre plus efficaces en améliorant leur virulence envers les bactéries ciblées et en leur permettant de se multiplier plus facilement (134). Plusieurs patients furent traités par cette

¹¹ « La biologie moléculaire est une discipline consacrée à l'étude des molécules porteuses du message héréditaire (ADN, ARN), de leur structure, synthèse, altérations (mutations). » (266)

thérapie, on en dénombre 65 en 1976, traités pour des infections causées par *P. aeruginosa*, *S. aureus* ou une entérobactérie (134). Malheureusement, la banque de phages créée et hébergée à l'Institut Pasteur à Lyon fut perdue à la suite de la fermeture du centre pour cause de difficultés financières dans les années 1990 (134), (143). On peut donc dire qu'après l'arrivée des antibiotiques, la phagothérapie ne sera utilisée seulement que de façon sporadique en France et dans les pays du bloc occidental.

En revanche, dans le bloc de l'Est, la thérapie phagique a continué à se développer jusqu'à être considérée comme un traitement traditionnel en Géorgie, en Pologne et en URSS, désormais Russie. Pendant la Seconde Guerre mondiale, les troupes russes auraient eu largement accès aux bactériophages en particulier lors de la bataille de Stalingrad (134), (144). Durant la guerre froide, les échanges scientifiques entre les pays occidentaux et les pays d'Europe de l'Est ont été restreints, ce qui a obligé les soviétiques, n'ayant pas accès facilement aux antibiotiques, à effectuer des recherches et à développer la phagothérapie pour lutter contre les maladies infectieuses (53), (134). La Géorgie et la Russie furent d'ailleurs les principaux pays producteurs de phages pour traiter des patients occidentaux [Figure 15].



Figure 15 : Cocktails de phages produits par des pays d'Europe de l'Est. A : Produits russes provenant de la société Microgen / B : Produits géorgiens provenant de l'Institut Eliava.

1.2. Technologie

Les bactériophages, appelés également phages, sont des virus parasites obligatoires des bactéries (53), (141). En effet, ils ont besoin d'une bactérie pour se reproduire, celle-ci est alors appelée bactérie-hôte. Ils sont spécifiques d'une espèce bactérienne et peuvent s'attaquer à plusieurs souches d'une même espèce. Les phages font partie des microorganismes les plus abondants sur Terre (10^{30} à 10^{32}), on les retrouve dans tous les milieux où les bactéries sont présentes, soit dans tous les biotopes (141), (145) [Tableau 5]. Ils participent à l'équilibre des écosystèmes en inhibant le développement exponentiel des bactéries (141), (145). On estime que 50% de la mortalité des bactéries dans certains environnements serait due à des phages (53), (126), (141).

Tableau 5 : Principaux lieux où des phages ont été mis en évidence, adapté de (145)

Nature	Sol Eaux douces, Océans, Environnements extrêmes (glace, bancs d'algues, zones hypersalines...)
Lieux « artificiels »	Hôpitaux, établissements de santé Stations de traitement des eaux usées Autres lieux créés par l'Homme
Êtres-vivants	Tube digestif Vagin Voies respiratoires et buccales Peau, épithélium des muqueuses

Les eaux usées des hôpitaux constitueraient un réservoir très intéressant de phages ciblant spécifiquement des bactéries résistantes et multirésistantes aux antibiotiques (145).

On distingue deux grands types de phages (53), (126), (135), (141) [Figure 16] :

- Les **phages dits « lytiques »** ou « **virulents** » : ils se reproduisent à l'intérieur d'une bactérie-hôte par réplication pour ensuite faire éclater la cellule bactérienne et ainsi libérer de nouveaux phages. Ce cycle de reproduction est appelé « cycle lytique » et seulement ce type de bactériophages est utilisé dans la phagothérapie.

- Les **phages dits « lysogènes »** ou « **tempérés** » : ils ont la capacité d'intégrer leur génome dans le chromosome bactérien et ainsi apporter de nouvelles propriétés à la bactérie, pour améliorer sa virulence ou son adaptation à l'environnement. On appelle ce phénomène « transduction », les gènes viraux « prophages » et le cycle « lysogénique » ou « lysogène ». En se multipliant, la bactérie transmet alors les gènes viraux à sa descendance. Ces derniers peuvent également rester quiescents dans le cytoplasme de la bactérie sans s'intégrer au chromosome. Les prophages peuvent par la suite « se réveiller » sous l'influence de certains stimuli (lumière UV, autres...) et entamer un cycle lytique pour se reproduire. Ces phages ne sont pas utilisés à des fins thérapeutiques mais sont utiles en biologie moléculaire comme vecteurs de gènes.

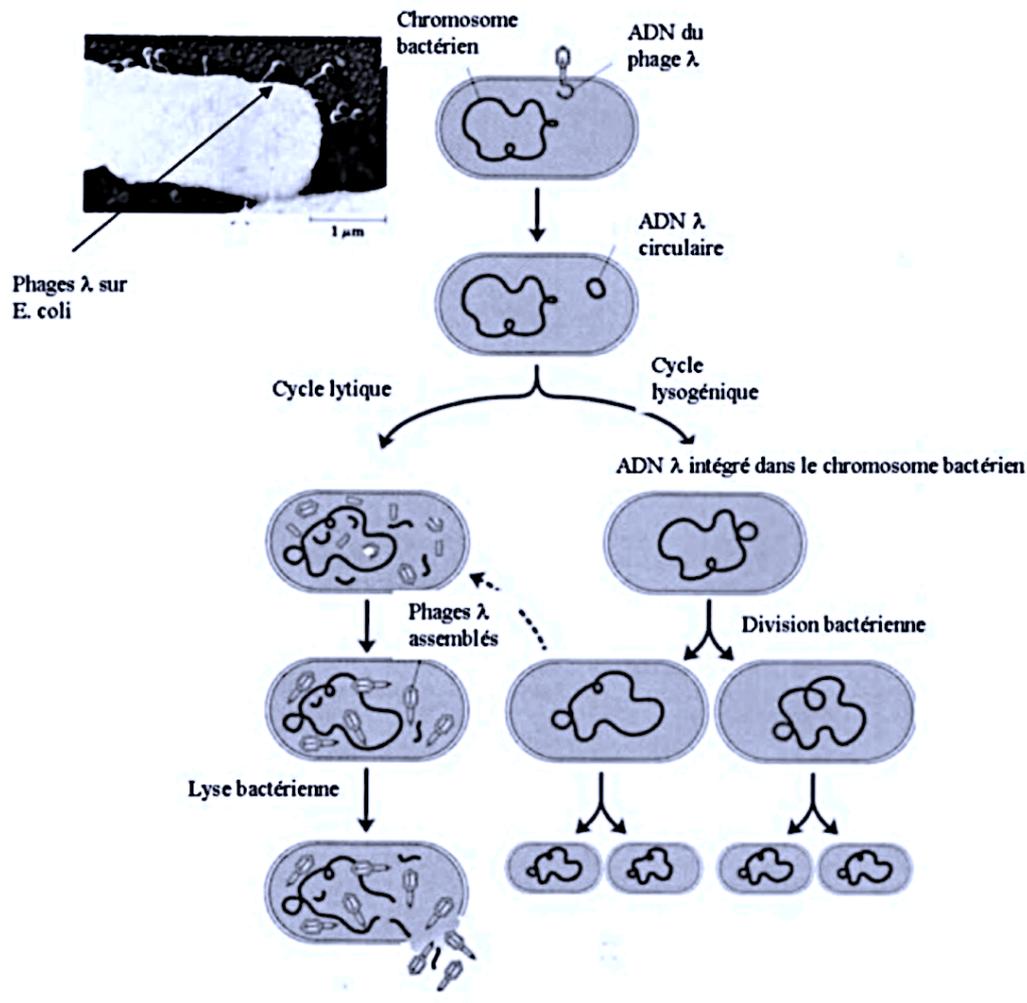
Lors de la préparation d'une thérapie par les phages, on doit s'assurer de la non-présence de phages lysogènes car ces derniers pourraient transmettre des gènes nocifs pour le patient (126). A l'image des bactéries, les phages pourraient également communiquer entre eux via le quorum sensing, signalant alors la meilleure voie à prendre pour effectuer son cycle de reproduction (146).

Un autre type de phages a été découvert en 1985, il s'agit des **phages filamenteux** (*Leviviridae*) (147). Ces derniers vont avoir un comportement parasitaire sans donner la mort de la bactérie qu'ils occupent. Lors de la reconnaissance de la bactérie par le phage, les éléments protéiques de la capsid s'insèrent dans la membrane cytoplasmique bactérienne par un mécanisme encore peu connu (147). Le matériel génétique viral est introduit dans le cytoplasme et sa réplication permet la synthèse de protéines structurales s'insérant également dans la membrane de l'hôte (147). De nouveaux phages sont créés et sécrétés dans le milieu extérieur selon un processus continu. Ce phénomène de présentation phagique est appelé « phage display » (53), (147). On l'utilise dans les laboratoires pour présenter des peptides aléatoires à la surface des bactériophages (53), (135), (147).

Lorsqu'on parle de « **cocktail de phages** », il s'agit d'une association de plusieurs phages virulents. Comme mentionné précédemment, les phages ont pour caractéristique d'avoir une spécificité d'hôte étroite. Par exemple, un phage ciblant *E. coli* ne ciblera pas *S. aureus* et il est également possible qu'il ne cible pas forcément toutes les souches d'*E. coli* (148). L'approche par cocktail de phages peut donc permettre d'élargir le spectre d'activité par addition de différents phages (148). Cette approche est également intéressante pour limiter le phénomène

de résistance des bactéries aux phages¹² : on associe alors plusieurs phages ciblant la même bactérie mais avec des affinités de récepteurs différentes.

Figure 16 : Les deux principaux cycles de reproduction des bactériophages (126)

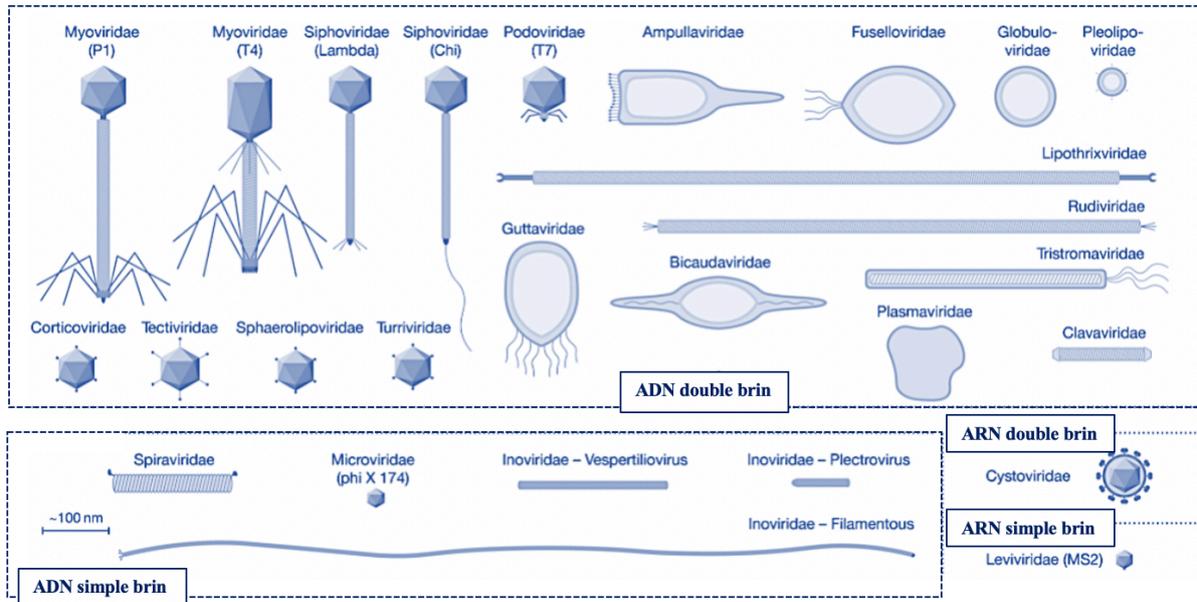


Leur classification s'appuie sur leur morphologie, visible au microscope électronique, mais également sur la nature de l'acide nucléique (ADN ou ARN, simple ou double brin) et leur spectre d'hôte (149). Plus de 95% des bactériophages appartiennent à l'ordre des *Caudovirales*, c'est-à-dire les familles *Myoviridae*, les *Podoviridae* et les *Siphoviridae* (53). Les phages lytiques utilisés en thérapeutique appartiennent essentiellement à ces familles.

Aujourd'hui on dénombre une vingtaine de familles différentes mais la liste est loin d'être exhaustive car seulement quelques milliers de phages ont été mis en évidence et classifiés (53), (149), (150), [Figure 17].

¹² Ce point sera développé en 3.1.

Figure 17 : Morphologie des principaux groupes de bactériophages adapté de (151)



Un des phages les plus étudié est le phage virulent **T4** faisant partie de la famille de *Myoviridae* et ciblant spécifiquement *E. coli* [Figure 18]. Il est composé (53) :

- D'une **tête** (environ 80nm) formée d'une **capside** contenant le **matériel génétique**.
- D'une **queue** ou « **appareil caudal** » (environ 100 nm) formé d'un collier, d'un tube central creux, d'une gaine contractile et d'un plateau (ou plaque terminale) terminé de crochets et portant des fibres caudales. Cet appareil caudal permet d'injecter l'ADN viral dans la bactérie.

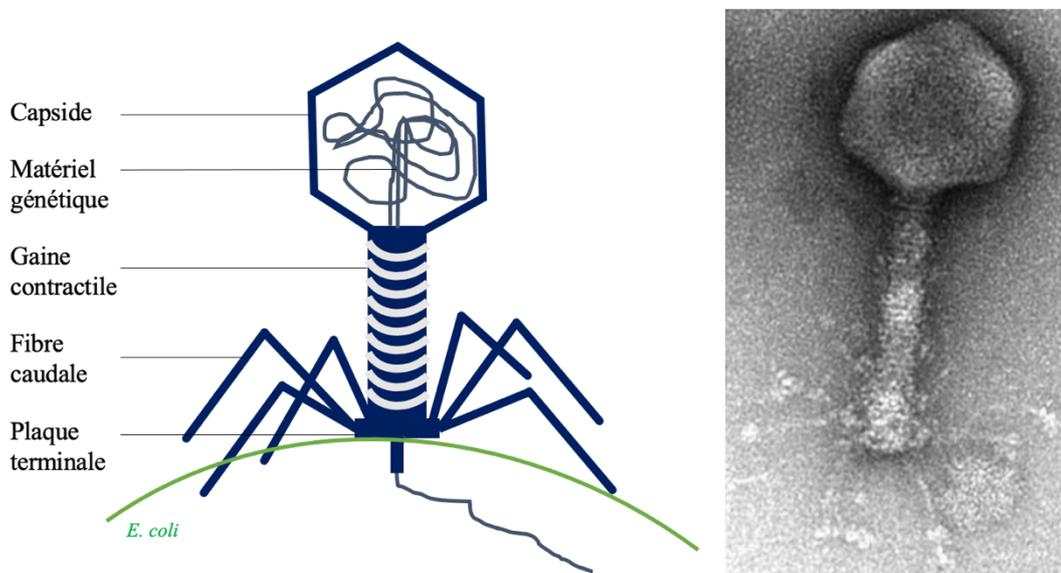


Figure 18 : Gauche : Schéma d'un bactériophage T4 ciblant *E. coli* – Droite : Phage observé au microscope électronique (152)

Un autre phage souvent étudié est le phage tempéré λ (*lambda*) ciblant également *E. coli* et faisant partie de la famille des *Siphoviridae*. Il est utilisé principalement en biologie moléculaire.

Le génome d'un phage tempéré est répliqué en même temps que le génome de la bactérie-hôte. Son cycle de reproduction s'effectue donc au rythme de celui de la bactérie soit environ une fois par heure (53).

Étapes du cycle de reproduction des bactériophages lytiques

Les phages virulents ont quant à eux une réplication indépendante de celle de leur hôte (53). Leur cycle de reproduction dure en moyenne entre 20 et 30 min à 37°C et produit une ou plusieurs dizaines voire centaines de phages¹³ (53), (141). Leur cycle de reproduction est par conséquent plus efficace que celui des bactéries ce qui laisse peu de chance de survie à une population bactérienne attaquée par un phage (53).

Plusieurs étapes composent ce cycle lytique (53), (126), (135) :

1. **L'arrimage** : avec l'aide des fibres caudales, le phage reconnaît la bactérie et s'y fixe. Le spectre d'hôte est défini par cette interaction spécifique. La fixation se fait entre les protéines de liaison du récepteur du phage (Receptor Binding Protein) et les récepteurs bactériens qui diffèrent en fonction du type de bactérie. Les récepteurs initiaux chez les bactéries Gram- sont des LPS exprimés sur la membrane externe alors que chez les bactéries Gram+, il s'agit d'acides téichoïques présents sur la paroi. La fixation complète et irréversible du bactériophage à l'hôte par le phénomène d'adsorption¹⁴, fait appel à d'autres récepteurs ou molécules comme des récepteurs aux sidérophores ou des vitamines.
2. L'adsorption entraîne une cascade d'événements dont la **perforation de la membrane cytoplasmique** et la **contraction de la gaine**.
3. L'**ADN viral est alors libéré** dans le cytoplasme de la bactérie.
4. Une **nucléase** synthétisée via le génome phagique fragmente le chromosome bactérien pour le rendre inefficace. La bactérie ne répond alors plus qu'aux ordres de l'ADN viral

¹³ Cette donnée est appelée le « burst-size », c'est-à-dire le nombre de virus produits pour chaque cellule infectée

¹⁴ L'adsorption est le phénomène par lequel le phage se fixe sur la bactérie en utilisant des récepteurs spécifiques.

en le transcrivant et le traduisant pour produire des protéines enzymatiques et structurelles nécessaires à la formation de nouveaux phages.

5. Les différents composants doivent ensuite **maturer** et **s'assembler** pour créer des bactériophages identiques à celui à l'origine de l'infection de l'hôte. Cette étape se produit de façon spontanée et régulée.
6. D'autres enzymes, les **endolysines**, sont alors produites pour **détruire la membrane** et faire éclater la bactérie en libérant les nouveaux phages prêts à refaire un cycle sur les bactéries voisines.

Étude de la sensibilité d'une bactérie aux bactériophages

A l'image de l'utilisation d'un antibiogramme, pour tester la sensibilité d'une bactérie à un phage on utilise un **bactériophagogramme** ou **phagogramme**. Pour cela, on isole la bactérie responsable de l'infection et on l'étale sur une gélose dans une boîte de pétri pour ensuite introduire une goutte de chaque suspension de phages provenant d'une **phagothèque** (collection de phages) (53). Après la période d'incubation de 18 à 24h, si des « trous » dans le tapis bactérien sont observables, cela démontre que le phage a bien tué la bactérie [Figure 19] (53).

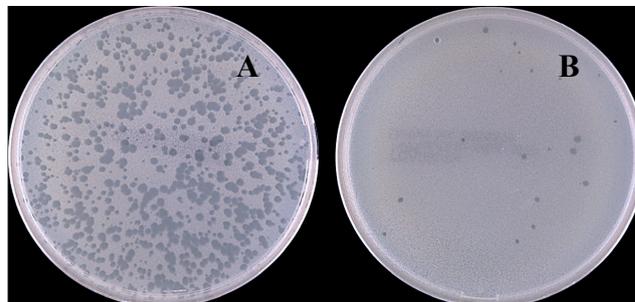


Figure 19 : Boîtes de pétri avec plages de lyse (trous) - A : Concentration élevée de phages – B : Concentration moins élevée de phages (53)

Pour tracer l'origine d'une infection, on utilise la **lysotypie** (de l'anglais « phage typing »). Cette technique permet de différencier des souches bactériennes d'une même espèce en fonction de leur sensibilité à certains bactériophages (153). Cela permet par exemple d'identifier une source infectieuse dans un hôpital et en stopper le développement. Pour cela, on compare les caractères phénotypiques et génétiques des souches d'une espèce bactérienne (53). Dans certains laboratoires spécialisés, on utilise la technique du **ribotypage** qui est un test génétique, plus long et plus coûteux, utilisant la PCR pour analyser l'ADN bactérien (53).

1.3. Domaines d'application potentiels

L'abondance et la diversité des phages dans la nature ainsi que leur étroite spécificité constituent une ressource facile à exploiter qui pourrait être utile dans divers domaines (154).

Depuis leur découverte, ils ont été largement étudiés et utilisés comme outils dans les laboratoires de **biologie moléculaire** et notamment dans les recherches sur les processus génétiques et l'ARN messager (53). On les utilise régulièrement comme **vecteurs de clonage** pour insérer de l'ADN dans les bactéries en particulier le phage tempéré λ et le phage filamenteux M13 infectant tous deux *E. coli* (53). Ils s'avèrent être des outils intéressants dans le domaine médical notamment diagnostique et thérapeutique lors de l'administration ciblée de médicaments ou encore pour tester l'imperméabilité des préservatifs aux virus (53), (155).

Une des applications potentielles, découlant de la recherche en biologie moléculaire, pourrait être dans la **vaccination**. Les vaccins sous-unitaires représentent une alternative plus sûre que les vaccins entiers mais ne sont pas assez immunogènes¹⁵, ce qui nécessite l'ajout d'adjuvants. Le phage T4 semble être un outil intéressant comme plateforme pour développer des vaccins à nanoparticules de type viral (VLP) en se montrant hautement immunogène (156). L'approche serait d'assembler les antigènes en nanoparticules de type viral qui seraient présentées en épitopes sur la capsid du T4 stimulant alors plus efficacement le système immunitaire sans avoir besoin d'adjuvants (156), (157). En effet, la capsid du T4 contient deux protéines externes, Soc et Hoc, qui pourraient permettre de disposer d'un réseau à haute densité d'épitopes antigéniques sous la forme de peptides, de domaines, de protéines complètes ou même de complexes (156). Une étude preuve de concept (« proof-of-concept ») publiée en 2021 portant sur les vaccins antigrippaux de nouvelle génération, a d'ailleurs montré que la plateforme de VLP du bactériophage T4 pouvait être très efficace en stimulant des réponses immunitaires humorales et cellulaires (157).

Leur utilisation en tant qu'**agents antibactériens** est celle que je développerai plus amplement dans ce sujet de thèse. Pour rappel, les phages les plus appropriés pour une action bactéricide sont les phages virulents car leur cycle de reproduction est uniquement lytique contrairement aux phages tempérés qui ont principalement un cycle de reproduction lysogénique qui devient lytique seulement sous certaines conditions.

¹⁵ Immunogène : se dit d'une substance ayant le pouvoir de provoquer une réponse du système immunitaire.

Les domaines d'application sont nombreux, cela peut être en **médecine humaine**, en médecine **vétérinaire**, dans l'**agriculture** ou encore dans l'**industrie agroalimentaire**.

1.3.1. Médecine humaine

Face au phénomène d'antibiorésistance, la phagothérapie représente une **alternative thérapeutique** prometteuse grâce aux caractéristiques des phages virulents qui leur permettent d'éliminer les bactéries pathogènes et d'avoir également une action sur les biofilms. Ces phages lytiques ont en effet :

- une spécificité élevée aux récepteurs des bactéries
- une action bactéricide en détruisant leur hôte
- un temps de reproduction relativement court aboutissant à la libération de nombreux phages aux mêmes propriétés
- une capacité à co-évoluer avec leur hôte en s'adaptant rapidement aux possibles mutants résistants. D'une façon générale, les virus ont des taux de mutation plus élevés que les bactéries.

On estime que pour chaque bactérie, un phage spécifique est existant, ce qui implique qu'ils auraient la capacité de traiter tous types d'infections bactériennes. Les produits phagiques commercialisés à l'époque ainsi que les études sur le sujet portent sur des infections courantes comme les (53), (148) :

- infections gastro-intestinales,
- infections respiratoires,
- infections ostéo-articulaires dont celles liées aux prothèses articulaires,
- infections urinaires et génitales,
- infections cutanées (brûlures infectées, folliculites, ulcères...) dont celles touchant les patients diabétiques
- ou encore les infections ORL ou des infections diverses comme les péricardites, les méningites ou les péritonites.

Les bactéries les plus étudiées pour des applications cliniques de phages ces dernières années, sont celles où des taux élevés de résistance sont observés, c'est-à-dire : *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ou encore *A. baumannii* et *M. tuberculosis* (53).

Des études ont également montré l'action bénéfique des phages sur les biofilms. Ce phénomène est un problème courant chez les patients ainsi que sur les dispositifs médicaux infectés car les antibiotiques actuels et les désinfectants classiques ont des difficultés à les éliminer. En effet, les bactériophages produiraient des enzymes spécifiques capables de les pénétrer et d'hydrolyser les polysaccharides les composant (148), (158). Cependant, leurs probabilités de succès dépendraient de l'âge du biofilm, car lors la phase de maturation de celui-ci, la matrice deviendrait moins favorable à la diffusion des phages, limitant ainsi l'utilisation de la phagothérapie dans les cas d'infections chroniques où les biofilms sont bien installés (158).

Les phages testés dans les études ou utilisés dans les pays autorisant la phagothérapie peuvent être administrés par pratiquement toutes les voies d'administration, c'est-à-dire par voie locale (cutanée ou inhalée), orale, intraveineuse, sous-cutanée, intramusculaire ou encore intra rectale (159).

Dans la majorité des cas, on administre d'abord un cocktail de phages puis selon le taux de résistance de la bactérie, il est possible de personnaliser le traitement en administrant qu'un seul type de phage, qu'on peut appeler « autophage » (160). En effet, un seul type de phages peut s'avérer très efficace contre une colonie bactérienne grâce à leur grande spécificité, mais les cocktails de phages semblent être une stratégie plus rationnelle pour éviter le phénomène de résistance aux phages¹⁶, qui sera abordé par la suite, mais également pour élargir le spectre d'action du traitement, tout en étant actif sur les biofilms (161).

On comprend que deux stratégies thérapeutiques sont alors possibles :

- Soit l'**approche « sur-mesure »** c'est-à-dire personnalisée en administrant les phages les plus actifs sur la bactérie concernée. Il s'agit alors soit des meilleurs candidats d'une phagothèque, soit du « phagobioté »¹⁷ du patient, soit des phages trouvés dans l'environnement (161). Cette approche peut être privilégiée dans les infections chroniques.
- Soit l'**approche « prêt-à-porter »** qui est alors un cocktail de phages préétabli ciblant les bactéries les plus couramment représentées dans les infections (161). L'objectif est d'obtenir un spectre d'activité large, on peut favoriser cette approche en traitement de dernier recours lorsque l'infection est aigüe et que le temps d'analyse est long (161).

¹⁶ Voir 3.3. Perspectives

¹⁷ Ensemble des phages présents naturellement dans l'organisme

Pour que la phagothérapie soit plus efficace, il est possible d'entraîner des phages *in vitro* en les rendant plus virulents envers la bactérie ciblée (53). Pour cela, on met en contact un nombre important de phages et de bactéries pathogènes d'une même souche, puis on effectue des passages en série pour induire une « pression de sélection » (53). C'est-à-dire que lorsque ces bactéries sont lysées, on expose de nouveau les mêmes phages à des bactéries de la même souche bactérienne (53).

On peut estimer que la phagothérapie pourrait aussi être utilisée **en association avec l'antibiothérapie** pour améliorer les chances de guérison d'un patient. Cette synergie a été mise en évidence dans plusieurs études et notamment à de faibles concentrations d'antibiotiques (162), (163). Les effets rapportés en fonction des combinaisons testées seraient la diminution de la densité bactérienne, l'élimination des biofilms, la diminution de la croissance bactérienne ou encore la prévention de souches résistantes (163). Cette approche serait prometteuse et positionnerait la phagothérapie non plus comme alternative mais comme complément à l'antibiothérapie.

Les phages pourraient également être utilisés en prévention d'infections, c'est ce qu'on appelle la « **phagoprophylaxie** » (53). Diverses applications pourraient en découler :

- **Élimination du portage intestinal induit par *C. difficile***. Le portage est une « colonisation par des bactéries pathogènes qui se retrouvent de façon plus ou moins transitoire dans les flores commensales » (53). Cette bactérie, entraînant des diarrhées, se développe généralement à la suite d'un traitement antibiotique qui a créé une dysbiose intestinale (164). Elle pose des problèmes dans les hôpitaux ou les maisons de retraite car elle est contagieuse et certains patients en sont porteurs sains (53).
- **Élimination de *S. aureus* dans le nez du personnel soignant et des patients en chirurgie**. Cette bactérie opportuniste est couramment à l'origine d'infections ostéo-articulaires après chirurgie. On peut penser qu'une élimination de son portage pourrait prévenir de ce type d'infections (53).
- **Décontamination des surfaces notamment dans les établissements de soins ou sur des dispositifs médicaux**. Les phages pourraient être utiles pour désinfecter et empêcher toute prolifération bactérienne qui peut être sous la forme de biofilms (165).

Enfin, on note que certaines sociétés américaines commercialisent déjà des produits cosmétiques à base de phages pour lutter contre l'acné ou restaurer le microbiome cutané¹⁸.

Je ferai le point dans une seconde sous-partie sur les différentes études menées au 21^{ème} siècle sur la phagothérapie en médecine humaine et ainsi que sur les différentes sociétés de biotechnologies lancées dans la lutte contre les maladies infectieuses.

1.3.2. Médecine vétérinaire, industrie alimentaire et agriculture

La santé des animaux dans les **élevages** est primordiale pour assurer leurs bonnes conditions de vie et la consommation finale de leur viande ou de leur produit (lait). Les infections bactériennes sont courantes dans les élevages intensifs et le traitement se fait par antibiothérapie. Face aux problématiques de l'antibiorésistance, les réglementations ont commencé à être plus strictes quant à son utilisation massive et les éleveurs pourraient se tourner vers la phagothérapie comme alternative naturelle (161). Cependant, leur mode d'administration semblerait plus complexe que pour les humains et les recherches sur le sujet doivent se poursuivre (161). La phagothérapie a déjà été étudiée dans les élevages de volailles et de porcs et pourrait également être intéressante dans les infections du bétail notamment pour la mammite, infection touchant la mamelle des vaches (53). En France, la société **Vétophage**¹⁹, s'est spécialisée dans la santé animale en proposant des solutions pour lutter contre des bactéries résistantes aux antibiotiques en particulier *S. aureus* (166).

Dans l'**aquaculture**, domaine lié aux activités de production de produits alimentaires en milieu aquatique, on utilise régulièrement des antibiotiques dans les bassins pour traiter les maladies des poissons et crustacés. Ces infections sont principalement causées par des bactéries du genre *Aeromonas*, *Edwardsiella*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Yersinia*, *Streptococcus* ou autres vibrios (167). Le phénomène d'antibiorésistance et la contamination directe de l'environnement, font que l'usage des antibiotiques devrait diminuer dans ce type d'élevage.

L'utilisation des bactériophages dans ce domaine semble bien avancée et pourrait devenir une alternative thérapeutique plus largement autorisée notamment dans les pays nordiques où les saumons et les truites subissent régulièrement des infections (161). Une société norvégienne, ACD Pharma, a d'ailleurs commercialisé en 2019, un produit à base de phages nommé CUSTUS®-YRS ciblant *Yersinia ruckeri* à l'origine de pathologies chez le saumon

¹⁸ Voir sous partie 2.2. sur les différents acteurs utilisant des phages

¹⁹ Une présentation de la société est faite dans le 2.2.

(161), (168). Les limites soulevées quant à leur utilisation sont que les bassins d'aquaculture représentent des zones privilégiées de développement de microorganismes, ce qui induit que le milieu doit être très régulièrement contrôlé, le choix des bactériophages précis et adapté si besoin (167). Pour cela, on pourrait utiliser des méthodes génomiques sur les phages et détecter si des résistances apparaissent, tout en contrôlant la stabilité et la pureté de l'eau des bassins (167).

Dans l'**agroalimentaire**, les phages pourraient être des outils intéressants pour maintenir la sécurité des aliments en réduisant les contaminations bactériennes (161). Les bactéries pathogènes menaçantes dans ces industries sont principalement : *E. coli*, *Salmonella enterica*, *Shigella spp*, *Campylobacter jejuni* ou encore *Listeria monocytogenes* (169). Dans ce domaine particulier, des cocktails de phages sont déjà autorisés aux États-Unis, au Canada, en Nouvelle-Zélande et en Europe²⁰ dans le cadre d'aliments considérés à risque dans les processus de production et de conditionnement (161). En Europe, ils seraient autorisés en supplément des Bonnes Pratiques de Fabrication mais ne permettraient pas d'allonger la durée de vie des denrées alimentaires, d'après un rapport d'expertise effectué en France (170). On peut nommer à titre d'exemples les produits ListShield™ de la société Intralytix et PhageGuard Listex P100™ de la société Microcos Food Safety, tous deux contre la listeriose (161), (171).

Dans le domaine de l'**agriculture**, la phagothérapie est envisagée depuis longtemps pour traiter les plantes, car elle permettrait de réduire l'utilisation d'antibiotiques comme la streptomycine et de métaux lourds comme le sulfate de cuivre, faisant diminuer la contamination des sols et des eaux par ces produits (53), (161). Plusieurs essais ont déjà été menés dans ce domaine, notamment contre les pathogènes *Xanthomonas spp*, *Erwinia amylovora*, *Streptomyces scabies* ou *Ralstonia solanacearum*. Plusieurs entreprises proposent déjà des cocktails de phages, notamment OmniLytics (faisant désormais partie de Phagelux), qui commercialise depuis 2005 l'Agriphage® ciblant *Xanthomonas spp* et *Pseudomonas syringae* à l'origine de maladies dans les plants de tomates et de poivrons (161), (172). Ce produit est autorisé dans les cultures conventionnelles et biologiques (161), (172). De plus, cette même société commercialise depuis 2019, un autre cocktail de phages ciblant cette fois-ci *Erwinia amylovora* à l'origine d'une maladie appelée « feu bactérien » chez les arbres fruitiers (173). On note également qu'un projet appelé « PhageFire » financé en grande partie par

²⁰ A noter que leur statut réglementaire dans l'UE n'est pas bien déterminé.

l'Union Européenne a vu le jour en 2020 et a pour objectif de développer une solution basée sur les phages pour lutter contre cette même bactérie (174), (175).

Dans ces différents domaines, l'utilisation des phages semble en pleine expansion bien qu'elle reste complexe car soumise aux paramètres des différents environnements, comme les radiations UV extérieures, le pH de certains sols, qui peuvent limiter l'activité des phages (161).

1.3.3. Autres : contamination fécale des eaux, stations épurations

La contamination des eaux par des bactéries, en particulier *E. coli* et les entérocoques, constitue un risque pour la santé humaine notamment lors de l'ingestion d'aliments contaminés (176). Les bactériophages sont déjà reconnus comme un outil utile pour détecter la **contamination fécale** des eaux d'origine humaine ou animale (norme ISO 10705-1) (177). La présence de phages spécifiques d'un germe du tube digestif est un indicateur aujourd'hui utilisé pour déterminer l'origine d'une contamination (178).

Une application récente a été mise en place pour la détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et les boues (179). Des bactériophages spécifiques ont été utilisés comme indicateurs de la dynamique du virus de la COVID-19 dans ces milieux (179).

Enfin, les phages pourraient être utilisés pour le **traitement des eaux usées** dans les usines d'épuration notamment pour le contrôle de l'environnement bactérien en réduisant la concurrence entre les bactéries nuisibles et les bactéries fonctionnellement importantes (180). Des recherches sont cependant nécessaires sur le sujet pour mieux comprendre les mécanismes d'interactions entre les différents microorganismes (180).

La phagothérapie aujourd'hui

2.1. La phagothérapie en médecine humaine de nos jours

A ce jour, aucun pays occidental ne s'est encore positionné clairement au niveau du cadre réglementaire de la phagothérapie, ni n'a délivré une autorisation de mise sur le marché d'une préparation bactériophagique en médecine humaine. Dans l'UE, le seul moyen pour un patient d'en bénéficier se situe dans le cadre soit d'un **essai clinique**, soit d'un **traitement compassionnel**²¹ très encadré et disponible seulement dans quelques centres hospitaliers comme les Hospices Civils de Lyon (HCL) notamment via le projet « PHAGEinLYON » (181) en France ou à l'Hôpital Militaire de la Reine Astrid (HMRA) en Belgique. Aux États-Unis, la FDA autorise également cette thérapie uniquement dans le cadre d'un « compassionate use program » notamment au sein du « Center for Innovative Phages Applications and Therapeutics » (IPATH) créé en 2018 et situé en Californie (182) mais également dans le cadre d'essais cliniques grâce aux « emergency Investigational New Drug » (eIND).

La différence majeure entre les pays occidentaux et les pays d'Europe de l'Est, est que cette thérapie a toujours été autorisée dans ces pays et est même considérée comme un traitement traditionnel permettant aux médecins d'en prescrire librement et aux cliniques d'y avoir recours pour traiter les maladies infectieuses.

La difficulté d'accès à cette thérapie a accéléré le **tourisme médical** notamment en Géorgie. Chaque année des centaines de patients partent de leur pays pour se faire traiter par phagothérapie dans des cliniques géorgiennes et notamment à l'Institut Eliava toujours en activité. La société **Se Soigner en Géorgie** fondée par Alain Lavit et sa femme géorgienne, œuvre pour permettre à des patients atteints d'infections à bactéries multirésistantes, de bénéficier d'un traitement par les phages. Les services proposés visent à faciliter les démarches avec les cliniques locales et l'accueil des patients ne parlant pas le géorgien ni le russe. La prise en charge du patient se veut complète que ce soit avant, pendant ou après le séjour :

1. Cela débute par une prise de contact avec la société, par un patient qui en a entendu parler. Il explique sa situation et transmet son dossier médical. S'il est estimé que son infection pourrait être éligible à un traitement par phagothérapie, le dossier médical est récupéré à destination des médecins géorgiens.

²¹ Voir 2.3. pour une explication plus détaillée des traitements compassionnels

2. La traduction du dossier est effectuée par la société puis est transmise aux médecins géorgiens pour avoir leur avis médical et savoir si une phagothérapie est envisageable.
3. La traduction des réponses du médecin est envoyée au patient qui prendra la décision de se rendre en Géorgie si l'avis médical est favorable et si son état de santé le permet.
4. Alain Lavit organise ensuite le séjour en fonction des disponibilités de chacun et propose un devis au patient. Ce devis comprend :
 - Le forfait « médical » de la clinique (de 2900 à 3900 euros environ) : c'est-à-dire les coûts liés aux analyses, au traitement phagique et au suivi pendant deux ans après leur visite.
 - Les frais liés à l'accompagnement du patient pendant son séjour (environ 2300 euros pour trois semaines) : c'est-à-dire les traductions, les frais de vie sur place, l'hébergement, la mise à disposition d'un téléphone local, les transports entre l'aéroport et le logement et également la mise à disposition d'un interprète médical pour communiquer avec les médecins.
 - Au total les devis classiques seront établis entre 5500 et 6500 euros lorsqu'il n'y a pas d'hospitalisation ni de chirurgie prévues. Si le patient rencontre des difficultés financières, des associations existent pour les aider à lever des fonds, et notamment **Phages Sans Frontières**.²²
5. Le patient signe le contrat s'il décide d'effectuer le séjour.
6. A la date prévue, il est pris en charge dès son arrivée en Géorgie depuis l'aéroport. Les dix premiers jours sont destinés à l'analyse (prélèvement, mise en culture, phagogramme), à des consultations avec les médecins puis le traitement dure environ une quinzaine de jours avec un suivi de l'évolution des symptômes et un ajustement du traitement si nécessaire.
7. Après son retour de Géorgie, le traitement se poursuit généralement durant quelques semaines et la société peut l'aider dans ses démarches de suivi : avec traductions de ses éventuelles questions à l'intention des médecins et/ou si des ajustements du traitement sont nécessaires.

Les infections de ces patients traités en Géorgie sont principalement celles causées par *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*, c'est-à-dire les infections pulmonaires, urinaires, intestinales ou encore ostéo-articulaires mais également les folliculites ou les gingivites chroniques. Les

²² Association à but non lucratif qui sera détaillée dans la sous-partie 3. de cette thèse.

taux de réussite sont considérés comme élevés (supérieurs 80% en moyenne²³) dans ces différentes infections mais aucun chiffre officiel n'est disponible... Plusieurs expériences très positives de patients sont relatées mais les instituts géorgiens ne communiquent pas publiquement et ne fournissent pas non plus de résultats d'études cliniques menées rigoureusement. Ces instituts n'ont pourtant jamais stoppé la phagothérapie depuis sa découverte, ont développé une banque de phages très importante²⁴ et une expertise indéniable dans ce domaine. Ils ne semblent pourtant pas mettre à profit ces connaissances pour rayonner en dehors de leurs frontières puisqu'ils ne respectent pas les normes imposées par l'UE, même si on observe des améliorations dans le contrôle qualité pour répondre de plus en plus aux normes occidentales.

En effet dans l'UE, les sociétés produisant des phages sont contraintes de respecter les Bonnes Pratiques de Fabrication²⁵ (BPF) mais également d'effectuer entre autres des essais cliniques à la méthodologie rigoureuse pour espérer obtenir une AMM, ce qui freine pour l'instant l'accès à cette thérapie. Une AMM permettrait ainsi de prescrire et de traiter par les phages de façon courante comme cela se fait en Géorgie.

En France, depuis 2006, la société française Pherecydes Pharma tente de produire des phages en répondant aux normes imposées par l'UE. Cette société est aussi à l'origine du premier essai clinique de phase 1/2 prospectif, multicentrique (France, Suisse, Belgique), randomisé, en simple aveugle, initié en 2013 pour évaluer la phagothérapie. Cet essai appelé PHAGOBURN, soutenu par l'Armée et financé en grande partie par la Commission Européenne, avait pour objectif de tester un cocktail de phages contre *P. aeruginosa* et *E. coli* chez les grands brûlés. L'étude s'est terminée en 2017 et les résultats publiés deux ans plus tard n'étaient pas concluants : la diminution de la charge bactérienne n'était significativement pas différente entre les deux groupes (groupe phages versus groupe contrôle traité par l'antibactérien habituel la sulfadiazine argentique) et la stabilité du cocktail de phages déclinait dans le temps. Mais, l'étude a tout de même réussi à démontrer la faisabilité de cette thérapie en validant la méthode de production de phages purifiés (étude preuve de concept). Cette étude a favorisé l'autorisation de l'ANSM d'utiliser des bactériophages de façon compassionnelle contre *P. aeruginosa* et *S. aureus*. Les patients français peuvent depuis bénéficier d'un

²³ Selon les estimations fournies : 95% de succès pour les folliculites, 85% pour les infections ostéo-articulaires, 80% pour les infections urinaires, et 65% pour les prostatites. Ces chiffres sont donnés à titre indicatif et sont à manier avec précaution car ils ne sont pas officiels et ne reposent sur aucune étude clinique.

²⁴ L'institut Eliava revendique plus de 6000 phages dans sa phagothèque

²⁵ Voir 2.3. pour une explication plus détaillée des BPF

traitement par les phages au cas par cas, pouvant provenir de la société Pherecydes Pharma ou d'autres banques de phages disponibles notamment à l'Hôpital Militaire de la Reine Astrid (HMRA) belge. A la date d'avril 2022, cinquante patients ont pu bénéficier des phages de la société française, le dernier recensé étant un patient suédois traité à l'hôpital d'Uppsala (183). La moitié des patients a été traité pour une infection ostéoarticulaire sur prothèse (183).

Concernant les banques de phages disponibles dans le monde, nous avons des estimations concernant celle du Centre Eliava qui revendique plus de 6000 phages et de celle constituée à la demande du gouvernement de la Corée du Sud (Bacteriophage Bank of Korea) qui en revendique plus de 3000 différents (184). En effet, les sociétés privées ne communiquent pas sur leur phagothèque même si on peut estimer que chacune en développe une pour pouvoir élargir son champ d'action sur les bactéries et renforcer son expertise. De même, les centres de recherches sur les phages comme celui de l'HMRA en Belgique, l'Institute of Immunology and Experimental Therapy en Pologne, ou l'IPATH aux États-Unis disposent également de leur propre banque de phages.

A propos des essais cliniques en cours dans le monde testant des phages (naturels ou modifiés) : 21 sont officiellement en cours de recrutement de patients ou vont bientôt l'être (« recruiting » or « not yet recruiting ») d'après clinicaltrials.gov (185) [Tableau 6]. On observe que la majorité des études a lieu aux États-Unis et est en phase 1/2 de développement. On note que l'étude « PhagoDAIR » de phase 1/2 multicentrique (France, Espagne) de Pherecydes Pharma, va être initiée pour tester un cocktail de phages contre *S. aureus* dans les infections ostéo-articulaires (186). Cependant, celle-ci ne semble pas encore répertoriée dans clinicaltrials.gov et ne figure par conséquent pas dans ce tableau.

Tableau 6 – Liste des essais cliniques dans le monde testant des bactériophages, en cours de recrutement de patients ou prévus prochainement, d'après (185)

ID	Statut	Indication	Type étude, Phase clinique	Pays	Lieu	Sponsors / Collaborateurs
NCT04596319	En cours	Infections respiratoires à <i>P.aeruginosa</i> , mucoviscidose	Phase 1/2	États-Unis	Multicentrique (16 centres)	Armata Pharmaceuticals, Cystic Fibrosis Foundation
NCT04803708	En cours	Ulcère du pied diabétique, infections à <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i>	Phase 1/2	Israël	Hadassah Medical Center, Jérusalem	Technophage, VectorB2B
NCT05272566	En cours	Transfert fécal de phages (microbiote)	Observationnelle	Danemark	Rigshospitalet, Copenhague	Rigshospitalet, Copenhague

NCT05277350	En cours	Infections à <i>E. coli</i> , septicémies	Phase 1	États-Unis	Medspace Clinical Pharmacology, Ohio	SNIPR Biome, Biomedical Advanced Research & Development Authority, Wellcome Trust
NCT03808103	En cours	Maladie de Crohn	Phase 1/2	États-Unis	The Mount Sinai Hospital, New York	Intralytix, Mount Sinai Hospital
NCT04287478	En cours	Infections urinaires	Phase 1/2	États-Unis	Multicentrique (4 en Floride, 1 au Michigan, 1 à New-York, 2 au Texas)	Adaptive Phage Therapeutics, US Department of Defense
NCT04325685	En cours	Multiplés infections	NC mais interventionnelle	Russie	Budgetary Healthcare Institution of Arkhangel'sk, Russie	Northern State Medical University
NCT04684641	En cours	Mucoviscidose	Phase 1/2	États-Unis	Yale New Haven Hospital (étude CYPHY)	Yale University
NCT04724603	En cours	Infections ostéo-articulaires, prothèse	Rétrospective	France	Hospices Civils de Lyon (Etude PHASACO-retro)	Hospices Civils de Lyon
NCT05177107	En cours	Ostéomyélite, pied diabétique	Phase 2	États-Unis	Martin Foot and Ankle (Pennsylvanie), Futuro Clinical Trials (Texas)	Adaptive Phage Therapeutics
NCT05184764	En cours	Bactériémies, <i>S. aureus</i>	Phase 1/2	États-Unis	Wake Forest University Health Sciences, North Carolina	Armata Pharmaceuticals, US Department of Defense
NCT02664740	Prévu	Ulcère du pied diabétique (<i>S. aureus</i>)	Phase 1/2	France	Multicentrique : Bordeaux, Le Grau du Roi (Nîmes), Nantes, Paris (Pitié-Salpêtrière et Lariboisière), Toulouse, Tourcoing, Valenton, Villeneuve-Saint-Georges	Pherecydes Pharma, Centre Hospitalier de Nîmes
NCT04650607	Prévu	Infections ostéo-articulaires, prothèse	Observationnelle	France	Hospices Civils de Lyon	Hospices Civils de Lyon
NCT05010577	Prévu	Mucoviscidose, infections chroniques à <i>P. aeruginosa</i>	Phase 1/2	États-Unis	NC	BiomX
NCT05240300	Prévu	Dermatite atopique	Phase 1/2	États-Unis	NC	BiomX, Maruho
NCT05269121	Prévu	Infections ostéo-articulaires, prothèse	Phase 1/2	États-Unis	NC	Adaptive Phage Therapeutics
NCT05269134	Prévu	Infections ostéo-articulaires	Phase 2/3	États-Unis	NC	Adaptive Phage Therapeutics
NCT05272579	Prévu	Transfert fécal de phages (entérocologie nérosante)	Phase 1	Danemark	Rigshospitalet, Copenhague	Rigshospitalet, Copenhague
NCT04323475	Prévu	Infections des plaies (<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i>)	Phase 1	États-Unis	Royal Brisbane and Women's Hospital (Australie)	Phagelux
NCT04815798	Prévu	Ulcère de pression (escarre) (<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i>)	Phase 1/2	États-Unis	Mayo Clinic (Rochester, Minnesota)	Phagelux
NCT05182749	Prévu	Shigellose	Phase 1/2	États-Unis	University of Maryland (Baltimore)	Intralytix, University of Maryland

NC = information Non Communiquée

2.2. Marché de la phagothérapie

2.2.1. Les différents acteurs de la phagothérapie dans le monde

On dénombre plusieurs acteurs dans la phagothérapie dans le monde utilisant des phages naturels ou génétiquement modifiés²⁶ [Tableaux 7 et 8]. Ils sont pour la plupart des **petites et moyennes entreprises**, parfois spin-off²⁷ d'universités voire des **startups** récemment créées. On n'observe pas de grands laboratoires pharmaceutiques impliqués pleinement dans cette thérapie même si certains ont déjà signé des partenariats avec des sociétés de biotechnologie américaines spécialisées dans les phages²⁸. Dans le domaine de l'agriculture et de l'aquaculture, plusieurs entreprises commercialisent déjà des produits phagiques notamment aux États-Unis, au Canada, en Norvège ou en Asie du Sud-Est. Dans le domaine de la médecine humaine, la quasi-totalité des sociétés en est encore au stade de R&D avec certaines en stades cliniques avancés notamment aux États-Unis. Cependant, on note que certaines sociétés établies en Europe de l'Est ou en Russie commercialisent déjà au niveau local des produits à base de phages dans les pharmacies pour traiter des infections courantes mais également sur internet ce qui est en théorie non autorisé pour une livraison dans l'UE. En effet, un site internet rédigé en français a vu le jour récemment et propose des préparations bactériophagiques sous différentes formes avec des prix variant de 49 euros à 330 euros en promotion et avec la possibilité d'obtenir des « bactériophages personnalisés » pour près de 3000 euros (187).

Une estimation chiffrée du marché que pourrait représenter la phagothérapie ferait l'objet d'un autre sujet de recherche et serait très difficile à mener de façon globale car les domaines d'application et les infections concernées sont très étendus. De plus, les sociétés et instituts déjà bien implantés ne communiquent pas de chiffres sur leurs activités qui sont pour eux presque exclusivement locales. On peut imaginer que le marché est important compte tenu du nombre de bactéries antibiorésistantes qui ne cesse de croître, ainsi que du nombre de décès directement liés et associés à ce phénomène. A la médecine humaine, s'ajoutent les applications en médecine animale que ce soit au niveau des élevages ou des cabinets vétérinaires ou encore dans le domaine de l'agroalimentaire et de l'agriculture.

²⁶ Les phages génétiquement modifiés ou « engineered-phages » sont des phages « optimisés » pour tuer les bactéries. Ils seront détaillés dans le 3.3. de cette thèse.

²⁷ Une spin-off est une entreprise créée à partir des connaissances et technologies issues de la recherche académique.

²⁸ Voir la sous-partie 3 pour le détail de ces partenariats

Concernant le prix que pourrait avoir une telle thérapie, on pourrait l'estimer équivalent au prix d'une antibiothérapie en prenant en compte les coûts additionnels liés à l'échec des antibiotiques. Dans la médecine vétérinaire ou dans l'aquaculture, payer un prix équivalent pourrait inciter les éleveurs à diminuer leur consommation d'antibiotiques que ce soit dans un but thérapeutique ou prophylactique, tout en soignant de façon plus adaptée et naturelle leurs animaux.

Tableau 7 - Liste des sociétés de biotechnologie spécialisées dans les phages en santé humaine

Sociétés	Pays	Année création	Domaines	Phages naturels	Phages modifiés	Principales infections / bactéries ciblées ou Indications
Adaptive Phage Therapeutics	États-Unis	2016	Médecine humaine	X		Ulcère du pied diabétique, Infections ostéo-articulaires, urinaires, ophtalmiques, mucoviscidose
Armata Pharmaceuticals (AmphiPhi Biosciences x C3J Therapeutics)	États-Unis	1989	Médecine humaine	X	X	Mucoviscidose, Pneumonies, Bactériémies, Infections ostéo-articulaires
Aziya Immunopreparat	Ouzbékistan	2014	Médecine humaine	X		Multiple infections
Biochimpharm	Géorgie	1999	Médecine humaine	X		Multiplés infections
BiomX	Israël / États-Unis	2015	Médecine humaine	X	X	Mucoviscidose, Dermatite atopique, Cholangite / Inflammation intestins, Cancer colorectal
Bohemia Pharmaceuticals	République Tchèque	2016	Médecine humaine	X		Stafal® (<i>S.aureus</i>) dans plusieurs indications, sinon recherches sur les lysines
Ellis Day Skin Science	États-Unis	2017	Médecine humaine	X		Affections de la peau
Eliava Biopreparations	Géorgie	2008	Tous domaines	X		Multiplés infections
Eligo Biosciences	France	2014	Médecine humaine		X	Microbiome
Fagoterapia LAB	Italie	2021	Médecine humaine	X		Multiple infections (non divulguées)
Felix Biotechnology	États-Unis	2019	Médecine humaine		X	Mucoviscidose (<i>P.aeruginosa</i>)
Fixed Phage	Royaume-Uni	2010	Tous domaines	X		Médecine humaine (peau : carePHIX®, mediPHIX®),

Locus Biosciences	États-Unis	2015	Médecine humaine		X	Infections urinaires (<i>E.coli</i>), infections à <i>Clostridium difficile</i> , infections respiratoires (<i>P. aeruginosa</i>) et des entérobactéries
Microgen	Russie	2002	Médecine humaine	X		Multiples infections, Produits commercialisés
NeoPharmi	Corée du Sud	2008	Médecine humaine	X		Peau : régénération des tissus
MicroMir	Russie	2011	Tous domaines	X		Multiples infections, 7 produits commercialisés
Oxford Silk Phage Technologies	Royaume-Uni	2020	Médecine humaine	X		Dispositifs médicaux pour plaies et implants à base de phages et de soie
PBD Biotech	Royaume-Uni	2016	Tous domaines	X		Outil diagnostique pour Mycobactéries
PhagePro	États-Unis	2016	Médecine humaine	X		Choléra
PhagoMed Biopharma	Autriche	2017	Médecine humaine		X	Infections ostéo-articulaires (<i>S. aureus</i>), Lysines
Pherecydes Pharma	France	2006	Médecine humaine	X		Infections ostéo-articulaires (<i>S.aureus</i>), Ulcère pied diabétique (<i>S. aureus</i>), Infections urinaires (<i>E.coli</i>), Infections respiratoires (<i>P. aeruginosa</i>)
Phylabiotics	États-Unis	2014	Médecine humaine	X		Peau (Acné)
Sarum Biosciences	Royaume-Uni	2003	Médecine humaine	X		<i>Clostridium difficile</i> , Peau (Acné)
SciPhage	Colombie	2014	Agroalimentaire, agriculture, Médecine humaine	X		Peau (Acné)
Technophage	Portugal	2005	Médecine humaine	X		Ulcère chronique, Infections respiratoires, urinaires
Veira-Souz	Russie	2007	Médecine humaine	X		Infections cutanées, Cocktails de phages commercialisés sous forme de sprays
Vésale Bioscience	Belgique	1997	Médecine humaine	X		Outil diagnostique rapide (Inteliphage®), Multiples infections (<i>S. aureus</i> , <i>K.pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>)

Tableau 8 - Liste des sociétés de biotechnologies spécialisées dans les phages dans les domaines de l'agroalimentaire, l'agriculture et en médecine vétérinaire

Sociétés	Pays	Année création	Domaines	Sous-domaines / Principales infections / bactéries ciblées
ACD Pharmaceuticals	Norvège	2011	Agroalimentaire, agriculture	Aquaculture
APS Biocontrol	Royaume-Uni	2004	Agroalimentaire, agriculture	Pommes de terre
Aquatic Biologicals	Grèce	2019	Agroalimentaire, agriculture	Aquaculture
Arm & Hammer	États-Unis	1973	Agroalimentaire, agriculture	Volaille (<i>Salmonella</i>), Bétail (<i>E.coli</i>)
Bactolytix	France	2017	Agroalimentaire, agriculture	Infections des plantes, contamination alimentaire (<i>Salmonella</i> , <i>Listeria</i> , <i>E.coli</i>), cosmétologie
Bioline Agrosociences (InVivo)	France	1979	Agriculture	Différents phytopathogènes ciblés à visée prophylactique et curative
Cytophage Technologies*	Canada	2016	Médecine vétérinaire	Volailles (<i>Clostridium</i> , <i>Salmonella</i> , <i>E. coli</i>), Porcs, Bétail, Aquaculture
Eliava Biopreparations	Géorgie	2008	Tous domaines	Multiples infections
Evolution Biotechnologies	Royaume-Uni	2015	Médecine vétérinaire	<i>P. aeruginosa</i> pour les animaux de compagnie
Fixed Phage	Royaume-Uni	2010	Tous domaines	Médecine vétérinaire (aquaPHIX®, farmPHIX®, petPHIX®), agriculture (agriPHIX®, freshPHIX®), contamination alimentaire (safePHIX®)
InnoPhage	Portugal	2008	Agroalimentaire, agriculture	Ne semble plus en activité
Intralytix	États-Unis	1998	Agroalimentaire, agriculture	Contamination alimentaire (ListShield®, SalmoFresh®, ShigaShield®, EcoShield®, SalmoLyse®, ListPhage®), agriculture (Ecolicide®)
Intron Life Sciences Private Limited	Inde	2000	Médecine vétérinaire	Volailles, Bétail, Aquaculture (crevettes, poissons)
MicroMir	Russie	2011	Tous domaines	Multiples infections, 7 produits commercialisés
Nextbiotics*	États-Unis	2017	Médecine vétérinaire	Multiples infections, applications possibles en médecine humaine mentionnées
Omnilytics (rachetée par Phagelux en 2015)	États-Unis	2002	Agroalimentaire, agriculture	AgriPhage® (Feu bactérien, autres), Contamination alimentaire (<i>E.coli</i> , <i>Listeria</i> , <i>Salmonella</i>), Solutions antibactériennes pour locaux des hôpitaux
Pathway intermediates	Royaume-Uni (Corée du Sud)	2001	Médecine vétérinaire	Volailles, Porcs (ProBe-Bac®)

PBD Biotech	Royaume-Uni	2016	Tous domaines	Outil diagnostique pour Mycobactéries
Microeos (PhageGuard)	Pays-Bas (Suisse)	2005	Agroalimentaire	Contamination alimentaire (<i>Listeria</i> , <i>Salmonella</i> , <i>E. coli</i>)
Phagelab (Phage Technologies)	Chili	2010	Médecine vétérinaire, agroalimentaire	Bétail (<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i>), Volaille (<i>Salmonella</i>), Porcs (<i>E. coli</i>), Aquaculture
Phagelux	Chine	2013	Médecine vétérinaire, Agroalimentaire, agriculture	Aquaculture, élevages (porcs, volailles, bétail), Animaux de compagnie, Agriculture (tomates, citronniers, kiwi...), Contaminations alimentaires (<i>Salmonella</i> , <i>E.coli</i> , <i>Listeria</i> , <i>Campylobacter</i> ...)
Phagos	France	2021	Médecine vétérinaire	Aquaculture et élevages (<i>Vibrios</i> , <i>E.coli</i>)
Proteon Pharmaceuticals	Pologne	2005	Agroalimentaire, agriculture	Volailles, Aquaculture (<i>P. aeruginosa</i> , <i>Aeromonas</i>)
SciPhage	Colombie	2014	Agroalimentaire, agriculture, Médecine humaine	Volailles, Aquaculture (truites - <i>Weissella</i>)
Syntbiolab	Canada	2014	Médecine vétérinaire	Bétail
UniFAHS	Thaïlande	2020	Agroalimentaire, agriculture	Volailles (<i>Salmonella</i> , <i>E. coli</i>), Aquaculture (crevettes - <i>Vibrio</i> , <i>Listeria</i>)
Vetophage	France	2017	Médecine vétérinaire	Mammite bovine (<i>S. aureus</i>), Aquaculture (<i>Vibrio</i>)

*Utilisation de phages génétiquement modifiés

2.2.2. Point sur les prestataires spécialisés dans les bactériophages

Au fil de mes recherches j'ai pu observer que certains prestataires s'étaient spécialisés dans la recherche, la fabrication, le développement ou l'analyse de phages [Tableau 9]. La liste de ce tableau est loin d'être exhaustive mais donnera une idée de quelques noms de sociétés mettant en avant leur expertise dans les bactériophages.

Tableau 9 - Liste non-exhaustive de prestataires (CDMO, CMO, CRO²⁹) travaillant sur les phages

Sociétés	Pays	Année création
BB Phage Consultancy	États-Unis	2019
BioMaje	France	2020
Catalent Biologics	États-Unis	2007
Clean Cells	France	2000
Deerland	États-Unis	1990
Ecolyse	États-Unis	2018
IHMA	États-Unis	1992
Jafral	Slovénie	2011
MB Pharma	République Tchèque	1998
Myriade LAB	France	2017
PhageAI	Pologne	2021
Pbiotec	Autriche	2019
Pharmex Group	Ukraine	2010
Rime Bioinformatics	France	2021
Tentamus	Allemagne	2011
VectorB2B	Portugal	2019

2.2.3. Point sur les sociétés utilisant les phages pour en produire des dérivés

Enfin, certaines sociétés de biotechnologies utilisent les phages comme outils pour développer d'autres types de traitements [Tableau 10]. Certains les utilise pour leurs enzymes, les lysines capables de détruire la paroi des bactéries, d'autres comme vecteurs en biologie moléculaire ou dans le développement de vaccins avec la technique du « phage display » détaillé précédemment.

²⁹ CDMO / CMO : Contract (Drug) Manufacturing Organization (fabricant et/ou développeur contractuel de médicaments)

CRO : Contract Research Organization (laboratoire de recherche contractuel)

Tableau 10 - Liste non-exhaustive de sociétés de biotechnologie utilisant des phages comme base pour développer des produits dérivés

Sociétés	Pays	Année création	Domaines	Dérivés de phages
ContraFect	États-Unis	2008	Médecine humaine	Lysines
Delmont Laboratories	États-Unis	1952	Médecine vétérinaire	Dérivé de phages : Staphage Lysate® pour pyodermite canine
GBPL (Gangagen puis Bactoclear Holdings)	Inde (États-Unis puis Singapour)	2000	Médecine humaine	Lysines
Immunology Laboratories (ImmLab)	États-Unis	1998	Médecine humaine	Phage display (vaccins)
iNtRON Biotechnology	Corée du Sud	1999	Médecine humaine	Lysines
Lysando (Artilysin)	Liechtenstein	2009	Médecine vétérinaire, Médecine humaine	Lysines (Artilysin®)
LyseNTech	Corée du Sud	2019	Agroalimentaire, agriculture	Lysines
Microeos (Gladskin)	Pays-Bas (Suisse)	2005	Médecine humaine	Lysines (peau)
Sensei Biotherapeutics	États-Unis	1999	Médecine humaine	Dérivé de phages : ImmunoPhage® (cancers)
Telum Therapeutics	Espagne	2019	Médecine humaine	Lysines
Theraphage	Canada	2018	Médecine humaine	Phage display (vaccins)
Antibody Design Laboratories	États-Unis	2011	Médecine humaine	Phage display, Phages comme vecteurs
Nemesis Bioscience	Royaume-Uni	2014	Médecine humaine	Phages comme vecteurs

2.2.4. Point sur les sociétés de biotechnologies françaises impliquées dans la phagothérapie

En France, trois principales sociétés de biotechnologies sont spécialisées dans la lutte contre les maladies infectieuses en utilisant des phages naturels : **Pherecydes Pharma** (188) dans le domaine de la médecine humaine, **Vetophage** (189) et **Phagos** (190) dans le domaine de la médecine vétérinaire et de l'aquaculture.

Dans le cadre de cette thèse, j'ai eu l'opportunité d'échanger avec Christophe Chatain, Responsable commercial de Vetophage et Adèle James, co-fondatrice de Phagos. Entre octobre 2021 et avril 2022, j'ai effectué un stage au sein de Portzamparc, société de courtage faisant partie du groupe BNP Paribas, en Equity Research, ce qui m'a permis de travailler sur l'entrée en bourse de Pherecydes Pharma et d'assister à plusieurs échanges avec la société. Les

informations publiées ici sont issues uniquement de données publiques en particulier concernant Pherecydes Pharma, et ont fait l'objet pour Vetophage et Phagos d'une relecture avant publication.



Pherecydes Pharma a été fondée en 2006 et compte aujourd'hui plus d'une vingtaine d'employés. Le Président de son directoire est Guy-Charles Fanneau de la Horie. Cette société est cotée en bourse sur Euronext Growth® à Paris depuis février 2021 et compte parmi ses actionnaires historiques plusieurs fonds de Private Equity ou de Venture Capital comme ACE Management, Elaia, Go Capital ou Omnes Capital. Elle a déjà reçu le soutien financier de la Commission Européenne, de Nantes Métropole, du ministère de l'Armée et de BPI France notamment dans le cadre d'essais cliniques. Son centre de R&D est basé à Romainville en Seine-Saint-Denis et son site de développement et de contrôle qualité à Nantes.

Pherecydes Pharma s'est spécialisée dans la santé humaine pour développer et commercialiser des traitements à base de phages naturels contre les infections causées par des bactéries résistantes, à savoir *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *E.coli*. Les principales infections faisant l'objet de recherches ou d'essais cliniques par la société à ce jour sont les infections ostéo-articulaires, l'ulcère du pied diabétique, les infections urinaires en particulier celles associées à un cathéter et la pyélonéphrite, ainsi que les infections des voies respiratoires à savoir les pneumonies acquises sous ventilation mécanique et la mucoviscidose. Pour développer son éventail d'indications, la société a déjà annoncé des collaborations de recherches notamment avec BIOASTER dans les bactériémies et Navarrabiomed dans l'endocardite infectieuse. Plusieurs brevets ont été accordés pour leurs cocktails de phages dans différents pays. D'après le communiqué de presse présentant les résultats financiers de 2021 mais également les perspectives 2022 (186), 50 patients auraient été soignés à ce jour par des phages de la société dans 9 centres hospitaliers, via les Autorisations d'Accès Compassionnels (AAC)³⁰ accordées par l'ANSM. L'objectif de Pherecydes Pharma serait d'obtenir des AMM après avoir démontré l'efficacité de leurs phages dans différents essais cliniques. Le premier essai clinique robuste lancé fut PHAGOBURN en 2015 mais, comme expliqué précédemment, celui-ci n'a pas démontré suffisamment les preuves d'efficacité attendues même s'il a permis d'obtenir des AAC par la suite. Aujourd'hui, la société a obtenu les autorisations nécessaires à l'initiation de l'étude clinique de phase 1/2 PhagoDAIR en France et le premier patient devrait

³⁰ Le cadre et ce type d'autorisations seront développées en sous partie 2.3. Réglementation

être très prochainement recruté. Cette étude pilote sera la première utilisant des phages, produits selon les normes de l'UE, dans le traitement des infections ostéoarticulaires sur prothèses causées par *S. aureus*. D'autres autorisations sont attendues pour lancer l'étude en Espagne et en Belgique. Les premiers résultats devraient être publiés durant l'été 2023. Le lancement de deux autres études sur leurs cocktails de phages devrait avoir lieu en 2022, à l'initiative du CHU de Bordeaux dans les infections ostéoarticulaires sur prothèse (étude PhagoOs) et du CHU de Nîmes dans l'ulcère du pied diabétique (étude PhagoPied). Toutes les deux seront financées par des programmes publics. D'ici deux ans, la société souhaiterait lancer une étude de phase 1/2 dans les infections urinaires compliquées causées par *E. coli* (projet PhageECOLI). Pherecydes Pharma développe également un phagogramme pour tester la sensibilité des bactéries à ses phages et une première certification est attendue mi-2022.



Vetophage a été fondée en 2017 à Lyon par Mai Huong Chatain-Ly, Docteur en microbiologie. La société comptera d'ici la fin de l'année une dizaine d'employés et

a déjà effectué plusieurs levées de fonds via BPI France mais également via des actionnaires privés qui sont principalement des vétérinaires. Son objectif est de développer des solutions diagnostiques et thérapeutiques à base de phages naturels dans le domaine de la santé animale et en aquaculture. Pour cela, l'entreprise dispose déjà de deux laboratoires et de sa propre banque de phages français qui serait l'une des plus grandes disponibles sur le marché à ce jour.

Pour améliorer la prise en charge des animaux, Vetophage propose un outil de diagnostic rapide qui sera commercialisé dès octobre 2022. Cet outil sera d'abord déployé pour les vaches laitières en cas de mammites. Cette inflammation des glandes mammaires et de la mamelle toucherait 25 à 40% des vaches laitières dans le monde, soit plusieurs dizaines de millions par an. Dans 90% des cas celle-ci serait d'origine infectieuse et causée par trois principales bactéries : *S. aureus*, *Streptococcus uberis* et *E. coli*. Face au phénomène croissant d'antibiorésistance, aux pertes économiques importantes des éleveurs liées aux soins ou à la perte des animaux, mais également aux problématiques du bien-être animal, ce kit de détection permettrait de mieux prendre en charge les infections. Les éleveurs et les vétérinaires disposeront d'une solution rapide (dizaine de minutes) et peu coûteuse, directement auprès de l'animal, pour déterminer la bactérie en cause de l'infection et adapter le traitement. Aujourd'hui, par manque de solutions adaptées, de temps et parfois d'argent, les éleveurs donneront en première intention un premier antibiotique à large spectre sans déterminer la bactérie en cause de l'infection, puis en cas d'échec un second antibiotique et si ce dernier

s'avère inefficace, l'animal sera alors généralement conduit à l'abattoir. Après ce premier lancement, d'autres kits devraient voir le jour dans d'autres indications.

La société a également développé une expertise dans la composition de cocktails de phages et sera en mesure de proposer ce traitement alternatif aux antibiotiques dans différents domaines et pour différents acteurs, que ce soit pour les élevages de bétail, volailles, porcs, ou d'espèces aquacoles mais également pour les cabinets vétérinaires dès lors qu'ils y seront autorisés. La société est en pleine croissance, un déménagement est d'ailleurs prévu d'ici la fin de l'année pour augmenter la surface des laboratoires, des recrutements sont envisagés et des partenariats importants sont aujourd'hui en cours de discussions et devraient être finalisés dans les prochains mois.



Phagos a été créée en mai 2021 par Adèle James, Docteur en microbiologie moléculaire qui a fait sa thèse

sur les bactéries pathogènes en aquaculture, et Alexandros Pantalis, diplômé d'HEC Paris et entrepreneur intéressé par la phagothérapie. Ils font partie du programme Entrepreneur First et sont accompagnés par plusieurs incubateurs et accélérateurs, comme celui d'HEC ou d'Hectar, mais également GROW Impact Accelerator basé à Singapour. Ils sont actuellement en levée de fonds en seed et leur site internet est en construction. L'entreprise compte à ce jour quatre employés en plus des deux fondateurs, ses bureaux sont situés à Station F à Paris et son laboratoire se situe à Évry dans l'Essonne.

Avec l'aide d'une dizaine de partenaires, Phagos a déjà mis en place des études preuve de concept (« proof-of-concept ») de leurs « cures évolutives et personnalisées » de phages ciblant des pathogènes majeurs dans le domaine de la santé animale et de l'aquaculture. La première étude effectuée a montré une réduction de près de 50% de la mortalité des animaux, ce qui est prometteur pour les éleveurs faisant face à des pertes économiques importantes dans le secteur concerné et qui recherchent une alternative naturelle pour lutter contre les maladies infectieuses. Une première commercialisation pourrait avoir lieu fin 2022. La société s'active également à développer une phagothèque pour pouvoir croître en ciblant d'autres types de bactéries.

Une quatrième société française spécialisée dans les phages naturels existe et mérite d'être mentionnée, il s'agit de **Bactolytix** fondée en octobre 2017 à Montpellier par Denis Costechareyre, docteur en microbiologie spécialisé dans les bactéries phyto-pathogènes et René Bally, également docteur en microbiologie (191). La société est incubée à Montpellier SupAgro

(AgroValo Méditerranée) et effectue ses recherches au sein du Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM), basé à Montpellier (192). Très peu d'informations sont disponibles sur cette entreprise qui ne possède pas de site internet, mais on sait qu'elle est spécialisée dans le domaine de l'agriculture et en particulier dans les infections des plantes (*Xylella fastidiosa* entre autres) en se positionnant comme alternative aux pesticides chimiques, et qu'elle chercherait à se développer dans l'agroalimentaire (*Salmonella*, *Listeria*, *E.coli*) et la cosmétologie (193), (194). Concernant ses financements, Bactolytix a effectué une première levée de fonds en 2018-2019 auprès d'un acteur agricole et a reçu des subventions de la part de BPI France. En décembre 2021, une nouvelle levée de fonds d'environ un million d'euros est finalisée pour se développer dans ces nouveaux secteurs (193).

2.3. Statut réglementaire de la phagothérapie dans l'UE et en France

La réglementation de la phagothérapie est développée ici principalement pour la médecine humaine, mais un point sera fait à la fin de cette sous-partie pour les autres usages possibles.

La phagothérapie a figuré dans la Pharmacopée française pendant plusieurs décennies jusqu'à la fin des années 1970 grâce aux produits commercialisés de F. d'Hérelle, comme en témoigne les archives du Vidal de l'époque [Figure 20]. Les préparations de phages se présentaient sous la forme d'une boîte contenant 30 ampoules de 5ml au prix de 12 francs et était remboursée à 70% par la sécurité sociale (195).



Figure 20 : Extraits du Vidal datant de 1977 contenant le détail des préparations à base de phages commercialisées (195).

Aujourd'hui, elle ne figure plus dans la Pharmacopée française ni européenne. On considère donc qu'elle n'est pas autorisée mais elle n'est pas non plus officiellement interdite. Son statut réglementaire n'est toujours pas clairement défini, ce qui a des répercussions directes sur la distribution et la commercialisation de produits phagiques mais également sur la conduite des essais cliniques. Juridiquement, les produits contenant des bactériophages sont considérés comme des médicaments (196).

Cependant, les phages ne semblent pas rentrer dans les mêmes cases que les autres médicaments. Il s'agit en effet d'un traitement que l'on peut qualifier « d'actif » : ils s'auto-amplifient dans l'organisme en fonction de la densité bactérienne qui elle-même évolue en fonction du nombre de phages (197). Cela implique une différence fondamentale avec les traitements « passifs » comme les antibiotiques dont la concentration dans l'organisme diminue avec le temps (197).

L'article L.5111-1 du Code de la Santé Publique (CSP) définit un **médicament** comme étant une « substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisées chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. » (198).

L'article L.5111-2 du CSP précise qu'on entend par « **spécialité pharmaceutique**, tout médicament préparé à l'avance, présenté sous un conditionnement particulier et caractérisé par une dénomination spéciale. » (198).

Les bactériophages sont des virus, ils ne sont donc fondamentalement pas considérés comme des organismes vivants car ils sont incapables de se multiplier eux-mêmes sans parasiter une autre cellule, mais ils proviennent de la nature, ce qui en fait des médicaments biologiques à l'inverse des médicaments produits de façon synthétique en laboratoire.

L'article L.5121-1 du CSP indique qu'un **médicament biologique** ou **biomédicament** est « tout médicament dont la substance active est produite à partir d'une source biologique ou en est extraite et dont la caractérisation et la détermination de la qualité nécessitent une combinaison d'essais physiques, chimiques et biologiques ainsi que la connaissance de son procédé de fabrication et de son contrôle. » (198).

La production d'une spécialité pharmaceutique est soumise à des règles précises définies dans le guide des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) ou « Good Manufacturing Practice » (GMP) en anglais. Il s'agit plus exactement des « normes minimales qu'un fabricant de médicaments doit respecter dans ses processus de production » pour assurer une haute qualité des produits tout en harmonisant les pratiques dans l'Union Européenne (199). Les

laboratoires ont des inspections régulières de la part des autorités sanitaires pour s'assurer de leur conformité (199). Les BPF font partie des documents nécessaires à la demande d'initiation d'un essai clinique ou lors d'une d'AMM dans l'UE (199).

Les préparations de phages provenant des pays d'Europe de l'Est ne sont pas produites selon les BPF ce qui les empêchent d'être distribuées et commercialisées librement dans l'UE.

Pour qu'un médicament obtienne une AMM, il faut également qu'il ait fait l'objet d'essais cliniques rigoureux, c'est-à-dire prospectifs, multicentriques, randomisés et en double aveugle sur un nombre important de patients. Ces règles sont adaptées pour des médicaments produits industriellement à grande échelle, ce qui est difficilement reproductible dans la phagothérapie aujourd'hui, qui est personnalisable et ce d'autant plus qu'elle n'est pas développée par des laboratoires pharmaceutiques. Il est déjà difficile de tester des antibactériens classiques destinés à de courtes durées de traitement³¹, la rentabilité de tels essais est l'un des principaux freins, d'autant plus que la propriété intellectuelle des phages n'est pas garantie. En effet, les phages sont des entités provenant de la nature, donc ils ne peuvent théoriquement pas être brevetés (200). Cependant, on observe que certaines sociétés arrivent tout de même à assurer leur propriété intellectuelle, c'est le cas de Pherecydes Pharma qui comptabilise plusieurs brevets de cocktails de phages et de leurs variants dans différents pays (201), (202), (203), (204), (205). En effet, il semble possible de breveter des cocktails de phages lorsqu'ils sont associés à une bactérie précise ou à une application.

Comme mentionné précédemment, Pherecydes Pharma est aussi la seule société à ce jour ayant pu réaliser un essai clinique rigoureux pour la production de cocktails de phages respectant au mieux les BPF (PHAGOBURN lancé en 2015). Bien que les résultats d'efficacité n'aient pas été suffisamment significatifs, l'étude a tout de même démontré la faisabilité de production de tels phages purifiés, ce qui a débloqué leur autorisation à titre compassionnel dont je reparlerai plus loin dans cette sous-partie. D'autres essais cliniques respectant les normes de l'UE sont en cours (PhagoDAIR) ou prévus par la société (186), leurs résultats pourraient apporter des informations nécessaires aux autorités sanitaires pour permettre *in fine* une AMM.

³¹ Voir dans partie 1, 1.3

Il y aurait, en effet, un manque de documentation sur la phagothérapie qui serait l'un des principaux freins mentionnés pour son développement dans l'UE. Face à l'intérêt suscité par cette thérapie et à la montée de l'antibiorésistance, les autorités sanitaires s'y intéressent davantage et se disent ouvertes aux discussions pour apporter un cadre réglementaire adéquat. Depuis 2015, des colloques ou des comités consultatifs temporaires, provenant des autorités européennes et françaises, se sont réunis à plusieurs reprises pour faire le point sur cette thérapie et proposer un cadre réglementaire plus clair, précis et adapté.

- **EMA, le 8 juin 2015 (206)** : Premier colloque sur l'usage thérapeutique des bactériophages. Cet atelier a convié des acteurs publics et privés ainsi que des associations de patients pour échanger sur les différentes solutions possibles pour le développement de la phagothérapie. L'EMA se dit ouverte à cette thérapie sous réserve de preuves scientifiques établies. D'un côté les médecins estiment qu'il faudrait l'utiliser en traitement compassionnel de façon personnalisée sur un individu donné, d'un autre côté les sociétés privées voudraient lancer des essais cliniques en faisant valider des cocktails de phages fixes (« fixed phage cocktail ») produits selon les BPF et obtenir *in fine* une AMM. Il a été admis lors de ce colloque que « la phagothérapie s'inscrit dans le cadre réglementaire européen applicable aux **médicaments biologiques** » qui impose la délivrance d'une AMM (207). L'EMA rappelle qu'une AMM implique d'avoir des données sur des essais précliniques et cliniques détaillés mais également pharmaceutiques.
- **ANSM, le 24 mars 2016 (208)** : Première réunion du Comité Scientifique Spécialisé Temporaire (CSST) sur la phagothérapie. Cet atelier a convié différents médecins experts sur le sujet, des responsables d'associations de patients notamment pour la mucoviscidose, les dirigeants de Pherecydes Pharma ainsi que différents membres de l'agence. L'objectif de cet atelier était « d'élaborer une position quant aux situations cliniques pouvant justifier d'un accès précoce aux bactériophages, et déterminer les prérequis nécessaires pour une mise à disposition précoce [...] dans le cadre d'autorisations temporaires d'utilisation ou d'essais clinique ». L'ANSM a noté un manque de documentation sur les modalités d'utilisation des phages : le dosage, la durée, le rythme et la voie d'administration. Un consensus a été obtenu à l'issue de cette réunion sur les critères « justifiant une situation de besoin, applicables à tous types d'infections pour un accès précoce aux bactériophages ». Les critères convenus sont les

suivants : **un pronostic vital engagé ou un pronostic fonctionnel menacé, une impasse thérapeutique et une infection mono-microbienne.** Cette réunion a abouti à l'encadrement des phages dans le cadre d'un usage compassionnel faisant appel à une Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU) nominative. La prescription, la dispensation et l'administration des préparations à base de phages doivent s'effectuer dans un établissement de santé par un médecin hospitalier via les pharmacies à usage interne (PUI).

Une ATU nominative (ATUn), aujourd'hui remplacée par une « **Autorisation d'Accès Compassionnel** » (AAC) est « une procédure exceptionnelle, dérogatoire, qui permet l'accès à des médicaments n'ayant pas d'autorisation de mise sur le marché en France et sans lesquels aucune alternative thérapeutique n'est disponible, dès lors que le rapport efficacité-sécurité est présumé favorable pour le patient ». Elle est « délivrée pour un seul patient nommément désigné, ne pouvant pas participer à une recherche biomédicale, à la demande et sous la responsabilité du médecin prescripteur » (209), (210).

- En 2018, la Belgique a publié la première monographie générale sur les phages en les qualifiant de « active pharmaceutical ingredients ». Ils sont considérés disponibles sous forme de « solutions physiologiques aqueuses contenant des phages lytiques naturels [...] qui peuvent contenir un tampon ou sous forme de poudre séchée ou lyophilisée. En tant que **principes actifs de préparations magistrales**, ils sont destinés à être dilués ou reconstitués et/ou combinés [...] dans une officine de pharmacie hospitalière, immédiatement avant utilisation sur la base d'un patient nommé. » Cette monographie explique de façon détaillée comment utiliser les phages pour les produire, les administrer, les conserver, les tester, ou encore les étiqueter [*Annexe 6*]
- La même année en France, un guide pratique sur l'utilisation des phages à destination des professionnels de santé voulant les utiliser pour un usage compassionnel a été publié. Une nouvelle version est disponible depuis janvier 2021 (207).
- **ANSM le 21 mars 2019** (211) : Deuxième CSST sur la phagothérapie. L'objectif était que les équipes hospitalières ayant eu recours à des phages depuis 2016 fassent un retour d'expérience pour déterminer le type de phages, les stratégies de prise en charge des patients, les modalités de sélection des phages et également les voies d'administration.

Une quinzaine de patients avaient déjà bénéficié en France de ce traitement sous les conditions d'une ATU nominative.

- **Sénat et Assemblée Nationale, en mars 2021** : note scientifique de l'office parlementaire pour évaluer les choix scientifiques et les technologies sur la phagothérapie. Il est admis que les patients doivent avoir accès à toutes les solutions thérapeutiques et que beaucoup s'informent et se tournent vers les pays de l'Est proposant la phagothérapie, ce qu'on appelle le « tourisme médical ». Ce rapport indique que cette pratique pose plusieurs problèmes, au niveau de la sécurité, de l'éthique mais également financiers pour le patient. Les conclusions portent sur la nécessité de « construire un cadre propice au développement de la phagothérapie en France » au niveau juridique, pour la recherche et la fabrication.

On comprend qu'il y a une prise de conscience de la part des autorités sanitaires pour faire avancer le sujet des bactériophages comme thérapie en médecine humaine que ce soit pour mieux soigner les patients en impasse thérapeutique ou pour trouver des alternatives au phénomène d'antibiorésistance mais il faudrait pour cela des études cliniques réalisées selon des méthodologies rigoureuses pour démontrer leur sécurité et leur efficacité.

Médecine vétérinaire

L'EMA a publié le 28 janvier 2022 un « concept paper » sur la qualité, la sécurité et l'efficacité des bactériophages comme **médicaments vétérinaires** (212). Ce document, préparé par un groupe de travail de l'EMA, aurait pour objectif d'éclaircir le cadre réglementaire actuel qui n'est pas considéré comme adapté à l'autorisation de tels médicaments dans l'UE. Avant de rédiger et de publier des lignes directrices, il est attendu des précisions sur :

- les informations administratives à fournir pour une autorisation de mise sur le marché ,
- les exigences concernant les BPF,
- la qualité des produits,
- les exigences de sécurité concernant la toxicologie, l'utilisateur, l'environnement, les animaux cibles
- les exigences sur l'efficacité,

- la description des utilisations prévues, des études sur l'animal cible, de la dose minimale efficace, de la posologie...
- le développement potentiel de résistances

Le document présentant ces lignes directrices est attendu pour le dernier trimestre 2022.

Autres statuts observés dans le monde des produits contenant des phages

Certaines entreprises dans le domaine de la santé humaine et animale semblent commercialiser leurs préparations phagiques comme des **compléments alimentaires**, à l'image de l'utilisation des probiotiques voire en combinaison avec des souches probiotiques. Cela n'est pas autorisé dans l'UE mais des produits sont disponibles en vente sur internet pour une livraison en France, promouvant un « probiotique de technologie de phage » en capsules à prendre pour « rééquilibrer les bactéries intestinales » (213), [Figure 21].

Figure 21 – Fiche informative sur la composition d'un produit contenant des phages vendu comme complément alimentaire, (213)

Informations de supplément		
Dosage: 1 capsule végétarienne liquide		
Portions: 30		
	Quantité par portion	%DV
Mélange probiotique exclusif	15 Milliards d'UFC †	**
Lactobacillus acidophilus La-14; B. lactis BI-04; L. paracasei Lpc-37; L. rhamnosus Lr-32; B. bifidum / lactis Bb-02; B. longum BB536		
Mélange de tétraphage	15 mg	**
Lh01 - Myoviridae; Il5 - Siphoviridae; t4d - Myoviridae; Il12 - Myoviridae		
** Valeur quotidienne non établie.		
† unités formant des colonies au moment de la fabrication.		

Autres ingrédients: glycérine, cellulose végétale (capsule), acide stéarique, stéarate végétal, maltodextrine, silice, amidon de maïs, eau purifiée, chlorophylline.

Sans OGM

A titre informatif, l'article 2 du décret n°2006-352 du 20 mars 2006 (214), définit les compléments alimentaires comme des « denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés, commercialisés sous forme de doses, [...] telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules, et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis

d'un compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides et en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité ».

Dans le domaine de l'agroalimentaire, comme mentionné précédemment, certains phages sont déjà autorisés notamment aux États-Unis ou au Canada, on les considère alors comme des « décontaminants » ou un « outil additionnel, en complément de bonnes pratiques d'hygiène » contre *Listeria* ou *Salmonella* (161), (215). La FDA leur a donné un statut particulier appelé GRAS pour « Generally Recognized As Safe » (216). Au Royaume-Uni, le traitement de pommes de terre après récolte par des phages est également autorisé comme « auxiliaires technologiques » (161), (217). Les **auxiliaires technologiques** sont définis comme « toute substance non consommée comme ingrédient alimentaire en soi ; volontairement utilisée dans la transformation de matières premières, de denrées alimentaires ou de leurs ingrédients pour répondre à un objectif technologique pendant le traitement ou la transformation [...] » d'après la définition française présente dans le décret n° 2011-509 du 10 mai 2011 (218).

En Norvège, le même statut leur est attribué pour une utilisation en aquaculture pour les saumons (161).

La position européenne ne semble pas claire sur leur autorisation et sous quel statut dans ce contexte. On semblerait considérer les phages plutôt comme des **additifs alimentaires** (219). Cela serait le cas de la Suisse et du Danemark qui ont officiellement autorisé un produit phagique ciblant *Listeria* sous ce même statut pour certains aliments (161). Les additifs alimentaires, à la différence des auxiliaires technologiques, peuvent avoir une action sur le produit fini comme l'amélioration de la conservation d'un aliment. Ils doivent d'ailleurs être mentionnés sur l'étiquette dans la liste des ingrédients et doivent faire l'objet d'une autorisation d'emploi conformant au Règlement (CE) N°1333/2008 (220), (221).

Perspectives

3.1. Freins au développement de la phagothérapie et ses inconvénients

Aujourd'hui, la phagothérapie est toujours perçue avec **scepticisme** par de nombreux professionnels de santé occidentaux, estimant que les preuves de son efficacité sont trop faibles. En effet, on peut penser qu'elle serait déjà autorisée et réglementée par les autorités de santé si elle présentait un réel intérêt thérapeutique. De plus, jusque dans les années 1980, les préparations de phages étaient librement commercialisées en figurant à la Pharmacopée française et européenne. Leur retrait laisserait donc penser que c'est un signe supplémentaire d'inefficacité. Il est vrai qu'à ce jour, il n'y a **pas d'étude clinique à large échelle réalisée** selon les normes européennes actuelles. Les seuls pays ayant pu tester cette thérapie sur un grand nombre de patients sont des pays qui ne respectent pas ces normes imposées que ce soit au niveau de la méthodologie de l'essai, de la fabrication ou de la production des préparations. Néanmoins aujourd'hui, ces pays soignent couramment des patients avec des bactériophages, mais ils ne communiquent pas non plus de statistiques sur leur taux de succès ou d'échec.

De plus, les laboratoires pharmaceutiques s'intéressent peu à la phagothérapie pour plusieurs raisons liées à la rentabilité d'un tel traitement (222), (223) :

- **Les phages ne sont pas brevetables** comme tels puisqu'il s'agit d'entités biologiques. Pour garantir la propriété intellectuelle des préparations phagiques, il est possible de breveter des cocktails de phages « fixes » en les associant à une indication, ce qui limite leur utilisation clinique et n'a pas semblé concluant pour le moment dans les rares essais cliniques réalisés à petite échelle.
- **Il est très facile de s'en procurer** puisqu'ils se trouvent de façon abondante dans la nature notamment dans les égouts. Il n'y a pas de difficulté particulière à les récolter et à les isoler.
- **La réglementation les encadrant n'est pas claire.** A ce jour, aucune préparation phagique n'est autorisée en médecine humaine en occident. On comprend que le manque de vision sur la réglementation empêche tout développement d'un tel projet pour un laboratoire pharmaceutique. Les coûts de R&D seraient donc très importants pour une issue totalement incertaine.

Il s'agit d'une situation plutôt paradoxale : pour obtenir un statut réglementaire clair et précis, il est demandé de mener des essais cliniques à large échelle de façon industrielle et standardisée comme cela est le cas des autres médicaments, mais ces essais sont extrêmement coûteux et peuvent difficilement être menés par des petites structures. Les phages ne répondent pas non plus aux mêmes caractéristiques d'utilisation que les médicaments classiques comme les antibiotiques : les phages ont un spectre d'activité très étroit, ce qui oblige, pour qu'il y ait un intérêt thérapeutique, de connaître précisément l'agent pathogène en cause puis de proposer rapidement un cocktail de phages pertinent basé sur une banque de phages préétablie (224). Et l'intérêt thérapeutique semble résider dans la **personnalisation du traitement** (225), (223).

Pour un développement à large échelle, on comprend que les **challenges scientifiques et logistiques** concernant la fabrication, la production et la distribution, sont importants pour garantir leur efficacité (224). A l'époque d'ailleurs, les préparations de phages commercialisées par de grands laboratoires pharmaceutiques ne remplissaient pas les attentes quant à leur stabilité dans le temps et à leur qualité, ce qui les rendait souvent inefficaces quand on les utilisait. Cette époque pré-antibiotiques, où les produits à base de phages étaient de qualités variables, aurait d'ailleurs largement contribué à l'image d'un traitement peu efficace qui perdure encore aujourd'hui...

Par manque d'études cliniques documentées, en dehors des preuves d'efficacité, les autorités sanitaires ne disposeraient pas non plus de données fiables concernant le dosage, le mode d'administration et la durée de traitement (226). Les études pharmacocinétiques³² et pharmacodynamiques³³ (PK/PD) semblent complexes à appréhender, il s'agit en effet un traitement dit « actif » ou « évolutif » : la dose de phages nécessaire est dépendante de la densité de bactéries pathogènes (227), (222), (226). On comprend que les bactériophages ne rentrent pas dans les cases des traitements habituels, ce qui rend d'une part les essais cliniques classiques difficiles à mener et d'autre part leur positionnement réglementaire délicat à établir (223).

Une des inquiétudes soulevées est l'existence de **phages tempérés** (lysogéniques) capables de transférer des gènes de virulence ou de résistance aux bactéries, ce qui irait à l'inverse de l'effet recherché (223), (226). Il est possible, en théorie, d'identifier ce type de

³² La pharmacocinétique (ou PK) est l'étude de l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion du médicament.

³³ La pharmacodynamie (ou PD) est l'étude des effets du médicament sur l'organisme.

phages et ces gènes mais des doutes persistent car nous ne sommes techniquement pas capables aujourd'hui d'annoter intégralement le génome phagique, c'est-à-dire de connaître la fonction biologique de chaque gène codant. L'analyse par séquençage et la bio-informatique seraient alors nécessaires pour assurer cette sécurité d'emploi des phages comme thérapie.

Pour déterminer la bactérie en cause dans l'infection, il faudrait pouvoir disposer d'**outils diagnostiques** performants et rapides. Les outils actuels sont coûteux et les résultats sont donnés plusieurs jours après le prélèvement. Le développement d'outils rapides serait intéressant pour un usage facilité des bactériophages. On peut imaginer donner directement au patient un cocktail de phages « fixes » ciblant la bactérie détectée avant de mieux déterminer la souche bactérienne et d'adapter ensuite le traitement avec des phages plus virulents entraînés sur la souche en question. Cela pourrait également permettre de combiner l'action des phages à celui des antibiotiques dès le début du traitement pour potentialiser les chances de guérison du patient (162), (163).

La purification et la sélection de phages pour en faire des cocktails est un exercice complexe qui nécessite une expertise et un savoir-faire particuliers, s'ajoutant à l'accès à une banque de phages importante. En outre, pour qu'un cocktail de phages soit efficace et limiter le phénomène de résistance envers ces derniers, il semblerait important d'avoir des phages de virulences différentes ciblant divers récepteurs de la bactérie (161), (228).

La **résistance des bactéries aux phages** est en effet un point soulevé par les scientifiques. Pour assurer leur survie, les bactéries auraient développé des stratégies pour contourner l'action des phages (229). Les recherches doivent se poursuivre sur le sujet mais les principaux mécanismes identifiés à ce jour sont les suivants [Figure 22] (229) :

- *Inhibition de l'adsorption virale* via la modification des récepteurs bactériens : le phage ne peut plus reconnaître la bactérie et s'y fixer.
- *Inhibition par blocage de l'injection du génome viral* dans le cytoplasme de la bactérie.

Ces deux premiers types de résistances pourraient être causés par des prophages, issus de phages tempérés déjà présents dans le cytoplasme de la bactérie. Pour éviter une seconde infection de celle-ci, ces prophages pourraient alors entraîner une résistance bactérienne aux bactériophages lytiques tentant de la parasiter (135), (145).

- *Inhibition par dégradation du génome viral par des nucléases bactériennes* : soit via le système de restriction-modification qui permet à la bactérie de faire la distinction entre le soi et le non-soi par méthylation de son propre ADN et par la synthèse d'endonucléases³⁴ pour cliver le génome étranger, soit via le système CRISPR-Cas qui reconnaît des séquences de gènes étrangers via des ARN associés à des endonucléases (230).
- *Infection abortive et les systèmes toxine-antitoxine* : ce mécanisme vise à empêcher la dissémination des phages. La bactérie utilise des systèmes de suicide cellulaire (apoptose) pour disparaître, ce qui empêche la réplication du génome viral.

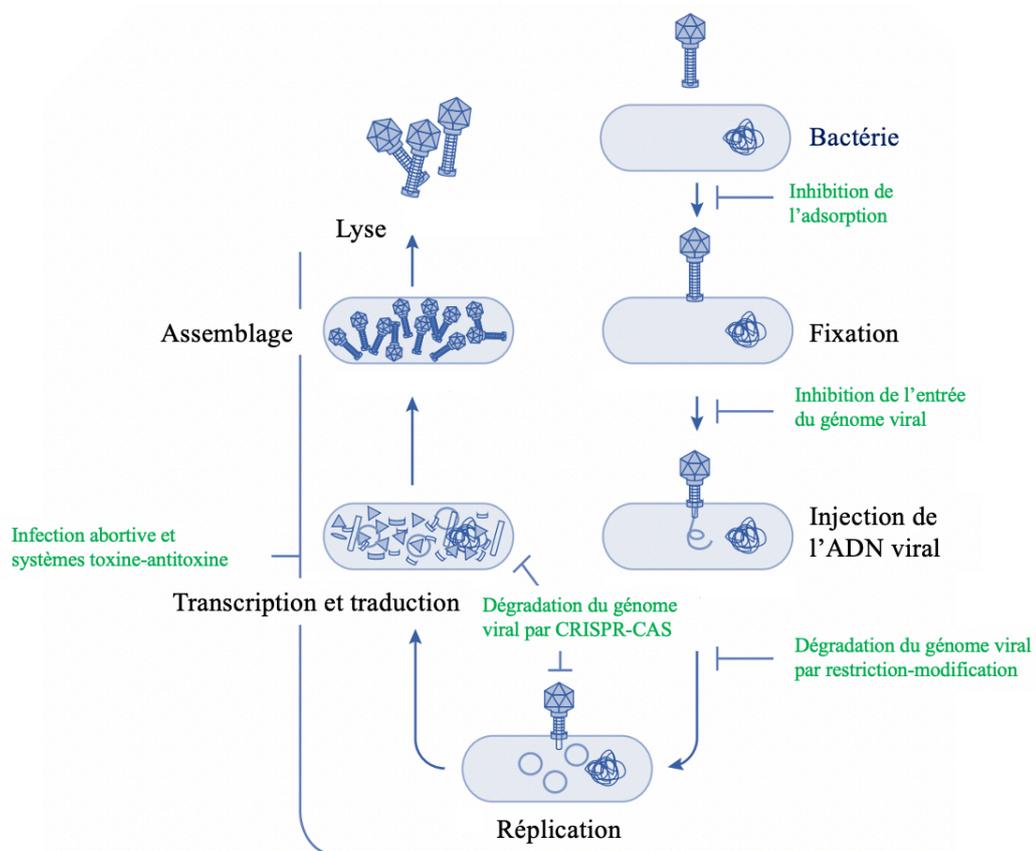


Figure 22 – Mécanismes de résistance des bactéries envers les phages aux différentes étapes du cycle lytique, adapté de (229)

Cependant, les phages sont des virus, leur taux de mutation est plus élevé que celui des bactéries, ils sont donc capables de s'adapter à ces résistances de façon très rapide, ce qui semble limiter fortement leurs effets. D'après un rapport de l'ANSES évaluant l'intérêt

³⁴ Les endonucléases sont des enzymes coupant la liaison phosphodiester entre deux nucléotides.

d'utiliser le produit Listex P100® contre *Listeria* dans l'industrie agroalimentaire, il est indiqué que seulement 5% des souches bactériennes étaient considérées résistantes au phage et que le principal mécanisme de résistance observé était celui par infection abortive, ce qui induit alors la mort de la bactérie, soit l'effet *in fine* recherché (231).

Un autre problème soulevé est la contamination des préparations de phages par les **endotoxines**, entraînant de la fièvre. Ces résidus toxiques fortement immunogènes proviennent de la lyse des bactéries dans les milieux de cultures lors de la préparation des phages (53), (148). On sait aujourd'hui éliminer cette contamination par un système de centrifugation à très haute vitesse et il est possible de contrôler la concentration en endotoxines dans les préparations via des tests *in vitro* (53), (148). Cependant, dans l'organisme du patient, la lyse des bactéries au niveau du site infectieux peut aussi libérer ces résidus toxiques qui seront reconnus alors par le système immunitaire ce qui entraînera de la fièvre (53). Ce phénomène, très connu notamment lors du traitement de la fièvre typhoïde par antibiothérapie, se produit surtout dans le cadre d'une grande densité bactérienne.

Les protéines constituant les phages pourraient aussi être reconnues comme des éléments étrangers dans l'organisme et induire une **réponse immunitaire** avec des anticorps dirigés contre le phage (53), (148). Cela ne semblerait cependant pas influencer l'efficacité du traitement, d'après une étude réalisée en 2016 (232).

D'autres problèmes sont mentionnés quant à leur distribution dans l'organisme jusqu'au site infectieux. En effet, l'**acidité gastrique** détruirait les phages lors de leur passage dans l'estomac ce qui limiterait leur utilisation par voie orale (233). Pour éviter cela, on pourrait réduire cette acidité avec du bicarbonate de soude avant la prise de phages (233). Pour augmenter la durée de vie d'un phage dans l'organisme il serait également possible de les encapsuler dans des liposomes (234).

Enfin le dernier frein à leur utilisation serait d'**ordre éthique ou social**. En effet, il est difficile de faire admettre que l'on peut soigner avec des virus qui ne sont pas uniquement des entités pathogènes, et qui peuvent être sans risque...

Pour que la phagothérapie devienne un jour réalisable à grande échelle, on comprend qu'il faudra **coordonner les différents acteurs** : les sociétés privées, les chercheurs, les

microbiologistes, les médecins, mais également les bio-informaticiens pour assurer leur bon usage tout en ayant l'appui des autorités sanitaires.

Enfin, au fil de mes recherches j'ai observé que certaines sociétés s'étaient spécialisées dans les phages pour mieux les combattre. C'est le cas de **Phage Consultants**, qui propose des services pour lutter contre les bactériophages pouvant être problématiques dans certaines industries notamment dans les processus de fermentation³⁵ (235). La présence de phages peut inhiber l'action des bactéries nécessaires à la fermentation notamment des fromages ou de la charcuterie (236). Ce type de société propose alors d'identifier le ou les phages problématiques et de trouver des solutions pour les éliminer durablement.

³⁵ La fermentation est un phénomène naturel qui se produit lors de la décomposition de la matière organique sous l'effet de bactéries, de moisissures ou de levures.

3.2. Signes d'intérêt pour la phagothérapie et ses avantages

Face au phénomène d'antibiorésistance qui ne cesse de croître, les bactériophages représenteraient une alternative ou un traitement complémentaire efficace, naturel et sûr³⁶ contre les infections bactériennes. Après avoir été oubliée plusieurs dizaines d'années, on observe un regain d'intérêt pour cette thérapie porteuse d'espoir pour les patients occidentaux aujourd'hui en échec thérapeutique. Dans un second temps je développerai les avantages de la phagothérapie.

L'intérêt suscité pour la phagothérapie est réel et s'observe à plusieurs niveaux :

- Le nombre d'articles scientifiques publiés sur le sujet
- Les financements perçus par les entreprises spécialisées dans les phages
- Le nombre et l'importance de partenariats signés
- Le nombre d'entreprises créées ces dix dernières années
- La création d'un comité scientifique spécialisé par les autorités de santé et l'accélération d'Autorisations d'Accès Compassionnels (AAC) accordées
- La sollicitation croissante des patients auprès des associations souhaitant faciliter l'accès à cette thérapie
- Le nombre d'articles récemment publiés dans les journaux Grand Public et le traitement médiatique accordé aux phages

3.2.1. Publications scientifiques en médecine humaine : recherche académique

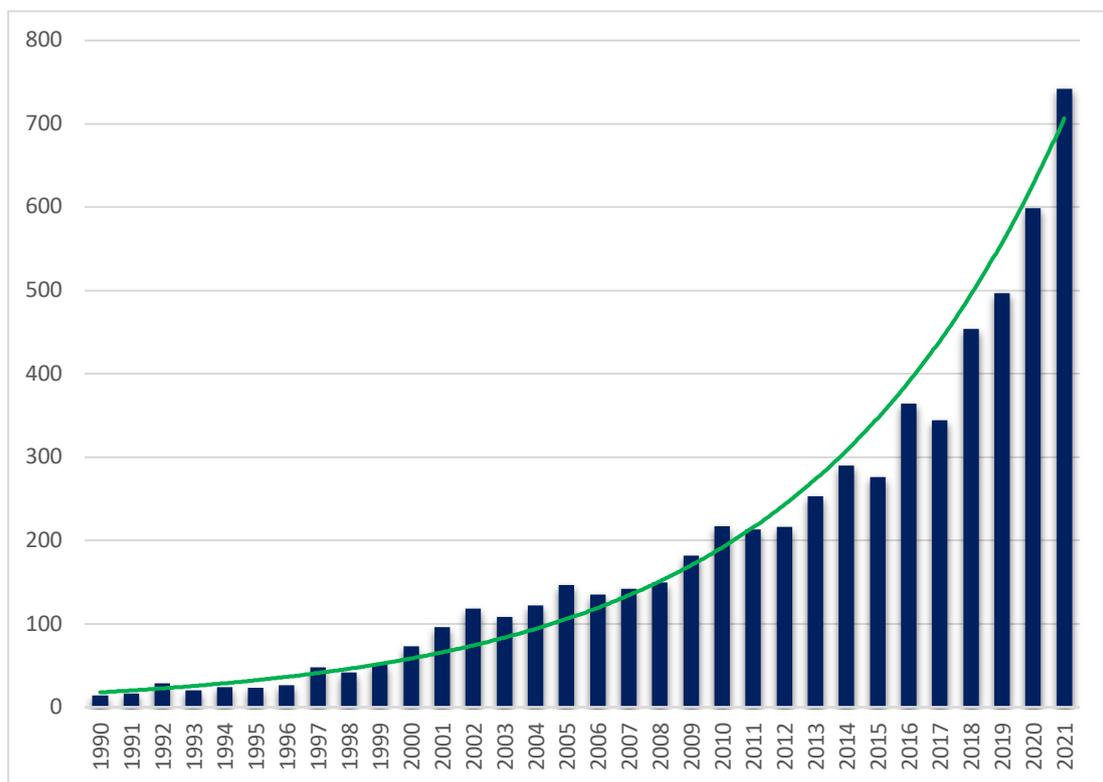
On observe que les recherches sur les phages s'intensifient et intéressent de plus en plus de scientifiques grâce à la croissance exponentielle du nombre de publications à l'échelle mondiale [Figure 23]. Entre 1990 et 2021, on dénombre près de 6000 articles publiés dont 742 uniquement durant l'année 2021. L'année 2022 suit une tendance similaire avec 274 articles publiés en quelques mois. En dix ans, le nombre de publications scientifiques a été multiplié par 3,5. Ces articles ont généralement pour objectif :

- démontrer leur efficacité dans une indication donnée ou une bactérie cible (souvent *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*), via les résultats d'essais précliniques ou cliniques effectués,

³⁶ Sous certaines conditions voir 3.1.

- faire une revue de littérature sur leur technologie et leur développement, ou
- évaluer un mode d'administration ou une technique par exemple l'encapsulation, ou l'utilisation de phages génétiquement modifiés.

Figure 23 – Diagramme représentant le nombre d'articles scientifiques publiés répondants aux mots-clefs « (bacteriophage therapy) OR (phage therapy) » sur pubmed par année depuis 1990.



3.2.2. Financements perçus et les partenariats signés par les sociétés spécialisées dans les bactériophages

Les financements des sociétés peuvent être de plusieurs types :

- Des **subventions** ou aides publiques accordées, à l'échelle de l'UE via la Commission Européenne, à l'échelle des pays via les gouvernements ou encore à l'échelle des régions. Cela peut également être l'obtention d'un **prix** à la suite d'un concours ou encore une aide financière accordée par des incubateurs ou des accélérateurs.

- Des **financements privés** par des fonds d'investissements comme des fonds de Private Equity³⁷, de Venture Capital³⁸ ou des Business Angels³⁹ qui espèrent un retour sur investissement sous quelques années (7-10 ans maximum).
- Par la **dette** : cela peut être sous formes de prêts contractés auprès de banques ou via des crédits accordés par BPI France⁴⁰ pour les entreprises françaises (qui peuvent aussi être sous forme de subventions)
- Par le **marché public** (la bourse) : une entrée en bourse permet de lever des fonds auprès d'actionnaires institutionnels (des fonds) et d'actionnaires individuels (des particuliers), en général les sommes sont plus importantes que ce qui peut être levé via les financements privés. L'entreprise pourra par la suite effectuer des augmentations de capital (recapitalisations boursières) lorsqu'elle aura besoin de lever des fonds pour un projet.

Parmi les subventions publiques récentes obtenues pour le développement des bactériophages comme thérapie en France, on note :

- Agence Nationale de la Recherche (ANR) : 2,85 millions d'euros a été accordé aux **Hospices Civils de Lyon** en septembre 2021 pour leur projet PHAG-ONE dans le traitement des infections ostéo-articulaires (237).
- BPI France : 2 millions d'euros en avril 2021 puis 1,7 millions d'euros en janvier 2022 accordées à **Pherecydes Pharma** (238), (239). La seconde est dans le cadre d'un partenariat avec le **Commissariat à l'Énergie Atomique** (CEA) pour le projet PhageECOLI.

Pherecydes Pharma a également fait une entrée en bourse sur Euronext Growth® en février 2021, ce qui lui a permis de lever 7 millions d'euros (240). L'offre fut souscrite quatre fois (28,1 millions d'euros), ce qui atteste d'un intérêt important pour la technologie des phages (240). De plus, cette société avait reçu, de la part de l'UE en 2013, 3,8 millions d'euros pour lancer l'étude clinique PHAGOBURN, sur un budget total de 4,9 millions d'euros (241).

³⁷ « Capital-investissement » en français, ce mode d'investissement consiste à prendre des participations majoritaires ou minoritaires dans le capital de sociétés non cotées en bourse.

³⁸ « Capital-risque » en français, ces fonds sont spécialisés dans le financement de startups ou de projets en stade précoce ou d'amorçage (early-stage, pre-seed, seed).

³⁹ Les Business Angels sont des particuliers investissant de l'argent au capital d'une entreprise qu'ils estiment innovante, souvent en début d'activité.

⁴⁰ BPI France est une banque publique d'investissement ayant pour objectif le développement des entreprises, elle est détenue à 50% par l'État Français.

Vetophage a bouclé une levée de fonds fin novembre 2021 au montant inconnu auprès d'actionnaires privés pour financer sa première commercialisation d'ici la fin de l'année.

Comme mentionné précédemment, **Bactolytix** a également levé près d'1 million d'euros en décembre 2021 pour diversifier ses recherches (193).

Concernant les levées de fonds récentes dans le monde de sociétés privées spécialisées dans les phages, on remarque :

- **Adaptative Phage Therapeutics** (États-Unis) : levée de fonds en Série B⁴¹ de 61 millions de dollars au total à la date d'avril 2022, dont 20 millions de l'AMR Action Fund (242).
- **Proteon Pharmaceuticals** (Pologne) : levée de fonds de 21 millions d'euros en août 2021 pour accélérer la commercialisation de ses produits dans l'aquaculture et l'élevage via le Fonds de développement polonais et d'autres fonds privés comme Montis Capital, Seventure Partners mais aussi des Business Angels (243).
- **PhageLab** (Chili) : levée de 30 millions de dollars en juillet 2021 auprès de fonds privés (244).

En plus des différentes levées de fonds, un autre indicateur de la dynamique dans la phagothérapie est intéressant à observer, il s'agit des partenariats de collaboration de recherche ou les accords de licence. On note une augmentation significative du nombre de partenariats public-privés notamment aux États-Unis où l'armée et CARB-X⁴² sont très actifs. On observe deux accords de licence importants : celui entre Roivant Sciences (États-Unis) et INtRON Biotechnology (Corée du Sud) pour un montant de 668 millions de dollars signé en 2018 et celui entre Janssen et Locus Biosciences pour 818 millions de dollars signé en 2019. Cependant, ce sont des sociétés qui ne développent pas de phages naturels mais des phages modifiés ou des lysines (dérivés de phages).

Concernant la collaboration (accord de recherche) entre GSK et Eligo Biosciences conclut en 2021, celui-ci pourrait faire l'objet d'un partenariat de licence pour un montant total de 224 millions de dollars si les études précliniques sont concluantes.

⁴¹ Les Séries A, B, C correspondent aux phases de développement de l'entreprise.

⁴² Accélérateur spécialisé dans la lutte contre l'antibiorésistance

Tableau 11 – Liste des partenariats par des sociétés développant des phages (liste non-exhaustive)

Sociétés	Partenaires	Type	Date	Montant	Informations
Adaptative Phage Therapeutics	ARLG	Collaboration	nov-21	NC	Essai de phase 1/2 dans la mucoviscidose
	US's Department of Defense (DoD)	Subvention	sept-21	8M\$	Plusieurs infections
	Walter Reed Army Institute of Research	Accord de licence	août-21	NC	Extension d'une banque de phages
	Oyster Point Pharma	Collaboration	juin-21	NC	Infections ophtalmiques
	DoD	Subvention	août-20	9,8M\$	Essai de phase 1 pour un vaccin à base de phages
	Mayo Clinic	Accord de licence	juin-20	NC	Commercialisation d'un test de sensibilité aux phages
Armata Pharmaceuticals	Cystic Fibrosis Foundation	Subvention	oct-21	8M\$	Essai de phase 1b/2 dans la mucoviscidose contre <i>P. aeruginosa</i>
	DoD	Subvention	juin-20	15M\$	Essai de phase 1/2 dans les bactériémies contre <i>S. aureus</i>
	Cystic Fibrosis Foundation et Cystic Fibrosis Therapeutics Development Network	Subvention	mars-20	5M\$	Essai de phase 1b/2 dans la mucoviscidose contre <i>P. aeruginosa</i>
	MSD (Merck)	Collaboration de recherche	NC	NC	NC
BiomX	Boehringer Ingelheim	Collaboration	sept-20	NC	Maladies inflammatoires de l'intestin
	JSR Corporation	Accord de licence	janv-18	NC	Maladies inflammatoires de l'intestin
	Janssen	Collaboration	déc-18	NC	Maladies inflammatoires de l'intestin
	Takeda	Collaboration	2017	NC	Préparation de formulations de phages
Eligo Biosciences	GSK	Collaboration	janv-21	224M\$ (potentiels)	Traitement et prévention d' <i>Acne vulgaris</i>
	CARB-X	Subvention	juin-20	7,1M\$	Infections multirésistantes dans les transplantations d'organes
Intralix	DoD	Collaboration	juin-20	NC	Domaine de l'agroalimentaire
iNtRON Biotechnologies	Roivant Sciences	Accord de licence	nov-18	668M\$	Essai de phase 2 dans les bactériémies à <i>S. aureus</i>

Locus Biosciences	DoD, CARB-X	Subvention	sept-20	144M\$	Essais de phase 2/3 dans les infections urinaires contre <i>E.Coli</i>
	Janssen	Accord de licence	avr-19	818M\$ (20M\$ upfront ⁴³)	Plusieurs indications
Phagelux	Certis USA	Accord commercial	2018	NC	Domaine de l'agroalimentaire
	NutriQuest	Collaboration	2018	NC	Domaine de l'agroalimentaire
Pherecydes Pharma	Navarrabiomed	Collaboration	mars-22	NC	Endocardite infectieuse
	BIOASTER	Collaboration	mars-22	NC	Bactériémies
	CEA	Collaboration	janv-22	2,1M€	Infections à <i>E.coli</i>
	Direction Générale de l'Armement (DGA)	Subvention	NC	NC	Projet PneumoPhage

NC = information Non Communiquée

3.2.3. Nombre d'entreprises créées

Parmi les sociétés spécialisées dans les phages répertoriées dans les tableaux 7 et 8 de cette thèse, **plus de 50% ont été créés ces dix dernières années** (2012 – 2022, soit 28 sur 54), ce qui atteste également de l'intérêt croissant pour cette thérapie que ce soit en médecine humaine ou dans les autres domaines. Il en est de même pour les sociétés prestataires (CMO/CDMO, CRO), nombreuses sont celles qui se sont développées et spécialisées dans les bactériophages ces dernières années.

3.2.4. CSST et AAC

Depuis 2015, on observe une volonté de la part des autorités de santé d'échanger avec les différents acteurs pour faciliter la mise en place de la phagothérapie tout en respectant les normes imposées. Les essais cliniques doivent se poursuivre pour apporter les preuves d'efficacité, de sécurité mais également des éclaircissements sur la prise en charge des patients (mode d'administration, durée, dosage...). Une fois que l'EMA aura statué sur la phagothérapie, l'ANSM se positionnera également et on pourra espérer revoir la phagothérapie autorisée dans l'UE.

⁴³ L'upfront est la somme initiale touchée par l'entreprise à la signature du partenariat. Le reste du montant sera délivré lors de paiements d'étapes (milestones payments) c'est-à-dire lorsque certaines étapes du développement seront réussies.

Pherecydes Pharma a annoncé dans un communiqué de presse qu'un total de 50 patients auraient bénéficié d'un traitement compassionnel par leurs phages depuis 2017. On remarque une nette accélération puisque parmi ces 50 patients, 25 en auraient bénéficié depuis début 2021 (186).

3.2.5. Associations à but non lucratif

Quelques associations de patients existent ou ont existé en France pour faire connaître la phagothérapie et faciliter son accès. Ces associations sont généralement nées à l'initiative d'un patient traité par cette thérapie de façon réussie en Géorgie. C'est le cas de Christophe



Novou Dit Picot, Président et Fondateur de l'association **Phages Sans Frontières**, la plus active aujourd'hui. A la suite d'un accident, son fémur fracturé ne guérit pas et s'infecta pendant des années jusqu'à ce que les bactéries deviennent multirésistantes aux antibiotiques. Les médecins envisageaient même l'amputation car sa situation clinique devenait critique. Il entend alors parler de la phagothérapie et décide en dernier recours avant l'amputation d'y faire appel en se rendant en Géorgie. Cette thérapie a été un succès et il œuvre désormais pour la réhabiliter en France. L'association aide principalement à financer des séjours en Géorgie pour des patients en situation d'échec thérapeutique, les fonds sont généralement récoltés auprès de donateurs ou lors de gala de bienfaisance. Leur objectif est de proposer une solution lorsque celles disponibles en France ont été épuisées et soumises à des échecs. Les patients sont d'ailleurs invités à consulter d'abord un médecin spécialiste pour s'assurer qu'aucune autre option n'existe en France. Depuis 2018, 36 patients ont été aidés financièrement par Phages Sans Frontières et sont considérés guéris de leur infection après leur séjour en Géorgie. Le nombre de patients contactant l'association est important (une vingtaine par semaine), il s'agit alors généralement de prodiguer des conseils pour orienter les patients vers les spécialistes français et notamment vers les hôpitaux où les traitements compassionnels et des essais cliniques sont menés.

3.2.6. Traitement médiatique

On observe ces dernières années un nombre croissant d'articles publiés dans des journaux destinés à un large public comme Le Monde (245), Libération (246), Ouest France (247), Sciences et Avenir (248), Notre Temps (249)... mais également via la radio comme sur France Culture avec le reportage « Bactériophage, à table ! » diffusé en 2021 (58 min) (250) ou

à la télévision notamment sur Arte avec le reportage « L’incroyable histoire des tueurs de bactéries » diffusé en 2019 (53 min) (251). On remarque également des podcasts ou des conférences comme TEDx qui accueille des personnes témoignant de leur thérapie par les phages et notamment Christophe Novou Dit Picot en 2020 (252).

Ce traitement médiatique permet de faire connaître la phagothérapie au plus grand nombre, ce qui éveille les patients et contribue à la dynamique observée ces dernières années pour réhabiliter les bactériophages.

3.2.7. Avantages de la phagothérapie

En effet, la phagothérapie présente de nombreux avantages :

- Les phages n’entraîneraient pas d’effet indésirable chez les patients ou de façon extrêmement rare⁴⁴ (224). On peut également considérer que nous sommes en permanence au contact de bactériophages (microbiote ou dans l’environnement) et que nous en consommons même indirectement via la nourriture fermentée. Cette information est importante à prendre en compte car on pourrait considérer que dans le pire des cas la phagothérapie ne serait simplement pas efficace. Des études complémentaires chez l’humain sont cependant nécessaires pour démontrer cette **innocuité**. Les phages pourraient être une thérapie intéressante également pour les patients allergiques à certains antibiotiques (227).
- Une des grandes différences avec les antibiotiques est que leur **action est très spécifique**, leur cycle de réplication se faisant uniquement dans la bactérie-cible. En effet, ils ne ciblent pas les cellules eucaryotes ou les bactéries non pathogènes du microbiote contrairement aux antibiotiques qui sont à l’origine de dysbioses⁴⁵ (225). Ils n’ont donc en théorie pas non plus de risques de toxicité (225).
- Ils se **reproduisent tout seuls**, de façon exponentielle et rapidement, ils pourraient être utilisés à faibles doses avec de longs intervalles entre chaque dose (225). Une fois qu’il n’y a plus de bactéries pathogènes, le virus ne peut plus se répliquer et meurt. Les antibiotiques ont leur concentration qui diminue dans le temps et sont éliminés par

⁴⁴ Quelques cas de fièvre transitoire ont été observés pour les raisons mentionnées précédemment dans le 3.1.

⁴⁵ Il s’agit d’un déséquilibre de la flore intestinale entraînant principalement des troubles intestinaux.

l'organisme ce qui oblige à prendre des doses régulières dans la journée et sur plusieurs jours voire semaines et mois dans le cadre d'infections chroniques.

- Ils sont de **très petite taille**, ce qui leur donnerait la capacité d'atteindre des zones difficiles d'accès comme le système nerveux central (253).
- Ils ont la **capacité d'évoluer si leur environnement change**, ce qui n'est pas le cas des antibiotiques (225). En effet, on observe finalement peu de résistance des bactéries aux phages car ces virus ont la capacité de co-évoluer avec elles⁴⁶ (225). Et finalement, même si une bactérie devenait totalement résistante à un phage, il serait possible d'en trouver un autre actif sur cette bactérie devenue résistante, car le stock de phages dans la nature est considéré inépuisable (53).
- Le **coût de production** des phages naturels serait faible contrairement aux antibiotiques devant être synthétisés en laboratoire (225). Cependant, la personnalisation du traitement et les analyses nécessaires lors de la prise en charge d'un patient doivent être également prises en compte. Mais, ces phages pourraient tout à fait être une alternative envisageable pour les pays à faible et moyen revenus (53).
- Comme mentionné précédemment, ils seraient **efficaces sur les biofilms**, qui sont difficilement supprimés par les antibiotiques (148), (158), (254).
- Enfin, des études ont montré qu'ils agiraient en **synergie avec les antibiotiques** et pourraient même permettre de diminuer leur dose (162), (163). Il a aussi été observé que l'association de ces deux traitements permettrait d'inhiber l'émergence de souches résistantes, cela suggère également qu'un antibiotique devenu inefficace pourrait redevenir performant grâce à l'action des phages (255). D'autres études sont nécessaires sur le sujet pour notamment mieux identifier les interactions possibles entre antibiotiques et phages.

⁴⁶ Voir 3.1.

3.3. Phages et nouvelles technologies

3.3.1. Phages génétiquement modifiées (ou phages synthétiques)

Comme indiqué précédemment, certaines sociétés modifient génétiquement les phages (« engineered-phages ») pour leur conférer d'autres propriétés leur permettant notamment d'**élargir leur spectre d'activité** ou de **limiter la résistance des bactéries aux phages** (256). L'objectif est aussi de mieux protéger leur propriété industrielle puisqu'un bactériophage modifié pourrait être plus facilement breveté (53), (222). Par génie génétique, ces phages auraient donc des propriétés « améliorées » par rapport à leurs homologues naturels.

On pourrait par exemple modifier ses récepteurs pour qu'il reconnaisse différentes bactéries (élargir son spectre d'hôte) [Figure 24]. La technique utilisée repose sur la **recombinaison homologue** qui consiste en l'échange de séquences nucléotidiques entre deux molécules d'ADN partageant des séquences similaires ou identiques (257). Cela se passe de façon spontanée dans la nature, mais on peut l'utiliser pour créer un phage mutant avec des **phénotypes**⁴⁷ spécifiques (dans cet exemple, des récepteurs) (257). Cela permettrait de ne plus rencontrer de difficultés à combiner différents phages en cocktails puisqu'on pourrait simplement modifier le phage d'intérêt avec les propriétés souhaitées en créant des variants.

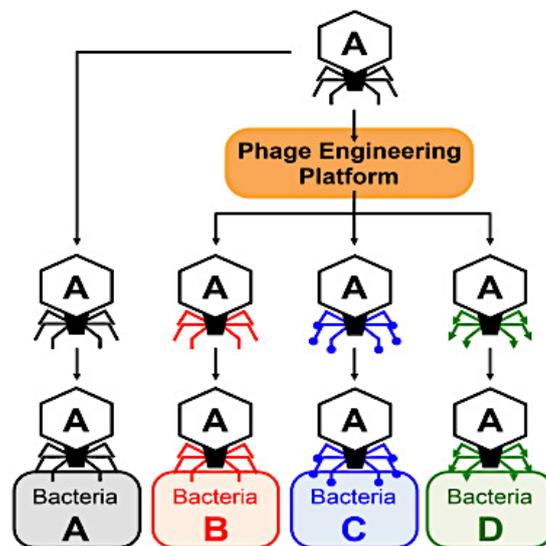


Figure 24 – Schéma illustrant l'élargissement du spectre d'hôte d'un phage par modification de ses récepteurs (258)

⁴⁷ Le phénotype est l'ensemble des caractères apparents d'un individu.

Une autre technique utilisée reposant également sur la recombinaison homologe pour modifier les phages est la technique **CRISPR-Cas** (257). On modifie l'ADN du phage en intégrant une séquence codante pour l'ARN CRISPR (ARNc) et pour la protéine Cas qui est une nucléase. Lorsque le phage injecte son ADN dans la bactérie, celle-ci va le transcrire en ARNc. Si cet ARNc reconnaît une séquence spécifique dans l'ADN de la bactérie (comme un gène de résistance), la protéine Cas va cliver l'ADN bactérien (222), (257). Cette technique permettrait alors de faire en sorte que les phages ciblent uniquement les bactéries présentant des gènes de résistance.

Enfin une troisième technique plus complexe repose sur la **reprogrammation** (« reboot ») qui consiste à générer des phages modifiés directement grâce à la bactérie hôte en utilisant un ADN phagique « nu » contenant les mutations souhaitées (257). Après répllication au sein de la bactérie, les éléments constituant les phages modifiés sont créés et s'assemblent (257).

Comme vu précédemment, les sociétés développant des phages modifiés semblent particulièrement intéresser les laboratoires pharmaceutiques même si leur statut réglementaire, tout comme les phages naturels, reste incertain. A cela s'ajoute les doutes sur l'innocuité des organismes génétiquement modifiés (OGM) qui restent d'actualité notamment dans l'UE. Les phages naturels étant ubiquitaires et participant à l'équilibre des microorganismes, il semble pertinent de s'intéresser à l'impact que pourraient avoir les phages modifiés dans l'environnement. D'autant plus si on cible l'industrie agroalimentaire : les bactériophages ont en effet été introduits dans certains pays comme des alternatives naturelles aux pesticides et aux autres composés chimiques (53).



Eligo Bioscience (259) est une société de biotechnologie fondée en 2014 par Xavier Duportet, ingénieur agronome et docteur en biologie, qui est aujourd'hui Président de la société et par deux scientifiques de l'université Rockefeller et du MIT⁴⁸. La société est basée à Paris et compterait aujourd'hui près d'une cinquantaine d'employés. L'entreprise développe des bactériophages modifiés (nommés Eligobiotics®) via la technologie CRISPR-Cas dans l'objectif de moduler la composition et la fonction du microbiome dans le cadre de maladies. Leur technologie de précision permettrait de cibler uniquement les bactéries pathogènes et de les détruire par reconnaissance de séquences

⁴⁸ Massachusetts Institute of Technology

génomiques spécifiques. L'entreprise a déjà été soutenue financièrement par la Commission Européenne, BPI France, ou plus récemment CARB-X dans le cadre de recherches sur les infections multirésistantes de patients transplantés, et collabore avec l'Institut Pasteur mais aussi avec le laboratoire GSK dans le cadre de recherches sur l'acné. Leur technologie a déjà remporté plusieurs prix et distinctions et a fait l'objet d'articles scientifiques dans des revues prestigieuses aux États-Unis. Cette technologie s'apparenterait à de la thérapie génique à vecteurs viraux.

3.3.2. Phages et bio-informatique

Les techniques d'analyse du génome sont aujourd'hui plus rapides et performantes qu'auparavant ce qui facilite la sélection de phages pertinents en vue de traiter les patients. Pour assurer la sécurité d'emploi des bactériophages, il pourra en effet être important de connaître les fonctions biologiques des séquences codantes du génome phagique. En outre, cela permettra de s'assurer que le phage ne comporte pas de gènes de virulence ou de résistance qu'il pourrait transmettre à la bactérie. L'analyse par séquençage et la bio-informatique deviendront alors des outils indispensables pour les sociétés développant des phages et souhaitant les commercialiser.

 **Rime Bioinformatics** est une startup française basée à Palaiseau proposant des services de bio-informatique spécialisés dans les bactériophages. L'entreprise a été fondée en janvier 2021 par Antoine Culot, ingénieur agronome et docteur en microbiologie spécialisé dans la phagothérapie, et Guillaume Abriat, également docteur en microbiologie spécialisé dans la caractérisation des protéines, la chimiotaxie et la motilité bactérienne. La société est en cours de recrutement et devrait compter 4 à 5 employés d'ici la fin de l'année. Elle fait partie des startups de la French Tech, du Réseau Entreprendre, du programme « Live For Good » et est incubée à Station Rennes Innovation, ce qui lui permet d'être accompagnée et d'obtenir des fonds pour se développer.

Leur objectif est de démocratiser l'analyse du séquençage en la rendant accessible aux biologistes tout en utilisant des outils hautement performants. Leurs services d'analyse génomique sont destinés à des sociétés privées comme des sociétés de biotechnologie ou des sociétés prestataires (CRO, CMO, CDMO), mais également à des laboratoires publics. Leur cœur de métier est de proposer un service de caractérisation des phages par annotation

structurale puis fonctionnelle⁴⁹, en utilisant différentes méthodes automatiques d'annotation, plusieurs banques de données et en proposant également une annotation manuelle pour affiner les résultats. Aujourd'hui, seulement 24% des gènes des phages analysés⁵⁰, ciblant les bactéries du genre *Vibrio*, seraient annotés fonctionnellement, en d'autres termes on connaîtrait la fonction biologique de seulement 24% des gènes de ces phages, ce qui fait que les fonctions biologiques de 76% des gènes restent inconnues et pourraient possiblement être des gènes de virulence ou de résistance... Le poster avec les résultats détaillés de cette étude sera publié par la société en juin prochain à l'occasion de la conférence Virus of Microbes (VoM) [Annexe 7] (260). Les autorités sanitaires auront très certainement besoin de ces informations pour assurer la sécurité de produits contenant des phages et délivrer des AMM. Les sociétés proposant de l'analyse génomique aujourd'hui sur le marché sont pour la plupart généralistes, donc non spécialisées dans les bactériophages, et délivrent des résultats de façon automatisée en comparant généralement les séquences à une seule base de données.

Leur méthode d'analyse approfondie a été validée par une étude preuve de concept sur l'annotation du phage VVP001 en comparant les résultats d'une analyse classique prise en référence (261). Les résultats obtenus sont les suivants : +24% de gènes détectés lors de l'annotation structurale et 5,5 fois plus de gènes annotés que l'analyse prise en référence, ce qui permettrait de connaître la fonction biologique de 74% des gènes du phage [Annexe 8].

Leur méthode d'analyse peut avoir d'autres applications comme l'annotation du génome d'une bactérie, la détermination des gènes de virulence, de résistance ou encore la détection de prophages. Rime Bioinformatics propose également des services plus généralistes de bio-informatique et de microbiologie comme l'assemblage de séquences génomiques ou l'identification de microorganismes.

⁴⁹ Définitions du Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine (2022) : « L'annotation structurale d'un génome est une opération consistant en l'analyse de la séquence d'un génome afin d'identifier et de localiser [...] les séquences codantes, les motifs régulateurs et les séquences répétées [...] » (264). « L'annotation fonctionnelle d'un génome est une opération consistant à assigner des fonctions biologiques aux séquences identifiées lors de l'annotation structurale » (265).

⁵⁰ Dont les génomes ont été publiés entre mars 2021 et mars 2022 (179 génomes au total ont été analysés).



Une autre société de bio-informatique spécialisée dans les phages a été créée en 2021 en Pologne, il s'agit de **PhageAI** (262). L'objectif est d'utiliser l'intelligence artificielle pour automatiser l'analyse bio-informatique de caractérisation des phages. L'entreprise développe une plateforme pour que les sociétés de biotechnologies puissent optimiser leur processus de sélection de bactériophages. La société a déjà annoncé un partenariat avec Proteon Pharmaceuticals et a reçu près de 430 000 euros de la part du National Center for Research and Development polonais pour développer sa plateforme. Enfin, PhageAI a annoncé en mai 2022 faire partie du programme « Startup with IBM » qui lui permettra d'être accompagnée par des experts de la technologie IBM Cloud afin d'améliorer ses services.

3.3.3. *Les phages comme outils diagnostic*

Une équipe de chercheurs de l'Université de Leicester mené par le Dr Louis Teulières, a eu l'idée de développer en 2017 un test diagnostic par PCR basé sur les phages pour détecter les bactéries du genre *Borrelia* responsables de la maladie de Lyme. Ce test breveté, appelé **Phelix Phage Test**, a été créé sur le principe que les bactériophages sont spécifiques d'une bactérie et sont plus nombreux que celle-ci, ce qui permettrait la détection d'une infection de façon très sensible. Le diagnostic de la maladie de Lyme est complexe car les symptômes cliniques ne sont pas spécifiques et les tests diagnostic utilisés sont peu sensibles. Détecter les phages pour diagnostiquer une infection active pourrait même être une technologie utile dans d'autres types d'infections (263).

Conclusion

La phagothérapie est une thérapie naturelle connue depuis longtemps, qui présente de nombreux avantages : les domaines d'application potentiels sont vastes, il n'y aurait pratiquement aucun effet indésirable, les modes d'administration potentiels sont multiples et il s'agit d'une technologie personnalisable et précise par son spectre d'hôte étroit. Son positionnement thérapeutique peut se situer en dernier recours en cas de bactéries multirésistantes chez des patients n'ayant plus aucune autre solution possible ou encore en association avec les antibiotiques pour potentialiser les chances de guérison.

D'ailleurs, de plus en plus de sociétés développent des préparations de phages, des financements importants publics ou privés sont observés et un nombre croissant de patients en échec thérapeutique est en attente de solutions efficaces. Cette thérapie paraît donc prometteuse mais comporte différents freins à sa réhabilitation en Occident. Les spécificités de ce traitement actif le différencient des médicaments classiques et une réglementation particulière sera nécessaire. En effet, les autorités sanitaires demandent plus de documentation sur les bactériophages par des essais cliniques rigoureux respectant les normes imposées par l'UE ou la FDA démontrant ainsi son efficacité et son innocuité.

Il faudra très certainement envisager une coordination des différents acteurs : les scientifiques, les sociétés privées, les gouvernements et les autorités de santé pour accélérer l'implantation de cette technologie en routine clinique pour l'Homme et l'animal mais aussi dans les domaines de l'agroalimentaire et de l'agriculture...

On peut donc souhaiter que la phagothérapie se développe rapidement dans un cadre sécurisé avec une législation qui gagne à la fois en souplesse et en précision dans l'intérêt des patients.

Bibliographie

1. **Hall, William, McDonnell, Anthony and O'Neill, Jim.** *Superbugs, An Arms Race against Bacteria.* Cambridge Massachusetts et London, England : Harvard University Press, 2018.
2. **Roser, Max, Ortiz-Ospina, Esteban and Ritchie, Hannah.** Our World in Data - Life Expectancy. *Our World in Data.* [Online] 10 2019. [Cited: 02 01, 2022.] <https://ourworldindata.org/life-expectancy>.
3. **Gottfried, Joseph.** History Repeating? Avoiding a Return to the Pre-Antibiotic Age. *Harvard.edu.* [Online] 04 17, 2005. [Cited: 02 03, 2022.] <https://dash.harvard.edu/bitstream/handle/1/8889467/Gottfried05.html>.
4. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR).** Achievements in Public Health, 1900-1999: Control of Infectious Diseases. *Centers for Disease Control and Prevention (CDC).* [Online] 07 01, 1999. [Cited: 01 28, 2022.] <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm4829a1.htm>. 10458535.
5. **Bergen, Anthony.** Blister: The Day Calvin Coolidge Lost His Favorite Son and His Passion for the Presidency. *Medium.* [Online] 07 01, 2015. [Cited: 01 29, 2022.] <https://medium.com/@anthonybergen/blister-the-day-calvin-coolidge-lost-his-favorite-son-and-his-passion-for-the-presidency-fe7b6b638f>.
6. *Infection in a Pre-Antibiotic Era.* **Runcie, Harriet.** s.l. : Journal of Infectious Diseases & Preventive Medicine, 2015. 10.4172/2329-8731.1000125.
7. *A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future.* **Aminov, Rustam I.** Aberdeen, Royaume-Uni : Frontiers in Microbiology, 2010. 10.3389/fmicb.2010.00134.
8. *The Introduction of 'chemotherapy' using arsphenamine - the first magic bullet.* **Williams, KJ.** Cheshire, Royaume-Uni : Journal of the Royal Society of Medicine, 2009. 10.1258/jrsm.2009.09k036.
9. *History of Sulfonamides.* **Shambaugh, George E. JR.** s.l. : JAMA, 1966. 10.1001/archotol.1966.00760020003001.
10. **Nobel Prize.** The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1939. *nobelprize.org.* [Online] 1965. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1939/domagk/biographical/>.
11. —. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1945. *nobelprize.org.* [Online] 1965. [Cited: 01 28, 2022.] <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1945/summary/>.
12. *L'industrie Antibiotique, du miracle à l'inefficacité ?* **Andremont, Antoine.** s.l. : Cairn.info Revue Après Demain, 2012. 10.3917/apdem.022.0011.
13. *Police épistémologique : l'enquête "streptomycine".* **Abastado, Philippe.** Paris, France : Medecine / Sciences, 2006. 10.1051/medsci/2006225544.
14. *Quand le miracle antibiotique vire au cauchemar.* **Trémolières, François.** Paris : Médecine / Sciences, 2010, Vol. 26. 10.1051/medsci/20102611925.
15. *Antibiotiques en agriculture : réduire leur usage tout en limitant les risques sanitaires et socioéconomiques au Sud.* **Roger, François and Ducrot, Christian.** Paris, France : CIRAD, 2017. 10.18167/agritrop/00041.
16. *Ban on Antibiotics as Growth Promoters in Animal Feed enters into effect.* **European Medical Agency.** Brussels : EMA, 2005. IP/05/1687.
17. **EMA.** Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect. *ec.europa.eu.* [Online] 12 22, 2005. [Cited: 05 10, 2022.] https://ec.europa.eu/commission/presscorner/api/files/document/print/en/ip_05_1687/IP_05_1687_EN.pdf.
18. **FDA.** Antimicrobial Resistance. *fda.gov.* [Online] 12 14, 2021. [Cited: 05 05, 2022.] <https://www.fda.gov/animal-veterinary/safety-health/antimicrobial-resistance>.
19. *Global Trends in Antimicrobial Use in Food Animals from 2017 to 2030.* **Tiseo, Katie et al.** s.l. : mdpi, 2020. 10.3390/antibiotics9120918.
20. **Statista.** Global Pharmaceutical Market Worldwide. *Statista.* [Online] 2021. [Cited: 02 19, 2022.] <https://www-statista-com.ezp.em-lyon.com/study/10642/global-pharmaceutical-industry-statista-dossier/>.
21. **LEEM.** Economie - Marché Mondial. *Leem.org.* [Online] 10 05, 2021. [Cited: 02 19, 2022.] <https://www.leem.org/marche-mondial>.
22. **Xerfi.** L'industrie pharmaceutique dans le monde - Analyse du marché - Tendances 2019-2020. *Xerfi.* [Online] 05 2020. [Cited: 02 12, 2022.] https://www-xerfi-com.ezp.em-lyon.com/Etudes_sectorielles_non_imprimablesE/secteur700doc/pdf/20XCHE07-sluwYn8D.pdf.
23. **IQVIA.** Le Marché du Médicament : Bilan 2020 et perspectives 2021. *IQVIA.* [Online] 04 13, 2021. [Cited: 02 19, 2022.] <https://www.iqvia.com/fr-fr/locations/france/library/presentations/drug-market-2020-review-and-2021-outlook>.

24. **Review on Antimicrobial Resistance.** Securing new drugs for future generations: the pipeline of antibiotics. *amr-review.org*. [Online] 05 2015. [Cited: 02 22, 2022.] https://amr-review.org/sites/default/files/SECURING%20NEW%20DRUGS%20FOR%20FUTURE%20GENERATIONS%20FINAL%20WEB_0.pdf.
25. **Research Dive.** Antibiotic Market Report. *Researchdive.com*. [Online] 01 2021. [Cited: 02 21, 2022.] <https://www.researchdive.com/8334/antibiotics-market>.
26. **ANSM.** L'évolution des consommations d'antibiotiques en France entre 2000 et 2015. *ANSM*. [Online] Janvier 2017. [Cited: 02 19, 2022.] file:///Users/estellemaffre/Downloads/ANSM-rapport-antibio_2016_bd2.pdf.
27. **Santé Publique France.** Surveillance de la consommation des antibiotiques et des résistances bactériennes en établissement de santé. *Santepubliquefrance.fr*. [Online] 05 2021. [Cited: 02 21, 2022.] <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/resistance-aux-antibiotiques/documents/rapport-synthese/surveillance-de-la-consommation-d-antibiotiques-en-ehpad.-mission-spares.-do>.
28. **CEPTON.** Les perspectives de l'industrie pharmaceutique à l'horizon 2020. *Cepton Strategies*. [Online] 11 2011. [Cited: 02 19, 2022.] <https://ceptonstrategies.com/wp-content/uploads/2011/11/CEPTON-Perspectives-industrie-pharma-2020.pdf>.
29. **Meloche-Holubowski, Mélanie.** Les antibiotiques, oubliés par l'industrie pharmaceutique. *Radio Canada*. [Online] 02 28, 2018. [Cited: 02 19, 2022.] <https://ici.radio-canada.ca/nouvelle/1083952/antibiotique-resistance-industrie-pharmaceutique-medicament-vaccins-profits>.
30. **The Pharma Letter.** Roche forms new biotech unit, BASILEA, for infectious diseases. *The Pharma Letter*. [Online] 10 16, 2000. [Cited: 02 19, 2022.] <https://www.thepharmalatter.com/article/roche-forms-new-biotech-unit-basilea-for-infectious-diseases-and>.
31. **Morel, Violette.** AstraZeneca vend une partie de ses antibiotiques à Pfizer. *lefigaro.fr*. [Online] 08 25, 2016. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.lefigaro.fr/societes/2016/08/25/20005-20160825ARTFIG00071-astrazeneca-vend-une-partie-de-ses-antibiotiques-a-pfizer.php>.
32. **Sanofi.** Evotec et Sanofi en négociations exclusives afin de créer, sous la direction d'Evotec, une plateforme R&D d'innovation ouverte dans les maladies infectieuses. *Sanofi.com*. [Online] 03 08, 2018. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.sanofi.com/fr/media-room/communiqués-de-presse/2018/2018-03-08-07-46-35>.
33. **Menard, Léa.** Novartis stoppe ses recherches sur les antibiotiques. *lesechos.fr*. [Online] 07 13, 2018. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.lesechos.fr/2018/07/novartis-stoppe-ses-recherches-sur-les-antibiotiques-975559>.
34. **Pew Trusts.** Tracking the Global Pipeline of Antibiotics in Development. *Pewtrusts.org*. [Online] 03 09, 2021. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.pewtrusts.org/fr/research-and-analysis/issue-briefs/2021/03/tracking-the-global-pipeline-of-antibiotics-in-development>.
35. **IQVIA.** Global Oncology Trends 2021. *Iqvia.com*. [Online] 06 2021. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.iqvia.com/-/media/iqvia/pdfs/institute-reports/global-oncology-trends-2021/global-oncology-trends-report-2021-05-21-forweb.pdf>.
36. **Berthuin, Jérémy and Miras, Mathieu.** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique et économique. *bpi france.fr*. [Online] 11 2018. [Cited: 02 22, 2022.] <https://blog.lehub.bpi france.fr/wp-content/uploads/2018/11/v2-181114133316.pdf>.
37. **Pagliarulo, Ned.** Gilead Forecasts steep slide in 2018 hepatitis C revenues. *biopharmadive.com*. [Online] 02 6, 2018. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.biopharmadive.com/news/gilead-hepatitis-c-revenues-slide-fourth-quarter-earnings/516494/>.
38. **Benkimoun, Paul.** Conflit autour d'un traitement contre l'hépatite C. *Lemonde.fr*. [Online] 02 09, 2015. [Cited: 02 22, 2022.] https://www.lemonde.fr/planete/article/2015/02/10/conflit-autour-d-un-traitement-contre-l-hepatite-c_4573300_3244.html.
39. **Wouters, Olivier.** Average cost of developing a new drug could be up to \$1,5 billion less than pharmaceutical industry claims. *LSE*. [Online] 03 03, 2020. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.lse.ac.uk/News/Latest-news-from-LSE/2020/c-March-20/Average-cost-of-developing-a-new-drug-could-be-up-to-1.5-billion-less-than-pharmaceutical-industry-claims>.
40. **Mestre-Ferrandiz, Jorge, Sussex, Jon and Towse, Adrian.** The R&D Cost of a New Medicine. *Office of Health Economics*. [Online] 12 2012. [Cited: 02 22, 2022.] [file:///Users/estellemaffre/Downloads/380%20-%20R&D%20Cost%20NME%20Mestre-Ferrandiz%202012%20\(1\).pdf](file:///Users/estellemaffre/Downloads/380%20-%20R&D%20Cost%20NME%20Mestre-Ferrandiz%202012%20(1).pdf).
41. **Ministères de l'économie des finances et de la relance.** Déposer un brevet : mode d'emploi. *economie.gouv.fr*. [Online] 09 23, 2019. [Cited: 05 05, 2022.]

- <https://www.economie.gouv.fr/entreprises/depot-brevet-inpi#:~:text=Le%20brevet%20est%20un%20acte,de%20cette%20derni%C3%A8re%20sans%20autorisation..>
42. **leem**. Recherche et développement. *leem.org*. [Online] 10 07, 2021. [Cited: 05 05, 2022.] <https://www.leem.org/recherche-et-developpement#:~:text=11%2C5%20ans,march%C3%A9%20d'un%20nouveau%20m%C3%A9dicament..>
43. **EMA**. Date exclusivity, market protection, orphan and paediatric rewards. *ema.europa.eu*. [Online] 10 26, 2018. [Cited: 05 05, 2022.] https://www.ema.europa.eu/en/documents/presentation/presentation-data-exclusivity-market-protection-orphan-paediatric-rewards-s-ribeiro_en.pdf.
44. **The Pew Charitable Trusts**. A scientific roadmap for antibiotic discovery. *Pewtrusts.org*. [Online] 05 2016. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.pewtrusts.org/~media/assets/2016/05/ascientificroadmapforantibioticdiscovery.pdf>.
45. **GSK**. Q1 2022 announcement. *gsk.com*. [Online] 04 27, 2022. [Cited: 05 05, 2022.] <https://www.gsk.com/media/7639/q1-2022-announcement.pdf>.
46. **Verge, Pauline**. Le Royaume-Uni investit dans la recherche contre la résistance aux antibiotiques. *Les Echos*. [Online] 04 12, 2022. [Cited: 04 13, 2022.] <https://www.lesechos.fr/industrie-services/pharmacie-sante/le-royaume-uni-investit-dans-la-recherche-contre-la-resistance-aux-antibiotiques-1400161>.
47. **Congress**. H.R.6000 - Cures 2.0 Act. *congress.gov*. [Online] 11 17, 2021. [Cited: 05 05, 2022.] <https://www.congress.gov/bill/117th-congress/house-bill/6000/text#toc-H1E36E2D2B8384411967B2C8E4A3B36B0>.
48. **Milken Institute**. *Models for Financing Antibiotic Development to Address Antimicrobial Resistance*. Etats-Unis : Milken Institute, 2022. <https://milkeninstitute.org/sites/default/files/2022-03/FIL-AMR%20v3.22.22.pdf>.
49. **Dall, Chris**. Achaogen bankruptcy raises worry over antibiotic pipeline. *cidrap*. [Online] 04 16, 2019. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.cidrap.umn.edu/news-perspective/2019/04/achaogen-bankruptcy-raises-worry-over-antibiotic-pipeline>.
50. **FinSMEs**. VenatoRx Pharmaceuticals Raises \$42M in Series B Funding. *finsmes.com*. [Online] 08 21, 2017. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.finsmes.com/2017/08/venatorx-pharmaceuticals-raises-42m-in-series-b-funding.html>.
51. **LSEG**. London Stock Exchange welcomes Destiny Pharma plc. *lseg.com*. [Online] 09 04, 2017. [Cited: 02 22, 2022.] <https://www.lseg.com/markets-products-and-services/our-markets/london-stock-exchange/equities-markets/raising-equity-finance/market-open-ceremony/london-stock-exchange-welcomes-destiny-pharma-plc>.
52. **Deinove**. Investir la matière noire microbienne. *deinove.com*. [Online] [Cited: 04 13, 2022.] <https://www.deinove.com/fr/profil>.
53. **Dublanchet, Alain**. *La Phagothérapie - Des virus pour combattre les infections*. Paris, France : Editions Favre SA, 2017. 978-2-8289-1564-3.
54. *Etude structurale de PBP3 et localisation des six "Penicillin-Binding Proteins" de Streptococcus pneumoniae: implication dans la croissance et la division bactérienne*. **Morlot, Cécile**. Grenoble : HAL, 2009. tel-00349752.
55. **Werth, Brian J**. Revue Générale des Bactéries. *Le Manuel MSD*. [Online] 05 2020. [Cited: 02 04, 2022.] <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/bactéries-et-médicaments-antibactériens/revue-générale-des-bactéries?query=Présentation%20des%20bactéries>.
56. **MedG**. medg.fr. *Classification des bactéries*. [Online] 11 18, 2019. [Cited: 02 03, 2022.] <https://www.medg.fr/classification-des-bacteries/>.
57. **Vasquez-Pertejo, L. M. Bush et M. T**. Infections HACEK. *Le Manuel MSD*. [Online] 02 2020. [Cited: 02 03, 2022.] <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/bacilles-gram-négatifs/infections-hacek>.
58. **Ministère des Solidarités et de la Santé**. solidarites-sante.gouv.fr. *Infections associées aux soins*. [Online] 09 02, 2016. [Cited: 04 21, 2022.] <https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/qualite-des-soins-et-pratiques/securite/infections-associees-aux-soins-ias/>.
59. **Ministère des solidarités et de la santé**. Qu'est ce qu'une infection nosocomiale ? *Solidarites-sante.gouv*. [Online] 01 19, 2016. [Cited: 02 08, 2022.] https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/prises-en-charge-specialisees/infections-osteo-articulaires/infections-nosocomiales-questions-reponses/article/qu-est-ce-qu-une-infection-nosocomiale?TSPD_101_R0=087dc22938ab200071797a60f5b6dc327e1a1920c.
60. **INSERM**. Infections nosocomiales - Ces microbes qu'on "attrape" à l'hôpital. *inserm.fr*. [Online] 07 05, 2017. [Cited: 02 03, 2022.] <https://www.inserm.fr/dossier/infections-nosocomiales>.

61. **Santé Publique France**. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé en Mai-Juin 2017. *Santepubliquefrance.fr*. [Online] 06 2018. [Cited: 02 04, 2022.] [file:///Users/estellemaffre/Downloads/41982_spf00000349%20\(1\).pdf](file:///Users/estellemaffre/Downloads/41982_spf00000349%20(1).pdf).
62. —. Infections nosocomiales, La Surveillance au service de la prévention. *santepubliquefrance.fr*. [Online] 06 2018. [Cited: 02 24, 2022.] <file:///Users/estellemaffre/Downloads/dp-infections-nosocomiales-040618.pdf>.
63. **Agence Technique de l'information sur l'hospitalisation**. Chiffres clés de l'hospitalisation. *ATIH.sante.fr*. [Online] 2019. [Cited: 02 15, 2022.] <https://www.atih.sante.fr/chiffres-cles-de-l-hospitalisation>.
64. **Suetens, C. et al.** Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incidence and composite antimicrobial resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities: results from two European point prevalence surveys, 2016 to 2017. *eurosurveillance.org*. [Online] 11 15, 2018. [Cited: 03 15, 2022.] <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.46.1800516>.
65. **World Health Organization**. Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide. *who.int*. [Online] 2011. [Cited: 02 24, 2022.] http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/80135/9789241501507_eng.pdf?sequence=1.
66. **Direction générale de la santé**. Signalement des décès liés aux infections nosocomiales. *cpias.fr*. [Online] 01 2007. [Cited: 02 24, 2022.] <http://www.cpias.fr/nosobase/Reglementation/2007/Signalement.pdf>.
67. **Ministères des solidarités et de la santé**. Stratégie Nationale 2022-2025 de Prévention des infections et de l'antibiorésistance. *solidarites-sante.gouv.fr*. [Online] 02 2022. [Cited: 03 28, 2022.] https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/strategie_nationale_2022-2025_prevention_des_infections_et_de_l_antibioresistance.pdf.
68. **Deniau, Nicolas et al.** Décès liés aux infections nosocomiales : bilan 2008-2017 des signalements externes en France. *Santepubliquefrance.fr*. [Online] 06 12, 2019. [Cited: 02 03, 2022.] http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2020/15/pdf/2020_15_2.pdf.
69. **Ministère des solidarités et de la santé**. La résistance des bactéries aux antibiotiques. *Solidarites-sante.gouv*. [Online] 02 23, 2022. [Cited: 02 24, 2022.] <https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/qualite-des-soins-et-pratiques/securite/article/la-resistance-des-bacteries-aux-antibiotiques>.
70. **Académie de Médecine**. Résistance bactérienne aux antibiotiques. *academie-medecine.fr*. [Online] 2022. [Cited: 05 05, 2022.] <https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=r%C3%A9sistance+bact%C3%A9rienne>.
71. *An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria*. **Reygaert, Wanda C.** Rochester, Etats-Unis : AIMS Press, 2018, Vol. 4. 10.3934/microbiol.2018.3.482.
72. **CPIAS Ile de France**. Les BHRé, Bactéries Hautement Résistantes Emergentes. *Centre d'appui pour la Prévention des Infections Associées aux Soins Ile-de-France*. [Online] 01 20, 2020. [Cited: 03 02, 2022.] <http://www.cpias-ile-de-france.fr/appui/bhre.php#:~:text=Les%20Bact%C3%A9ries%20Hautement%20R%C3%A9sistantes%20aux,terme%2C%20%C3%A0%20une%20impasse%20th%C3%A9rapeutique..>
73. *Classification et mode d'action des antibiotiques*. **Yala, D. et al.** s.l. : Médecine du Maghreb, 2001, Vol. n°91.
74. **Pharmacomédicale**. Antituberculeux - Rifampicine. *pharmacomedicale.org*. [Online] 05 15, 2019. [Cited: 03 02, 2022.] <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/antituberculeux-rifampicine>.
75. **VIDAL**. La résistance aux antibiotiques. *vidal.fr*. [Online] 03 02, 2017. [Cited: 03 03, 2022.] <https://www.vidal.fr/medicaments/utilisation/antibiotiques/resistance-antibiotiques.html#:~:text=La%20r%C3%A9sistance%20naturelle,'action%20de%20l'antibiotique..>
76. **INSERM**. Résistance aux antibiotiques - Un phénomène massif et préoccupant. *inserm.fr*. [Online] 03 22, 2018. [Cited: 03 02, 2022.] <https://www.inserm.fr/dossier/resistance-antibiotiques/#:~:text=Certaines%20bact%C3%A9ries%20sont%20naturellement%20r%C3%A9sistantes,chez%20une%20bact%C3%A9rie%20auparavant%20sensible..>
77. **Cardot Martin, E. et al.** La résistance aux antibiotiques. *Planetvie*. [Online] Pascal Combemorel, 12 06, 2019. [Cited: 03 15, 2022.] <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques>.
78. **Institut Pasteur**. Résistance aux antibiotiques. *pasteur.fr*. [Online] 05 2021. [Cited: 03 21, 2022.] <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/resistance-aux-antibiotiques>.
79. *Antibiotic Discovery and Resistance: The Chase and the Race*. **Iskandar, Katia et al.** 182, Basel : MDPI, 2022, Vol. 11. 10.3390/antibiotics11020182.

80. *Update on acquired tetracycline resistance genes*. **Roberts, Marilyn C.** Washington : Elsevier - FEMS, 2005. 10.1016/j.femsle.2005.02.034.
81. *Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries*. **Cattoir, Vincent.** 2004. 10.1016/j.patbio.2004.09.001.
82. *Resistance against antimicrobial peptides is independant of Escherichia coli AcrAB, Pseudomonas aeruginosa MexAB and Staphylococcus aureus NorA efflux pumps*. **Rieg, Siegbert et al.** 2, Allemagne : International Journal of Antimicrobial Agents, 2009, Vol. 33. 10.1016/j.ijantimicag.2008.07.032.
83. **Hollmann, Birte, Perkins, Mark and Walsh, Dean.** Biofilms and their role in pathogenesis. *immunology.org*. [Online] [Cited: 03 15, 2022.] <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/pathogens-and-disease/biofilms-and-their-role-in>.
84. **Haute Autorité de Santé.** Principes généraux et conseils de prescription des antibiotiques en premier recours. *has-sante.fr*. [Online] 02 24, 2014. [Cited: 03 24, 2022.] https://www.has-sante.fr/jcms/c_1723138/fr/principes-generaux-et-conseils-de-prescription-des-antibiotiques-en-premier-recours.
85. *Opportunities to Overcome Implementation Challenges of Infection Prevention and Control in Low-Middle Income Countries*. **Sengupta, Sharmila, Barman, Purabi and Lo, Jamie.** s.l. : Springer, 2019. 10.1007/s40506-019-00200-w.
86. **World Health Organization Regional Office for South-East Asia.** Guidelines on Prevention and Control of Hospital Associated Infections. *who.int*. [Online] 01 2002. [Cited: 03 25, 2022.] <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/205187/B0007.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
87. *Antibiotic Discovery and Resistance: The Chase and the Race*. **Katia Iskandar, et al.** 182, 2022, Vol. 11. 10.3390/antibiotics11020182.
88. **World Health Organization.** Antimicrobial resistance. *who.int*. [Online] 11 2021. [Cited: 03 21, 2022.] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
89. **O'Neill, Jim.** Antimicrobial Resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations. *amr-review.org*. [Online] Décembre 2014. [Cited: 03 22, 2022.] https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf.
90. *Epidemiology and burden of multidrug-resistant bacterial infection in a developing country*. **Lim, Cherry et al.** s.l. : eLife, 2016. 10.7554/eLife.18082.
91. *Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis*. **The Lancet.** 10325, Etats-Unis : Elsevier, 2022, Vol. 399. 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
92. *Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis*. **Cassine, Alessandro et al.** s.l. : The Lancet, 2019. 10.1016/S1473-3099(18)30605-4.
93. **Organisation Mondiale de la Santé.** Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report : 2021. *amr-insights.eu*. [Online] 06 09, 2021. [Cited: 03 22, 2022.] <https://www.amr-insights.eu/global-antimicrobial-resistance-and-use-surveillance-system-glass-report-2021/>.
94. —. L'OMS publie une liste de bactéries contre lesquelles il est urgent d'avoir de nouveaux antibiotiques. *who.int*. [Online] 02 27, 2017. [Cited: 03 24, 2022.] <https://www.who.int/fr/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
95. **World Health Organization.** Tuberculosis. *who.int*. [Online] 10 14, 2021. [Cited: 03 22, 2022.] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>.
96. **World Bank Group.** Drug-Resistant Infections - A treat to our economic future. *worldbank.org*. [Online] 03 2017. [Cited: 03 22, 2022.] <https://documents1.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/pdf/final-report.pdf>.
97. *National Costs Associated with Methicillin-Susceptible and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Hospitalizations in the United States, 2010-2014*. **Klein, Eili Y. et al.** s.l. : Oxford University Press, 2019. 10.1093/cid/ciy399.
98. **Centers for Disease Control and Prevention.** CDC Partners estimate healthcare cost of antibiotic-resistant infections. *cdc.gov*. [Online] 04 2021. [Cited: 03 22, 2022.] <https://www.cdc.gov/drugresistance/solutions-initiative/stories/partnership-estimates-healthcare-cost.html>.
99. *Coût de l'antibiorésistance en France : évaluation à partir des bases de données médico-administratives*. **Touat, Mehdi Benjamin.** s.l. : HAL, 2020. tel-02896665.
100. *Systematic review of studies on compliance with hand hygiene guidelines in hospital care*. **Eramus, Vicki et al.** Rotterdam : s.n., 2010. 10.1086/650451.
101. *Antibiotic prescribing for adults in ambulatory care in the USA, 2007-2009*. **Shapiro, Daniel J. et al.** s.l. : Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2014. 10.1093/jac/dkt301.

102. *Access to effective antimicrobials: a worldwide challenge.* **Laxminarayan, Ramanan et al.** s.l. : The Lancet, 2016. 10.1016/S0140-6736(15)00474-2.
103. **Gavi.** About the pneumococcal AMC. *gavi.org*. [Online] 05 07, 2020. [Cited: 05 05, 2022.] <https://www.gavi.org/investing-gavi/innovative-financing/pneumococcal-amc/about-pneumococcal-amc>.
104. **Ministère des solidarités et de la santé.** Lutte et prévention en France. *solidarites-sante.gouv.fr*. [Online] 03 04, 2022. [Cited: 03 28, 2022.] <https://solidarites-sante.gouv.fr/prevention-en-sante/les-antibiotiques-des-medicaments-essentiels-a-preserver/des-politiques-publiques-pour-preserver-l-efficacite-des-antibiotiques/article/lutte-et-prevention-en-france>.
105. **Ministère de l'agriculture et de l'alimentation.** Ecoantibio 2 : plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire (2017-2022). *agriculture.gouv.fr*. [Online] 11 12, 2021. [Cited: 03 30, 2022.] <https://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecoantibio-2-2017-2022>.
106. **INSERM.** Interface nationale ANTIBIORESISTANCE. *ppr-antiobiorésistance.inserm.fr*. [Online] 08 2020. [Cited: 03 30, 2022.] <https://ppr-antibioresistance.inserm.fr/fr/>.
107. **Organisation Mondiale de la Santé.** *Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens.* s.l. : Organisation Mondiale de la Santé, 2016. ISBN 978 92 4 250976 2.
108. **Organisation Mondiale de la Santé Animale.** Une seule santé. *oie.int*. [Online] 06 2021. [Cited: 04 04, 2022.] <https://www.oie.int/fr/ce-que-nous-faisons/initiatives-mondiales/une-seule-sante/#:~:text=Le%20concept%20%C2%AB%20Une%20seule%20sant%C3%A9,affecte%20la%20sant%C3%A9%20des%20autres..>
109. **Organisation Mondiale de la Santé.** *Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) report 2021.* s.l. : World Health Organization , 2021. ISBN 978-92-4-002733-6.
110. **Ministère des solidarités et de la santé.** La mobilisation européenne et internationale dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques. *solidarites-sante.gov*. [Online] 03 03, 2022. [Cited: 04 04, 2022.] <https://solidarites-sante.gouv.fr/prevention-en-sante/les-antibiotiques-des-medicaments-essentiels-a-preserver/mobilisation-europeenne-et-internationale/article/la-mobilisation-europeenne-et-internationale-dans-la-lutte-contre-la-resistance#:~:text=Les%20>
111. **Joint Programming Initiative on Antimicrobial Resistance.** About JPI AMR. *jpiamr.eu*. [Online] 2022. [Cited: 04 04, 2022.] <https://www.jpiamr.eu/about/>.
112. **Agence Européenne du Médicament.** *Advice on the designation of antimicrobials or groups of antimicrobials reserved for treatment of certain infections in humans.* s.l. : EMA, 2022. EMA/CVMP/678496/2021.
113. **Organisation Mondiale de la Santé.** Les 10 principales causes de mortalité. *who.int*. [Online] 12 09, 2020. [Cited: 04 07, 2022.] <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
114. *Alternatives to antibiotics - A pipeline portfolio review.* **Czaplewski, Lloyd et al.** s.l. : The Lancet, 2016. 10.1016/ S1473-3099(15)00466-1.
115. **Fondation pour la Recherche Médicale.** Développer de nouvelles approches thérapeutiques. *frm.org*. [Online] [Cited: 05 05, 2022.] [https://www.frm.org/nos-publications/les-antibiotiques#:~:text=La%20piste%20la%20plus%20int%C3%A9ressante,lactamines%20\(p%C3%A9nicilline%2C%20c%C3%A9phalosporine\)..](https://www.frm.org/nos-publications/les-antibiotiques#:~:text=La%20piste%20la%20plus%20int%C3%A9ressante,lactamines%20(p%C3%A9nicilline%2C%20c%C3%A9phalosporine)..)
116. *Monoclonal antibodies in infectious diseases: new partners in the therapeutic arsenal.* **Pelegrin, Guillaume Desoubeaux et Mireia.** 12, Paris : Medecine Sciences, 2019, Vol. 35. 10.1051/medsci/2019200.
117. *Peptides antimicrobiens : une alternative aux antibiotiques ?* **Hargraves, Simone, Greub, Gilbert and Jacquier, Nicolas.** s.l. : Pipette - Swiss Laboratory Medicine, 2020.
118. *Le "C-type natriuretic peptide" (CNP) comme arme dans la lutte contre les biofilms de Pseudomonas aeruginosa: Présentation du mécanisme d'action.* **Lesouhaitier, Olivier et al.** s.l. : HAL, 2019. hal-01969570.
119. *Place des probiotiques dans la prévention d'un épisode inaugural d'infection à Clostridium difficile.* **Cantero, Chloé, Schrenzel, Jacques and Darbellay Farhoumand, Pauline.** s.l. : Revue Médicale Suisse, 2018. 10.53738/REVMED.2018.14.623.
120. *Fecal microbiota transplantation: indications and perspectives.* **Lagier, Jean-Christophe and Raoult, Didier.** s.l. : Medecine sciences, 2016. 10.1051/medsci/20163211015.
121. *Statins: antimicrobial resistance breakers or makers ?* **Ko, Humphrey H. T. et al.** s.l. : PeerJ, 2017. 10.7717/peerj.3952.
122. *Diclofenac Resensitizes Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus to B-lactams and prevents implant infections.* **Zhang, Shutao et al.** s.l. : Advanced Science, 2021. 10.1002/advs.202100681.

123. *Quorum-Sensing Regulation of Antimicrobial Resistance in Bacteria*. **Zhao, Xihong, Yu, Zixuan and Ding, Tian**. s.l. : Microorganisms, 2020. 10.3390/microorganisms8030425.
124. **Office européen des brevets**. Adnane Remmal (Maroc) - Lauréat du Prix de l'inventeur européen 2017 dans la catégorie Prix du public. *epo.org*. [Online] 2017. [Cited: 04 12, 2022.] https://www.epo.org/news-events/events/european-inventor/finalists/2017/remmal_fr.html.
125. *Bdellovibrio et organismes apparentés - Des prédateurs bactériens hors du commun*. **Jurkevitch, Edouard and Jacquet, Stéphane**. 5, s.l. : Medecine Sciences, 2017, Vol. 33. 10.1051/medsci/20173305016.
126. *Bactériophages et phagothérapie : utilisation de virus naturels pour traiter les infections bactériennes*. **Ravat, F., Jault, P. and Gabard, J**. s.l. : PMC, 2015. Ann Burns Fire Disasters. 2015 Mar 31; 28(1): 13–20.
127. *phiBIOTICS: catalogue of therapeutic enzybiotics, relevant research studies and practical applications*. **Hojckova, K., Stano, M. and Klucar, L**. s.l. : BMC Microbiology, 2013. 10.1186/1471-2180-13-53.
128. *A novel chimeric lysin with robust antibacterial activity against planktonic and biofilm methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. **Yang, Hang et al**. s.l. : Nature, 2017. 10.1038/srep40182.
129. **Agence nationale de la recherche**. Combattre la résistance aux antibiotiques chez E. coli grâce aux Eligobiotiques - FAREWELL. *anr.fr*. [Online] 11 2016. [Cited: 04 12, 2022.] <https://anr.fr/Projet-ANR-16-CE18-0021>.
130. **CORDIS**. Investigating sRNAs as the master on/off switch of Vibrio cholerae virulence. *cordis.europa.eu*. [Online] 07 03, 2012. [Cited: 04 10, 2022.] <https://cordis.europa.eu/article/id/88908-bacterial-gene-therapy-to-combat-cholera/fr>.
131. *Découverte du premier virus, le virus de la mosaïque du tabac : 1892 ou 1898 ?* **Lecoq, Hervé**. 10, s.l. : Elsevier, 2001, Vol. 324. 10.1016/S0764-4469(01)01368-3.
132. **Institut Pasteur**. Charles Chamberland, l'inventeur. *pasteur.fr*. [Online] [Cited: 04 19, 2022.] <https://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/notre-histoire/charles-chamberland-inventeur>.
133. *An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses*. **Twort, F. W.** Londres, Royaume-Uni : The Lancet, 1915. 10.1016/S0140-6736(01)20383-3.
134. *Past and Future of Phage Therapy and Phage-Derived Proteins in Patients with Bone and Joint Infection*. **Ferry, Tristan et al**. Lyon : MDPI, 2021. 10.3390/v13122414.
135. *Un siècle de recherche sur les bactériophages*. **Ansaldi, Mireille et al**. 1, s.l. : Virologie, 2020, Vol. 24. 10.1684/vir.2020.0809.
136. *The therapeutic value of bacteriophage in the treatment of bacillary dysentery*. **Spence, RC. and McKinley, EB**. s.l. : Southern Medical Journal, 1924. 10.1097/00007611-192408000-00005.
137. *Le traitement des dysenteries bacillaires par le bactériophage*. **Da Costa Cruz, J**. s.l. : Comptes rendus des séances de la Société de Biologie et de ses filiales, 1924. 91:845-6.
138. **Institut Pasteur**. Jules Bordet (1870-1961). *pasteur.fr*. [Online] 1919. [Cited: 04 28, 2022.] <https://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/jules-bordet-prix-nobel-1919>.
139. *Bacteriophage therapy - Review of the principles and results of the use of bacteriophage in the treatment of infections*. **Eaton, Monroe D. and Bayne-Jones, Stanhope**. s.l. : JAMA, 1934. 10.1001/jama.1934.72750490003007.
140. *The bacteriophage - Its nature and its therapeutic use*. **Krueger, Albert Paul and Scribner, E. Jane**. s.l. : JAMA, 1941. 10.1001/jama.1941.62820190016010.
141. **Ray, Marie-Céline**. *Infections, le traitement de la dernière chance*. s.l. : Thierry Souccar Editions , 2018. 978-2-36549-320-8.
142. **Nobel Prize**. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969. *nobelprize.org*. [Online] 1969. [Cited: 04 28, 2022.] <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1969/summary/>.
143. **L'Humanité**. Lyon: fermeture de l'Institut Pasteur. *humanite.fr*. [Online] 02 07, 1997. [Cited: 04 28, 2022.] <https://www.humanite.fr/lyon-fermeture-de-linstitut-pasteur-150645>.
144. **Egorov, Boris**. Comment l'URSS a vaincu le choléra en pleine bataille de Stalingrad. *rbth.com*. [Online] 01 09, 2022. [Cited: 04 28, 2022.] <https://fr.rbth.com/histoire/87641-urss-cholera>.
145. *Bacteriophages: Protagonists of a Post-Antibiotic Era*. **Domingo-Calap, Pilar and Delgado-Martinez, Jennifer**. 66, Espagne : Antibiotics, 2018, Vol. 7. 10.3390/antibiotics7030066.
146. *Phagebook: The Social Network*. **Hynes, Alexander P. and Moineau, Sylvain**. s.l. : Elsevier, 2017. 10.1016/j.molcel.2017.02.028..
147. **Bragard, Claude, Ruelle, Jean and Michiels, Thomas**. Initiation à la virologie. *virologie-uclouvain.be*. [Online] [Cited: 04 24, 2022.] <https://www.virologie-uclouvain.be/fr/chapitres/exemples-choisis/phages>.

148. *La phagothérapie, une arme crédible face à l'antibiorésistance*. **Dufour, Nicolas and Debarbieux, Laurent**. 4, Paris : Medecine Sciences, 2017, Vol. 33. 10.1051/medsci/20173304011 .
149. **Gontier, Marie**. Les bactériophages, de leur découverte à leurs utilisations . *planet-vie.ens.fr*. [Online] 09 17, 2021. [Cited: 04 22, 2022.] <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/virologie/les-bacteriophages-de-leur-decouverte-a-leurs-utilisations>.
150. **Nguyen, Van Dung**. *Etude de la classification des bactériophages*. Montréal : Université du Québec à Montréal, 2008. archipel.uqam.ca/1691/1/D1749.
151. *Filamentous phages: masters of a microbial sharing economy*. **Hay, Iain D. and Lithgow, Trevor**. s.l. : EMBO , 2019. 10.15252/embr.201847427.
152. *Primary Isolation Strain Determines Both Phage Type and Receptors Recognised by Campylobacter jejuni Bacteriophages*. **Holst Sorensen, Martine C. et al.** s.l. : PLOS ONE, 2015. 10.1371/journal.pone.0116287.
153. **Larousse**. Définition Lysotypie. *larousse.fr*. [Online] [Cited: 04 29, 2022.] <https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/lysotypie/14312#:~:text=Technique%20de%20laboratoire%20qui%20permet,l%C3%A9clatement%20de%20la%20cellule>.
154. *Bacteriophage Therapy: Developments and Directions*. **Nikolich, Mikelkon P., Filippov and A., Andrey**. Etats-Unis : MDPI, 2020. 10.3390/antibiotics9030135..
155. *A simple method to test condoms for penetration by viruses*. **Lytle, C.D. et al.** 9, s.l. : American Society for Microbiology, 1992, Vol. 58. 10.1128/aem.58.9.3180-3182.1992.
156. *Bacteriophage T4 nanoparticules for vaccine delivery against infectious diseases*. **Tao, Pan et al.** s.l. : Elsevier, 2019, Vol. 145. 10.1016/j.addr.2018.06.025.
157. *Bacteriophage T4 Vaccine Platform for Next-Generation Influenza Vaccin Development*. **Li, Mengling et al.** s.l. : Frontiers in Immunology, 2021. 10.3389/fimmu.2021.745625.
158. *Phages for Biofilm Removal*. **Ferriol-Gonzalez, Celia and Domingo-Calap, Pilar**. 5, Basel, Suisse : MDPI, 2020, Vol. 9. 10.3390/antibiotics9050268.
159. *Phage Pharmacokinetics: Relationship with administration route*. **Matsuzaki, Shigenobu and Uchiyama, Jumpei**. s.l. : Springer, 2019. 10.1007/978-3-030-26736-0_2.
160. *Phage therapy experience at the Eliava Phage Therapy Center: three cases of bacterial persistence*. **Zaldastanishvili, Elisabed et al.** 1901, Tbilissi, Géorgie : MDPI, 2021, Vol. 13. 10.3390/v13101901.
161. *Les applications antibactériennes des bactériophages*. **Ansaldi, Mireille et al.** s.l. : HAL, 2020. 10.1684/vir.2019.0805.
162. *Phage-Antibiotic Synergy (PAS): bêta-lactam and quinolone antibiotics stimulate virulent phage growth*. **Comeau, André M. et al.** s.l. : PLOS ONE, 2007. 10.1371/journal.pone.0000799.
163. *Evolutionary Rationale for Phages as Complements of Antibiotics*. **Torres-Barcelo, Clara and Hochberg, Michael**. s.l. : Elsevier, 2016. 10.1016/j.tim.2015.12.011.
164. *Le Clostridium difficile : pathogène ou parasite ?* **Canadian Paediatric Society**. 6, s.l. : Canadian Paediatric Society , 2000, Vol. 5. PMC2819955.
165. *Exploitation du potentiel des bactériophages dans le traitement des surfaces en contact avec l'eau, contaminées par un biofilm de P. aeruginosa*. **Magin, Vanessa**. Nantes : HAL, 2019. tel-02391184.
166. **VetoPhage**. Page d'accueil. *vetophage.fr*. [Online] [Cited: 05 01, 2022.] <https://vetophage.fr/>.
167. *Phage Therapy as a Focused Management Strategy in Aquaculture*. **Ramos-Vivas, José et al.** Espagne : MDPI, 2021. 10.3390/ijms221010436.
168. **ACD Pharma**. Bacteriophages - CUSTUS YRS. *acdpharma.com*. [Online] [Cited: 05 01, 2022.] <https://acdpharma.com/custusyrs-eng/>.
169. *Antibacterial Bioagents Based on Principles of Bacteriophage Biology: An Overview*. **Knoll, Bettina M. and Mylonakis, Eleftherios**. 4, s.l. : Clinical Infectious Diseases, 2014, Vol. 58. 10.1093/cid/cit771.
170. **Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail**. *Avis relatif à l'utilisation des phages dans les denrées alimentaires d'origine animale pour lutter contre les Listeria*. s.l. : ANSES, 2014. ANSES/PR1/9/01-06 .
171. **Intralytix**. News. *intralytix.com*. [Online] [Cited: 04 30, 2022.] <http://www.intralytix.com/index.php?page=news>.
172. *Phages in the global fruit and vegetable industry*. **Zaczek, M. et al.** 3, Pologne : The Society for Applied Microbiology, 2015, Vol. 118. 10.1111/jam.12700.
173. **AgriPhage**. AgriPhage, Fire Blight. *agriphage.com*. [Online] [Cited: 05 01, 2022.] <https://www.agriphage.com/product-info/fireblight/>.
174. **PhageFire**. PhageFire. *phagefire.eu*. [Online] 08 2020. [Cited: 05 01, 2022.] <https://www.phagefire.eu/>.

175. **CORDIS**. An effective and environmentally friendly solution to control fire blight disease caused by *Erwinia amylovora* in pome fruit crops. *cordis.europa.eu*. [Online] 08 01, 2020. [Cited: 05 01, 2022.] <https://cordis.europa.eu/project/id/958645/fr>.
176. **Gourmelon, Michèle**. *Etude de la contamination microbiologique du milieu littoral : identification des sources de contamination fécale et évaluation de la persistance des bactéries entériques dans l'environnement*. s.l. : Université de Bretagne Occidentale, 2014. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00256/36764/35369.pdf>.
177. **ISO**. ISO 10705-1: 1995; Qualité de l'eau, Détection et dénombrement des bactériophages . *iso.org*. [Online] 08 1995. [Cited: 04 26, 2022.] <https://www.iso.org/fr/standard/18794.html#:~:text=La%20pr%C3%A9sente%20partie%20de%20l,boues%2C%20si%20n%C3%A9cessaire%20apr%C3%A8s%20dilution..>
178. *Isolation of bacteriophage host strains of Bacteroides species suitable for tracking sources of animal faecal pollution in water*. **Gomez-Donate, Marta et al.** Barcelone, Espagne : Epub, 2011. 10.1111/j.1462-2920.2011.02474.x.
179. **ANSES**. *Note d'appui scientifique et technique de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail*. s.l. : ANSES, 2020. ANSES/PR1/9/04-03.
180. *Bacteriophages, potential for application in wastewater treatment processes*. **Withey, S. et al.** s.l. : Elsevier, 2005, Vol. 339. 10.1016/j.scitotenv.2004.09.021.
181. **CRIOAC Lyon**. PHAGEinLYON et la fondation HCL. *crioac-lyon.fr*. [Online] 2022. [Cited: 05 08, 2022.] <https://www.crioac-lyon.fr/phageinlyon-fondation-hcl/>.
182. **UC San Diego School of Medicine**. Center for Innovative Phage Applications and Therapeutics. *medschool.ucsd.edu*. [Online] 2022. [Cited: 05 06, 2022.] <https://medschool.ucsd.edu/som/medicine/divisions/idgph/research/center-innovative-phage-applications-and-therapeutics/about/Pages/default.aspx>.
183. **Pherecydes Pharma**. Pherecydes Pharma annonce l'autorisation d'un 1^{er} traitement compassionnel avec ses phages à l'international. *pherecydes-finance.com*. [Online] 04 28, 2022. [Cited: 05 08, 2022.] https://www.pherecydes-finance.com/images/PDF/cp/fr/2022/CP_Pherecydes_SMPA_28-04-2022.pdf.
184. **Bacteriophage News**. Bacteriophage Bank of Korea. *bacteriophage.news*. [Online] 2022. [Cited: 05 08, 2022.] <https://www.bacteriophage.news/database/bacteriophage-bank-of-korea/>.
185. **Clinicaltrials**. Studies founds for: phage . *clinicaltrials.gov*. [Online] 2022. [Cited: 05 08, 2022.] <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=phage&recrs=ab>.
186. **Pherecydes Pharma**. Pherecydes Pharma publie ses résultats financiers annuels 2021 et confirme ses perspectives 2022. *pherecydes-finance.com*. [Online] 04 14, 2022. [Cited: 05 05, 2022.] https://www.pherecydes-finance.com/images/PDF/cp/fr/CP_Pherecydes_FYR-2021_FR_140422.pdf.
187. **My Bacteriophage** . Vous cherchez des bactériophages ? . *mybacteriophage.net*. [Online] 2022. [Cited: 05 06, 2022.] <https://fr.mybacteriophage.net/products/intesti-bacteriophage-1-box-5-vials-10-ml?shpxid=2018a383-47e0-486b-9712-88a06e3f9d1b>.
188. **Pherecydes Pharma**. Site de l'entreprise. *pherecydes-pharma.com*. [Online] 2022. [Cited: 05 05, 2022.] <https://www.pherecydes-pharma.com/>.
189. **Vetophage**. Site internet de la société. *vetophage.fr*. [Online] 2022. [Cited: 05 05, 2022.] <https://vetophage.fr>.
190. **Phagos**. Site internet de la société. *phagos.org*. [Online] 2022. [Cited: 05 05, 2022.] <https://www.phagos.org>.
191. **Chaigneau, Cécile**. Deeptech : Bulane, SeqOne et Bactolytix racontent le passage de la paillasse au marché. *objectif-languedoc-roussillon.latribune.fr*. [Online] 01 10, 2020. [Cited: 05 06, 2022.] <https://objectif-languedoc-roussillon.latribune.fr/innovation/innovation-technologique/2020-01-10/deeptech-bulane-seqone-et-bactolytix-racontent-le-passage-de-la-paillasse-au-marche-836882.html>.
192. **LSTM**. La. *umr-lstm.cirad.fr*. [Online] [Cited: 05 06, 2022.] <https://umr-lstm.cirad.fr/>.
193. **Rey, Anthony**. Bactolytix se finance pour diversifier ses solutions de biocontrôle. *lejournaldesentreprises.com*. [Online] 12 01, 2021. [Cited: 05 06, 2022.] <https://www.lejournaldesentreprises.com/occitanie/article/bactolytix-se-finance-pour-diversifier-ses-solutions-de-biocontrole-1716380>.
194. **Chabrol, Elodie**. *Denis Costechareyre, fondateur de Bactolytix*. [Podcast] s.l. : TheMetaNews , 2020. <https://www.youtube.com/watch?v=Tz0h2Mw4sIg>.
195. **VIDAL**. Dictionnaire VIDAL. *avibep.org*. [Online] 1977. [Cited: 05 04, 2022.] <http://avibep.org/wp-content/uploads/2019/06/1977-Vidal.pdf>.
196. **Procaccia, Catherine**. Les Notes Scientifiques de l'Office. *senat.fr*. [Online] 03 2021. [Cited: 05 04, 2022.]

- https://www.senat.fr/fileadmin/Fichiers/Images/opecest/quatre_pages/OPECST_2021_0011_note_phagothérapie.pdf.
197. *Phage Therapy Regulation: From Night to Dawn*. **Fauconnier, Alan**, 4, Belgique : MDPI, 2019, Vol. 11. 10.3390/v11040352.
198. **Code de la Santé Publique**. Livre Ier : Produits pharmaceutiques . *legifrance.gouv.fr*. [Online] 03 23, 2022. [Cited: 05 04, 2022.] https://www.legifrance.gouv.fr/codes/section_lc/LEGITEXT000006072665/LEGISCTA000006125349/#L-EGISCTA000006125349.
199. **European Medicines Agency**. Good manufacturing practice. *ema.europa.eu*. [Online] [Cited: 05 04, 2022.] <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/compliance/good-manufacturing-practice>.
200. **INPI**. Comprendre le brevet. *inpi.fr*. [Online] [Cited: 05 05, 2022.] <https://www.inpi.fr/fr/comprendre-la-propriete-intellectuelle/le-brevet/ce-qui-est-brevetable-ou-pas>.
201. **Pherecydes Pharma**. Pherecydes Pharma obtient un nouveau brevet pour ses phages anti-Pseudomonas aeruginosa en Europe. *pherecydes-finance.com*. [Online] 03 22, 2022. [Cited: 05 05, 2022.] https://www.pherecydes-finance.com/images/PDF/cp/fr/2022/CP_PherecydesPharma_Brevets_Europe_22032022.pdf.
202. —. Pherecydes Pharma étend sa propriété intellectuelle en Chine avec le 1er brevet accordé pour ses phages anti-Pseudomonas aeruginosa sur ce territoire. *pherecydes-finance.com*. [Online] 03 08, 2022. [Cited: 05 05, 2022.] https://www.pherecydes-finance.com/images/PDF/cp/fr/2022/CP_PherecydesPharma_Brevets_Chine.pdf.
203. —. Pherecydes Pharma continue de renforcer sa propriété intellectuelle avec un premier brevet accordé en Chine, pour ses phages anti-Staphylococcus aureus. *pherecydes-finance.com*. [Online] 12 16, 2021. [Cited: 05 05, 2022.] https://www.pherecydes-finance.com/images/PDF/cp/fr/CP_PherecydesPharma_Brevets_SA_CHINE_FR_161221.pdf.
204. —. Pherecydes Pharma renforce sa propriété intellectuelle avec le premier brevet accordé pour ses phages anti-Staphylococcus aureus en Israël et fait un point sur le calendrier de développement de cette famille de phages. *pherecydes-finance.com*. [Online] 11 29, 2021. [Cited: 05 05, 2022.] https://www.pherecydes-finance.com/images/CP_PherecydesPharma_Brevet-SA-Israel_FR.pdf.
205. —. Pherecydes Pharma renforce son portefeuille de brevets avec deux nouveaux brevets accordés aux Etats-Unis. *pherecydes-finance.com*. [Online] 02 16, 2021. [Cited: 05 05, 2022.] https://www.pherecydes-finance.com/images/PDF/cp/fr/210216-CP_PherecydesPharma_Brevets_US.pdf.
206. **European Medicines Agency**. *Workshop on the therapeutic use of bacteriophages*. Londres : European Medicines Agency, 2015. EMA/389257/2015.
207. **Monribot, Anthia et al**. *Les bactériophages en pratique clinique : suivez le guide ! De l'approvisionnement à l'administration*. Paris : Centre National Hospitalier d'Information sur le Médicament (CNHIM), 2021. https://cnhim.org/wp-content/uploads/2021/10/Guide_Pratique_sur_les_bacteriophages_2021.pdf.
208. **ANSM**. *Comité Scientifique Spécialisé Temporaire - Phagothérapie*. Paris : ANSM, 2016. CSST201611013.
209. **VIDAL**. Prescription et délivrance des médicaments : autorisation temporaire d'utilisation (ATU) - archives. *vidal.fr*. [Online] 06 2021. [Cited: 05 05, 2022.] <https://www.vidal.fr/infos-pratiques/prescription-et-delivrance-des-medicaments-autorisation-temporaire-d-utilisation-atu-archives-id14188.html>.
210. **ANSM**. Demande d'autorisation d'accès compassionnel. *ansm.sante.fr*. [Online] 04 12, 2022. [Cited: 05 05, 2022.] <https://ansm.sante.fr/vos-demarches/professionel-de-sante/demande-dautorisation-dacces-compassionnel>.
211. —. *Comité scientifique spécialisé temporaire*. Paris : ANSM, 2019.
212. **European Medicines Agency**. *Concept paper on quality, safety and efficacy of bacteriophages as veterinary medicines*. s.l. : EMA, 2022. EMA/CVMP/NTWP/438290/2021.
213. **Lucky vitamin**. GI de Florassist . *luckyvitamin.com*. [Online] 2022. [Cited: 05 08, 2022.] https://fr.luckyvitamin.com/p-1853935-life-extension-florassist-gi-with-phage-technology-probiotic-30-vegetarian-liquid-capsule-s?LangageCode=FR&locale=fr-FR&gclid=EAIaIQobChMIoo3F8cDP9wIVCRkGAB0TrQO8EAQYAiABEgJKpPD_BwE.
214. **Droit National**. Décret n°2006-352 du 20 mars 2006 relatif aux compléments alimentaires. *legifrance.gouv.fr*. [Online] 04 14, 2011. [Cited: 05 08, 2022.] <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000000638341/>.

215. **Agence Fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire.** Bactériophages. *favv-afscab.be*. [Online] 12 17, 2019. [Cited: 05 08, 2022.] <https://www.favv-afscab.be/professionnels/denreesalimentaires/bacteriophages/>.
216. **FDA.** Agence Response Letter GRAS Notice No. GRN 000603. *fda.gov*. [Online] 07 28, 2016. [Cited: 05 08, 2022.] <https://www.fda.gov/food/gras-notice-inventory/agency-response-letter-gras-notice-no-grn-000603>.
217. **Commission Européenne.** *VIROPLANT*. 2019. Ref. Ares(2019)6772963 .
218. **Droit National.** Décret n° 2011-509 du 10 mai 2011 fixant les conditions d'autorisation et d'utilisation des auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine. *legifrance.gouv.fr*. [Online] 2022. [Cited: 05 08, 2022.] <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000023982083/>.
219. **Commission Européenne.** Commission Regulation on the use of Listex™ P100 against Listeria in ready-to-eat food products. *ec.europa.eu*. [Online] 07 2017. [Cited: 05 08, 2022.] https://ec.europa.eu/info/law/better-regulation/have-your-say/initiatives/1404-Commission-Regulation-on-the-use-of-Listex%E2%84%A2-P100-against-Listeria-in-ready-to-eat-food-products/F2074_fr.9505781573-45.
220. **Journal Officiel de l'Union Européenne.** RÈGLEMENT (CE) No 1333/2008 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 16 décembre 2008 sur les additifs alimentaires. *eur-lex.europa.eu*. [Online] 12 31, 2008. [Cited: 05 08, 2022.] <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1333&from=RO#:~:text=II%20couvre%20l'utilisation%20d,et%20l'utilisation%20de%20certains>.
221. **Génie Alimentaire.** Additifs et Auxiliaires technologiques. *genie-alimentaire.com*. [Online] 01 2021. [Cited: 05 08, 2022.] <https://genie-alimentaire.com/spip.php?rubrique22#:~:text=Les%20additifs%20alimentaires%20sont%20des,ajout%C3%A9s%20intentionnellement%20aux%20produits%20alimentaires..>
222. *Phage therapy gets revitalized.* **Reardon, Sara.** s.l. : Nature, 2014, Vol. 510. 10.1038/510015a.
223. *What are the limitations on the wider therapeutic use of phage?* **Henein, Alexandra.** Royaume-Uni : Landes Bioscience, 2013. 10.4161/bact.24872.
224. *Phage therapy: concept to cure.* **Keen, Eric C.** 238, Japon : Frontiers in microbiology, 2012, Vol. 3. 10.3389/fmicb.2012.00238.
225. *Bacteriophages: the possible solution to treat infections caused by pathogenic bacteria.* **El-Shibiny, Ayman and El-Sahhar, Salma.** s.l. : Canadian Journal of Microbiology, 2017. 10.1139/cjm-2017-0030.
226. *Limitations of Phage Therapy and Corresponding Optimization Strategies: A Review.* **Lin, Jiaxi et al.** 6, s.l. : Molecules, 2022, Vol. 27. 10.3390/molecules27061857.
227. *Bacteriophage: time to re-evaluate the potential of phage therapy as a promising agent to control multidrug-resistant bacteria.* **Ghannad, Masoud Sabouri and Mohammadi, Avid.** s.l. : Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 2012. PMID: 23494063.
228. *Development of a Bacteriophage Cocktail to Constrain the Emergence of Phage-Resistant Pseudomonas aeruginosa.* **Yang, Yuhui et al.** 2020. 10.3389/fmicb.2020.00327.
229. *Remarkable Mechanisms in Microbes to Resist Phage Infections.* **Dy, Ron L. et al.** s.l. : Annual Reviews, 2014. 10.1146/annurev-virology-031413-085500.
230. *CRISPR/Cas et la restriction/modification dans la résistance au transfert conjugatif chez Enterococcus faecalis.* **Friot, Adèle et al.** 5, Lyon : Médecine sciences, 2018, Vol. 34. 10.1051/medsci/20183405008.
231. **Agence Nationale de Sécurité Sanitaire Alimentation Environnement Travail.** *AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'utilisation des phages dans les denrées alimentaires d'origine animale pour lutter contre les Listeria.* s.l. : ANSES, 2014. Saisine n° 2013-SA-0111.
232. *Antibody Production in Response to Staphylococcal MS-1 Phage Cocktail in Patients Undergoing Phage Therapy.* **Zaczek, Maciej et al.** Pologne : Frontiers in Microbiology, 2016. 10.3389/fmicb.2016.01681.
233. **Dublanchet, Alain and Patey, Olivier.** La Phagothérapie. *edimark.fr*. [Online] 2015. [Cited: 05 09, 2022.] <https://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/23168.pdf>. <https://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/23168.pdf>.
234. *Biodistribution of Liposome-Encapsulated Bacteriophages and Their Transcytosis During Oral Phage Therapy.* **Otero, Jennifer et al.** Barcelone, Espagne : Frontiers in Microbiology, 2019. 10.3389/fmicb.2019.00689.

235. **Phage Consultants.** Phage Consultants - Contamination problems ? We solve them. *phageconsultants.com*. [Online] 2022. [Cited: 05 09, 2022.] <https://phageconsultants.com/>.
236. *Les produits fermentés : une tendance du marché de l'alimentaire et des opportunités à saisir.* **Letaconnou, Nathalie.** 134, Rennes : Chambres d'agriculture de Bretagne, 2019. ISSN 1299 - 8095.
237. **Hospices Civils de Lyon.** Antibiorésistance : le projet PHAG-ONE reçoit 2,85M€. *chu-lyon.fr*. [Online] 09 06, 2021. [Cited: 05 08, 2022.] <https://www.chu-lyon.fr/antibioresistance-projet-phag-one>.
238. **Pherecydes Pharma.** Le projet PhagECOLI de Pherecydes Pharma et du CEA reçoit une subvention de 2 M€ de Bpifrance . *pherecydes-finance.com*. [Online] 01 03, 2022. [Cited: 05 09, 2022.] https://www.pherecydes-finance.com/images/PDF/cp/fr/2022/CP_PhagECOLI_03-01-22.pdf.
239. —. Pherecydes Pharma obtient un financement non dilutif de 2 millions d'euros de Bpifrance. *pherecydes-finance.com*. [Online] 04 29, 2021. [Cited: 05 09, 2022.] https://www.pherecydes-finance.com/images/PDF/cp/fr/CP_PGE_BPI_290421.pdf.
240. **Pherecyde Pharma.** Très vif succès de l'introduction en bourse de Pherecydes Pharma sur Euronext Growth® à Paris. *pherecydes-finance.com*. [Online] 02 02, 2021. [Cited: 05 09, 2022.] https://www.pherecydes-finance.com/images/PDF/cp/fr/CP_PherecydesPharma_Resultat_IPO_vff.pdf.
241. **CORDIS.** Evaluation of phage therapy for the treatment of Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa burn wound infections (Phase I-II clinical trial). *cordis.europa.eu*. [Online] 11 16, 2017. [Cited: 05 10, 2022.] <https://cordis.europa.eu/project/id/601857/reporting/fr>.
242. **Adaptive Phage Therapeutics.** Adaptive Phage Therapeutics Extends Series B to \$61 million with Addition of The AMR Action Fund. *aphage.com*. [Online] 04 04, 2022. [Cited: 05 09, 2022.] <https://www.aphage.com/adaptive-phage-therapeutics-extends-series-b-to-61-million-with-addition-of-the-amr-action-fund/>.
243. **The Fish Site.** Bacteriophage startup secures €21 million funding. *thefishsite.com*. [Online] 08 10, 2021. [Cited: 05 08, 2022.] <https://thefishsite.com/articles/bacteriophage-startup-secures-21-million-poland-antibiotics-aquaculture>.
244. **Testa, Laura.** Phage Technologies' \$30 million round funding. *globallegalchronicle.com*. [Online] 07 23, 2021. [Cited: 05 09, 2022.] <https://globallegalchronicle.com/phage-technologies-30-million-round-funding/>.
245. **Le Monde.** A Lyon, des virus vont être produits pour lutter contre les bactéries résistantes aux antibiotiques. *lemonde.fr*. [Online] 09 13, 2021. [Cited: 05 10, 2022.] https://www.lemonde.fr/sciences/article/2021/09/13/a-lyon-des-virus-vont-etre-produits-pour-lutter-contre-les-bacteries-resistantes-aux-antibiotiques_6094523_1650684.html.
246. **Libération.** Phagothérapie : la revanche des virus guérisseurs. *liberation.fr*. [Online] 01 21, 2020. [Cited: 05 10, 2022.] https://www.liberation.fr/france/2020/01/21/phagotherapie-la-revanche-des-virus-guerisseurs_1774404/.
247. **Ouest France.** Lutte contre les infections à E. Coli : deux millions d'euros pour Pherecydes. [Online] 01 05, 2022. [Cited: 05 10, 2022.] <https://www.ouest-france.fr/pays-de-la-loire/nantes-44000/lutte-contre-les-infections-a-e-coli-deux-millions-d-euros-pour-pherecydes-d82c7240-6e3c-11ec-a4db-c0a40b2c0402>.
248. **Sciences et Avenir.** Phagothérapie : des virus contre les bactéries résistantes aux antibiotiques. *sciencesetavenir.fr*. [Online] 02 25, 2016. [Cited: 05 10, 2022.] https://www.sciencesetavenir.fr/sante/phagotherapie-des-virus-contre-les-bacteries-resistantes-aux-antibiotiques_30055.
249. **Notre Temps.** La phagothérapie, pour vaincre les bactéries résistantes. *notretemps.com*. [Online] 04 2021, 2021. [Cited: 05 10, 2022.] <https://www.notretemps.com/sante-bien-etre/medecine/la-phagotherapie-pour-vaincre-les-bacteries-resistantes-16907>.
250. **Radio France.** Bactériophage, à table ! *radiofrance.fr*. [Online] 11 15, 2021. [Cited: 05 10, 2022.] <https://www.radiofrance.fr/franceculture/podcasts/la-methode-scientifique/bacteriophage-a-table-8093875>.
251. **Arte.** L'incroyable histoire des tueurs de bactéries. *boutique.arte.tv*. [Online] 2019. [Cited: 05 10, 2022.] https://boutique.arte.tv/detail/incroyable_histoire_tueurs_bacteries.
252. **TEDx Talks.** Ce virus m'a sauvé la vie - Christophe Novou dit Picot - TEDxUniversitedeTours. *youtube.com*. [Online] 02 15, 2020. [Cited: 05 10, 2022.] <https://www.youtube.com/watch?v=MisZJqS3wbU>.
253. *A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens.* **Wittebole, Xavier, De Roock, Sophie and Opal, Steven M.** s.l. : Virulence, 2014. 10.4161/viru.25991.
254. *The use of phages for the removal of infectious biofilms.* **Azeredo, J. and Sutherland, I. W.** s.l. : Current Pharmaceutical Biotechnology, 2008. 10.2174/138920108785161604.

255. *Phage-Antibiotic Synergy Is Driven by a Unique Combination of Antibacterial Mechanism of Action and Stoichiometry*. **Gu Liu, Carmen et al.** 4, s.l. : mBio, 2020, Vol. 11. 10.1128/mBio.01462-20..
256. *Enhancing phage therapy through synthetic biology and genome engineering*. **Lenneman, Bryan R. et al.** s.l. : Elsevier, 2021, Vol. 68. 10.1016/j.copbio.2020.11.003.
257. *Genetic Engineering of Bacteriophages Against Infectious Diseases*. **Chen, Yibao et al.** s.l. : Frontiers in Microbiology, 2019. 10.3389/fmicb.2019.00954.
258. *Engineering Modular Viral Scaffolds for Targeted Bacterial Population Editing*. **Ando, Hiroki et al.** 3, s.l. : Cell Systems, 2015, Vol. 1. 10.1016/j.cels.2015.08.013.
259. **Eligo Bioscience**. Site internet de l'entreprise. *eligo.bio*. [Online] 2022. [Cited: 05 11, 2022.] <https://eligo.bio/>.
260. **Viruses of Microbes**. A glimpse of VoM2022! *vom2022.org*. [Online] 2022. [Cited: 05 08, 2022.] <https://www.vom2022.org/>.
261. *Characterization of bacteriophage VVP001 and its application for the inhibition of Vibrio vulnificus causing seafood-borne diseases*. **Kim, Hye-Jin et al.** s.l. : Elsevier, 2021, Vol. 94. 10.1016/j.fm.2020.103630.
262. **PhageAI**. Site internet de l'entreprise. *phage.ai*. [Online] 2022. [Cited: 05 11, 2022.] <https://phage.ai>.
263. **Phelix**. Notre test : le "Phage-Based Test" . *phelix.info*. [Online] 2022. [Cited: 05 11, 2022.] <http://phelix.info/fr/nos-projets/notre-test-le-phage-based-test/>.
264. **Académie de Médecine**. Annotation structurale du génome. *academie-medecine.fr*. [Online] 2022. [Cited: 05 07, 2022.] <https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=annotation%20structurale%20du%20g%C3%A9nome>.
265. —. Annotation fonctionnelle du génome. *academie-medecine.fr*. [Online] 2022. [Cited: 05 07, 2022.] <https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=annotation%20fonctionnelle%20du%20g%C3%A9nome>.
266. **Futura Santé**. Biologie moléculaire : qu'est ce que c'est ? *futura-sciences.com*. [Online] 2022. [Cited: 05 09, 2022.] <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-biologie-moleculaire-104/>.
267. **R.E.D. Laboratories**. Phelix Phage Test - factors potentially impacting the results. *blog.redlaboratories.be*. [Online] 05 02, 2022. [Cited: 05 11, 2022.] <http://blog.redlaboratories.be/2022/05/phelix-phage-test-factors-potentially.html>.

Annexes

Annexe 1 – Tableau des différentes familles d’antibiotiques

Annexe 2 – Détails du calcul du marché mondial de l’antibiothérapie selon différentes études de marché

Annexe 3 – Charge annuelle des infections par des bactéries résistantes présentant un danger de santé publique recensées en 2015 en Europe

Annexe 4 – Rémunération annuelle des médecins travaillant sur les maladies infectieuses et le VIH par rapport à d’autres domaines médicaux aux États-Unis

Annexe 5 – Détails des différents axes de la Stratégie nationale 2022-2025 de prévention des infections et de l’antibiorésistance

Annexe 6 – Monographie belge sur les phages « active pharmaceutical ingredients »

Annexe 7 – Abstract du poster présenté en juin prochain – Rime Bioinformatics

Annexe 8 – Poster de l’étude preuve de concept sur l’annotation de phages par Rime Bioinformatics

Annexe 1 – Tableau des différentes familles d’antibiotiques (*Antibio-responsable.fr*, 2018)

ANTIBIO-RESPONSABLE.FR LE PORTAIL D'INFORMATION ET DE PROMOTION DU JUSTE USAGE DES ANTIBIOTIQUES		TABLEAU DES ANTIBIOTIQUES			
		FAMILLE	DCI		
INHIBITEURS DE LA SYNTHÈSE DES ENVELOPPES BACTÉRIENNES	BÉTA-LACTAMINES	PÉNICILLINES	Pénicillines du groupe A	Amoxicilline Amoxicilline + Acide clavulanique Ampicilline Ampicilline + Sulbactam	
			Pénicillines du groupe G ET V	Benzathine benzylpenicilline Benzathine pénicilline (forme long retard) Benzathine phenoxyméthylpenicilline Pénicillines G = benzylpenicilline sodique Pénicilline V	
			Pénicillines du groupe M	Cloxacilline Oxacilline	
			Carboxypénicillines	Ticarilline Ticarilline + Acide clavulanique	
			Urédopénicillines	Pipéracilline Pipéracilline + Tazobactam	
			Aminidopénicillines	Pivmécilline	
			Témocilline	Témocilline	
			CARBAPÉNÈMES	Ertapénème Imipénème + Cilastatine Méropénème	
			MONOBACTAME	Aztréonam	
		CÉPHALOSPORINES	Céphalosporines de 1 ^{ère} génération (C1G)	Céfadroxil Céfadroxil Céfalotine Céfalotine Céfazoline Céfradine	
				Céfalmandole Céfoxitine Céfuroxime sodique Céfuroxime axétil	
			Céphalosporines de 3 ^{ème} génération (C3G)	C3G orales	Céfème Cefpodoxime proxétile Céfodiam hexétile
				C3G injectables	Céfépime Céftaxime Cefpirome Ceftazidime Ceftriaxone
			FOSFOMYCINE	Fosfomycine Fosfomycine trométamol	
	GLYCOPEPTIDES	Teicoplanine Vancomycine			
	LIPOPEPTIDE	Daptomycine			
	POLYMYXINES	Polymyxine E ou colistine			
INHIBITEURS DE LA SYNTHÈSE DES PROTÉINES	AMINOSIDES		Amikacine sulfate Gentamicine Neomycine (associée) Nétilmycine Spectinomycine Streptomycine Tobramycine		
	MACROLIDES ET APPARENTÉS	MACROLIDES VRAIS	Amphotéricine B Azithromycine Clarithromycine Erythromycine Josamycine Médécamycine Roxithromycine		
		LINCOSAMIDES	Clindamycine Lincomycine		
		KÉTOLIDES	Téolithromycine		
		SYNERGISTINES	Pristinamycine		
	PHÉNICOLÉS		Thiampénicol		
	CYCLINES		Chlortétracycline Doxycycline Lymécycline Méthylène-tétracycline Minocycline Tigécycline		
	ACIDES FUSIDIQUES		Acide fusidique		
	OXAZOLIDINONES		Linézolide Tedizolid		
	INHIBITEURS DE LA SYNTHÈSE DES ACIDES NUCLÉIQUES	QUINOLONES	QUINOLONES URINAIRES	QUINOLONES 1 ^{ÈRE} GÉNÉRATION	Acide pipémidique Flumésaquine
			FLUOROQUINOLONES	Enoxacine Loméfloxacine Norfloxacine	
QUINOLONES SYSTÉMIQUES			FLUOROQUINOLONES	Ciprofloxacine Ofloxacine Péfloxacine	
		QUINOLONES ANTIPNEUMOCOCCIQUES	FLUOROQUINOLONES	Lévofloxacine Moxifloxacine	
QUINOLÉINES		Hydroxyquinoléine			
MUPIROCINE		Mupirocine			
AUTRES		Rifamycine			
INHIBITEURS DE LA SYNTHÈSE DE L'ACIDE FOLIQUE	SULFAMIDES		Sulfadiazine Sulfadiazine + Pyriméthamine Sulfaméthizol Sulfafurazole + Erythromycine Sulfaméthoxazole + Triméthoprim (Cotrimoxazole)		
MÉCANISMES COMPLEXES OU MÉCONNUS	PRODUITS NITRÉS	NITROFURANES	Nitrofurantoin Nitrofurazid		
		NITRO-IMIDAZOLES	Métronidazole Ornidazole Tinidazole		
ANTITUBERCULEUX		Éthambutol Isoniazide Isoniazide + Rifampicine Pyrazinamide Pyrazinamide + Isoniazide + Rifampicine Rifabutine Rifampicine			

Toute prescription d'antibiotique a un impact sur les résistances bactériennes, elle doit être justifiée.
Il convient de tenir compte des recommandations officielles concernant l'utilisation appropriée des antibiotiques.

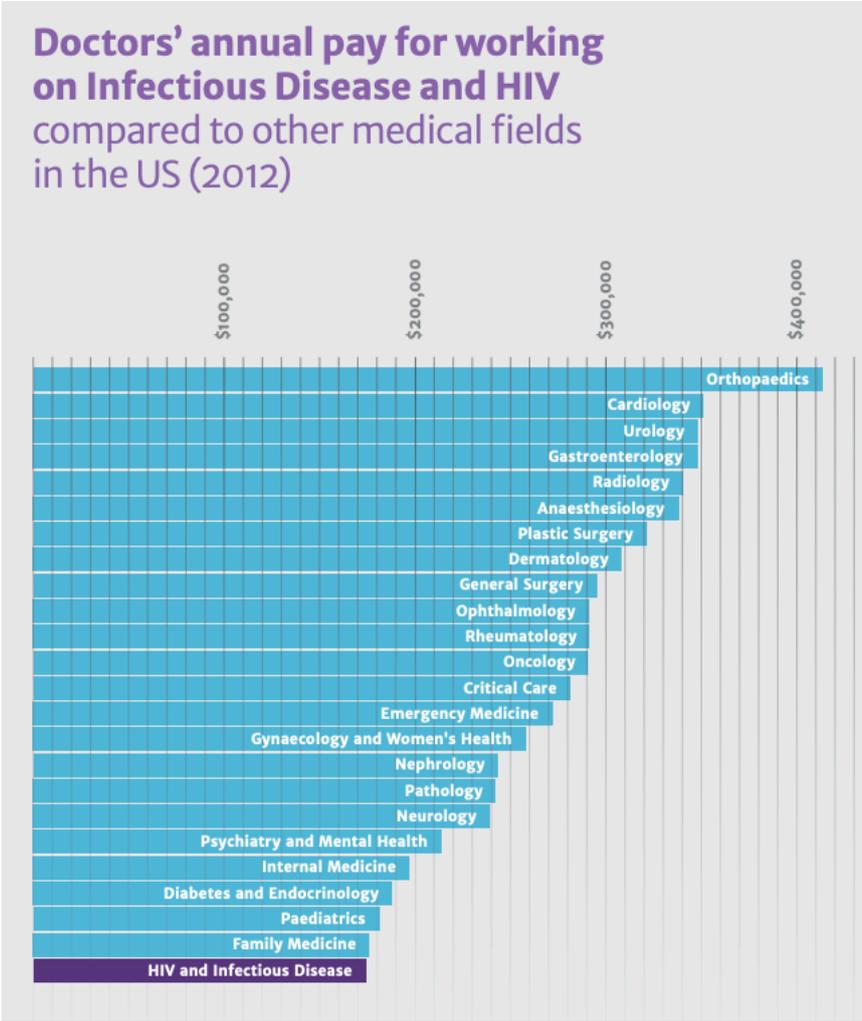
Annexe 2 – Détails du calcul du marché mondial de l'antibiothérapie selon différentes études de marché.

Global antibiotic market size	2020 (\$B)	Projections (2026)	CAGR
<i>Fortune Business Insights</i>	37,35	43,06	2,50%
<i>Research and Markets</i>	46,66	64,39	5,80%
<i>Mordor Intelligence</i>	46,69	63,09	5,14%
<i>Grand View research</i>	40,70	53,00	4,50%
<i>Technavio</i>	28,19	38,65	5,40%
<i>Market Data Forecast</i>	46,80	57,40	4,00%
<i>Research Dive</i>	42,42	56,45	4,00%
<i>The Insight Partners</i>	44,11	55,81	4,00%
<i>Market Research</i>	40,70	59,14	6,50%
<i>Adroit Market Research</i>	46,69	56,77	5,14%
<i>Business Wire</i>	45,08	62,50	5,30%
<i>BCC Research</i>	44,40	70,70	8,10%
<i>Kenneth research</i>	40,85	53,50	4,60%
Moyenne	42,36	56,50	5,00%

Annexe 3 – Charge annuelle des infections par des bactéries résistantes présentant un danger de santé publique recensées en 2015 en Europe (*Cassini, Alessandro et al., The Lancet, 2019, doi : 10.1016/S1473-3099(18)30605-4*)

	Nombre médian d'infections recensées	Nombre médian de décès	Risque de décès lors d'une infection à bactérie résistante (%)
<i>E. coli</i> résistante aux C3G	297416	9066	3,0%
<i>E. coli</i> résistante à la colistine	7156	621	8,7%
<i>E. coli</i> résistante aux carbapénèmes	2619	141	5,4%
<i>S. aureus</i> résistante à la méthicilline (SARM)	148727	7049	4,7%
<i>K. pneumoniae</i> résistante aux C3G	68588	3687	5,4%
<i>K. pneumoniae</i> résistante aux carbapénèmes	15947	2118	13,3%
<i>K. pneumoniae</i> résistante à la colistine	7450	1635	21,9%
<i>P. aeruginosa</i> résistante aux carbapénèmes	61892	4155	6,7%
<i>P. aeruginosa</i> résistante à la colistine	1261,9	84,5	6,7%
<i>P. aeruginosa</i> multirésistante	9028	572	6,3%
<i>A. baumannii</i> résistante aux carbapénèmes	27343	2363	8,6%
<i>A. baumannii</i> multirésistante	2181,5	100	4,6%
<i>S. pneumoniae</i> résistante à la pénicilline	2836	172	6,1%
<i>S. pneumoniae</i> résistante à la pénicilline + macrolides	2013	172	8,5%
<i>E. faecalis</i> / <i>E. faecium</i> résistantes à la vancomycine	16146	1081	6,7%
Total	671689	33110	4,9%

Annexe 4 – Rémunération annuelle des médecins travaillant sur les maladies infectieuses et le VIH par rapport à d'autres domaines médicaux aux États-Unis (*Review on Antimicrobial Resistance, 2015*).



Annexe 5 – Détails des différents axes de la Stratégie nationale 2022-2025 de prévention des infections et de l'antibiorésistance (Ministère des solidarités et de la santé, 2022)

Stratégie nationale 2022-2025 de prévention des infections et de l'antibiorésistance

AXE 1. L'APPROPRIATION PAR LE GRAND PUBLIC DES PRINCIPES DE LA PRÉVENTION DES INFECTIONS ET DE L'ANTIBIORÉSISTANCE

OBJECTIF 1 : Renforcer l'apprentissage sur la prévention des infections et de l'antibiorésistance dès le plus jeune âge

ACTION 1 : Renforcer l'enseignement de la prévention des infections et de l'antibiorésistance dès le plus jeune âge.

Pilote : Mission ministérielle de Prévention des Infections et de l'Antibiorésistance du MSS (MSS/MMPIA)

ACTION 2 : Intégrer la prévention des infections et de l'antibiorésistance dans les événements marquants du parcours du citoyen en devenir.

Pilotes : MSS/MMPIA et MSS/DGS/SP en lien avec MSS/SGMAS

OBJECTIF 2 : Sensibiliser le grand public à la prévention des infections communautaires et des infections associées aux soins ainsi qu'au bon usage des antibiotiques

ACTION 3 : Mettre en œuvre une campagne de promotion de la santé aux niveaux national et régional (en utilisant les techniques de marketing social), dans le cadre d'un programme de communication pluriannuel centré sur le bon usage des antibiotiques, les déterminants et les conséquences de l'antibiorésistance.

Pilote : Santé publique France

ACTION 4 : Diffuser les ressources disponibles pour le grand public.

Pilotes : MSS/MMPIA en lien notamment avec Santé publique France

ACTION 5 : Sensibiliser le grand public aux gestes de prévention des infections communautaires les plus fréquentes dans le but de réduire l'incidence des infections, de prévenir les épidémies saisonnières ainsi que l'antibiorésistance et les risques émergents.

Pilotes : Cnam en lien avec Santé publique France

ACTION 6 : Sensibiliser le grand public afin d'optimiser la prise en charge des infections bénignes.

Pilotes : MSS/MMPIA en lien avec la Cnam et Santé publique France

ACTION 7 : Sensibiliser les parents et les professionnels de la petite enfance à la prévention des infections et de l'antibiorésistance.

Pilotes : MSS/MMPIA et MSS/DGCS/SD2C en lien avec Santé publique France



OBJECTIF 3 : Renforcer la place des organisations nationales régionales et représentants des usagers dans les dispositifs nationaux et régionaux

ACTION 8 : Intégrer à tous les niveaux (national, régional et local) des représentants des usagers dans les instances de pilotage de la prévention des infections et de l'antibiorésistance.

Pilotes : MSS/MMPIA en lien avec les ARS

ACTION 9 : Mobiliser les organisations nationales et régionales intéressées par la prévention des infections et de l'antibiorésistance afin de les associer dans la promotion des différentes actions.

Pilotes : MSS/MMPIA en lien avec les ARS

AXE 2.

DU CITOYEN USAGER DU SYSTÈME DE SANTÉ AU PROFESSIONNEL DU SECTEUR DE LA SANTÉ : UNE CONTINUITÉ NÉCESSAIRE À LA PRÉVENTION DES INFECTIONS ET DE L'ANTIBIORÉSISTANCE



OBJECTIF 1 : Développer le partenariat patient en matière de prévention des infections et de l'antibiorésistance

ACTION 10 : Étudier la pertinence des outils d'information et de formation des usagers (patients, aidants) dans les domaines de la prévention et de la détection des infections

associées aux soins ainsi que du bon usage des antibiotiques.

Pilote : Santé publique France



OBJECTIF 2 : Renforcer la formation des professionnels/administratifs de santé et du médico-social à la prévention des infections et de l'antibiorésistance

ACTION 11 : Renforcer la place de la prévention des infections et de l'antibiorésistance dans la formation initiale des professionnels de santé.

Pilotes : MSS/MMPIA et MSS/DGOS/RH1, en lien avec MESRI/DGESIP

ACTION 12 : Renforcer les connaissances et les compétences des professionnels de santé sur la thématique.

Pilotes : MSS/MMPIA et MSS/DGOS/RH2-RH4

ACTION 13 : Renforcer la formation spécifique des professionnels des structures locales en charge des actions de prévention des infections et de l'antibiorésistance.

Pilotes : MSS/MMPIA et MSS/DGOS/RH1-RH2

ACTION 14 : Renforcer la formation des administratifs de la santé et du médico-social sur la prévention des infections et de l'antibiorésistance en lien avec l'EHESP.

Pilote : MSS/MMPIA

AXE 3.

RENFORCEMENT DE LA PRÉVENTION DES INFECTIONS ET DE L'ANTIBIORÉSISTANCE AUPRÈS DES PROFESSIONNELS DE SANTÉ TOUT AU LONG DU PARCOURS DE SANTÉ DU PATIENT



OBJECTIF 1 : Inciter les professionnels de santé à appliquer et promouvoir les mesures de prévention des infections et l'antibiorésistance

ACTION 15 : Amplifier, diversifier et innover dans les actions de promotion des précautions standard (notamment l'hygiène des mains) dans les trois secteurs de soins.

Pilotes : MSS/MMPIA, MSS/DGOS/PF, MSS/DGCS/SD3 en lien avec Santé publique France (mission nationale concernée) et HAS

ACTION 16 : Adapter et renforcer les actions de prévention des infections et de l'antibiorésistance en ESMS.

Pilotes : MSS/DGCS/SD3 en lien avec Santé publique France, MSS/MMPIA et les ARS

ACTION 17 : Renforcer l'adhésion à la vaccination des personnes cibles et des professionnels de la santé et du médico-social au moyen de campagnes d'information et de sensibilisation en lien avec la stratégie nationale de vaccination.

Pilotes : MSS/DGS/SP en lien avec MSS/MMPIA

ACTION 18 : Inciter tous les professionnels intervenant tout au long du parcours de santé du patient à mettre en place un programme d'actions de prévention et contrôle de l'infection et de bon usage des antibiotiques avec évaluation des actions, incluant l'utilisation et la promotion des outils développés par les missions nationales.

Pilotes : Santé publique France en lien avec MSS/MMPIA et les ARS

ACTION 19 : Explorer de nouvelles pistes d'actions concrètes de prévention et contrôle de l'infection et de bon usage des antibiotiques, dans une perspective interprofessionnelle.

Pilote : MSS/MMPIA



OBJECTIF 2 : Inciter les professionnels au bon usage des antibiotiques

ACTION 20 : Disposer de recommandations professionnelles et outils permettant de guider les pratiques et les diffuser largement.

Pilotes : MSS/MMPIA en lien avec HAS

ACTION 21 : Renforcer l'utilisation d'outils existants d'aide à la prescription par les professionnels de santé pour promouvoir les bonnes pratiques.

Pilotes : MSS/MMPIA, MSS/DGS/PP, MSS/DREES, Santé publique France, Cnam et HAS

ACTION 22 : Développer de nouvelles interventions promouvant le bon usage des antibiotiques.

Pilotes : MSS/MMPIA, MSS/DGS/PP, MSS/DSS/1C et Cnam

ACTION 23 : Établir un cahier des charges d'un système d'aide à la décision médicale pour optimiser les pratiques et favoriser son utilisation, développer des outils numériques promouvant le bon usage des antibiotiques et favoriser leur utilisation.

Pilotes : MSS/DSS/1C en lien avec MSS/MMPIA, MSS/DNS et HAS

AXE 4.

RENFORCEMENT DU MAILLAGE TERRITORIAL DE LA PRÉVENTION ET DU CONTRÔLE DE L'INFECTION ET DU BON USAGE DES ANTIBIOTIQUES



OBJECTIF 1 : Développer les réseaux territoriaux de prévention des infections et de l'antibiorésistance

ACTION 24 : Poursuivre et renforcer la mise en œuvre des actions des centres d'appui CPias et CRAtb.

Pilotes : MSS/MMPIA en lien avec MSS/DGOS/PF et les ARS

ACTION 25 : Poursuivre les actions du réseau national des CPias, mettre en œuvre le réseau national des CRAtb et favoriser la synergie et les partages d'expérience.

Pilotes : MSS/MMPIA en lien avec Santé publique France

ACTION 26 : Mettre en place de nouvelles missions nationales de prévention et surveillance des infections associées aux soins et de l'antibiorésistance en soutien des actions des CPias et des CRAtb, avec détermination des objectifs associés à ces missions.

Pilote : Santé publique France

ACTION 27 : Renforcer les ressources humaines des équipes territoriales et locales spécialisées dans les infections associées aux soins et dans le bon usage des antibiotiques.

Pilotes : MSS/MMPIA en lien avec MSS/DGOS/PF, MSS/DGCS/SD3 et les ARS



OBJECTIF 2 : Renforcer la synergie entre les actions de prévention et contrôle de l'infection et les actions de bon usage des antibiotiques

ACTION 28 : Mettre en place un suivi de la synergie d'actions au niveau régional des CPias et des CRAtb ainsi qu'au niveau local des EMA/référents/EMH/EOH, notamment par les futures missions nationales pilotées par Santé publique France, en soutien des

actions des CPias et des CRAtb, *via* les indicateurs inclus dans les rapports d'activités annuels des CPias et des CRAtb.

Pilotes : MSS/MMPIA et Santé publique France, en lien avec les ARS

AXE 5. UTILISATION PARTAGÉE DES DONNÉES DE SANTÉ ET DE SURVEILLANCE AU SERVICE DE L'ACTION



OBJECTIF 1 : Disposer d'indicateurs utiles aux différents acteurs (autorités sanitaires, professionnels de santé) pour piloter la stratégie nationale, régionale et locale

ACTION 29 : Disposer d'un tableau de bord d'indicateurs avec cibles, pour piloter la stratégie nationale/régionale/locale de prévention et contrôle de l'infection et de bon usage des antibiotiques, et renforcer la diffusion à l'échelle nationale et régionale des données et indicateurs disponibles pour favoriser leur utilisation au service de l'action.

Pilotes : MSS/MMPIA, Santé publique France en lien avec Cnam, MSS/DREES et HAS

ACTION 30 : Développer de nouveaux indicateurs relatifs à la prévention des infections et de l'antibiorésistance et mobiliser les leviers incitatifs existants.

Pilotes : MSS/MMPIA, en lien avec ATIH, Cnam, MSS/DREES, HAS, MSS/DGOS/PF-R et Santé publique France



OBJECTIF 2 : Renforcer la surveillance et partager les pratiques probantes

ACTION 31 : Améliorer la couverture nationale du recueil de données sur l'antibiorésistance.

Pilotes : Santé publique France en lien avec MSS/DGS/PP

ACTION 32 : Renforcer la connaissance des outils d'alerte (e.g. portail des signalements) au travers d'une campagne de sensibilisation des professionnels et du grand public.

Pilotes : MSS/DGS/VSS-MICOM en lien avec Santé publique France

ACTION 33 : Partager les expériences de prévention des infections et de l'antibiorésistance afin d'améliorer les pratiques.

Pilotes : HAS en lien avec Santé publique France et les ARS

AXE 6. POUR UNE RECHERCHE INNOVANTE ET ATTRACTIVE

ACTION 34 : Encourager une recherche transversale, collaborative et interdisciplinaire dans le champ de la prévention des infections et de l'antibiorésistance.

Pilotes : Inserm en lien avec MESRI et MSS

ACTION 35 : Développer et renforcer des secteurs de recherche particuliers.

Pilotes : Inserm en lien avec MESRI et MSS

AXE 7. DÉVELOPPER UNE DIMENSION « PRÉSERVATION DE L'ENVIRONNEMENT » DANS LES ACTIONS DE PRÉVENTION DES INFECTIONS ET DE L'ANTIBIORÉSISTANCE

ACTION 36 : Limiter la pollution environnementale lors de la production des antibiotiques.

Pilotes : MSS/DGS/PP en lien avec MTE

ACTION 37 : Limiter la pollution environnementale lors de l'utilisation des antibiotiques.

Pilotes : MSS/DGS/PP en lien avec MTE

ACTION 38 : Maîtriser la production de déchets liquides ou solides lors des soins, en particulier les déchets d'activité de soin à risque infectieux (DASRI).

Pilotes : MSS/DGS/EA1 en lien avec MSS/DGOS/PF2

AXE 8. VALORISER ET PRÉSERVER LES PRODUITS CONTRIBUANT À LA PRÉVENTION DES INFECTIONS ET À LA MAÎTRISE DE L'ANTIBIORÉSISTANCE

ACTION 39 : Préserver l'arsenal thérapeutique existant en adoptant des mesures incitatives permettant de garantir la disponibilité des antibiotiques dont le brevet est tombé dans le domaine public.

Pilotes : MSS/DGS/PP en lien avec MSS/DSS/1C, MSS/MMPIA et ANSM

ACTION 40 : Explorer les mécanismes incitatifs permettant l'arrivée et le maintien sur le marché de produits et technologies innovants de prévention des infections et de maîtrise de l'antibiorésistance.

Pilotes : MSS/DGS/PP en lien avec MSS/MMPIA, MSS/DSS/SD1, ANSM, HAS et MEFR/DGE

AXE 9. PARTICIPER AU RAYONNEMENT DE LA FRANCE À L'INTERNATIONAL

ACTION 41 : Renforcer la participation du MSS aux événements et initiatives clés sur la thématique.

Pilotes : MSS/DAEI, MSS/MMPIA, MSS/DGS/MAEI

ACTION 42 : Continuer d'explorer la possibilité de financer des instances internationales comme l'OMS ou l'OCDE sur des actions de prévention des infections et de l'antibiorésistance.

Pilotes : MSS/DAEI en lien avec MSS/MMPIA

PHAGE ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS

DEFINITION

Phage active pharmaceutical ingredients (APIs) are pharmaceutical raw materials containing naturally occurring bacteriophages (phages in short), which are viruses that infect bacteria. Phages are composed of proteins that encapsulate a DNA or RNA genome, and may have relatively simple or elaborate structures. Phages replicate within a bacterium following the injection of their genome into its cytoplasm.

Phage APIs are intended for use as active ingredients of phage magistral preparations for *in vivo* treatment of bacterial infections (phage therapy).

Phage APIs are available as aqueous physiological solutions containing natural lytic phages (e.g., saline or glucose solutions) that may contain a buffer or as dried or freeze-dried powder. As active ingredients of magistral preparations, they are intended to be diluted or reconstituted and/or combined with the necessary excipients, in a hospital pharmacy officina, immediately before use on a named patient basis. Dosage forms may consist of capsules, creams, ointments, liquid preparation for oral use, cutaneous application, inhalation or parenteral administration, etc. The excipients needed to formulate these dosage forms must allow the required phage activity during the intended application period.

Each phage API contains one phage strain and various phage strains APIs may be combined into one magistral preparation to broaden the spectrum of activity of the medicine.

The magistral preparation of phage therapy products is a practical way for medical doctors to personalize antibacterial treatments.

This monograph does not apply to phage derived products such as phage endolysins. It does not necessarily apply to phage products for veterinary use or for decontamination purposes.

In addition to the requirements specified in this general monograph, specific requirements for production, in process testing and release testing might be included in individual monographs.

PRODUCTION

MANUFACTURING PROCESS

Phage APIs are generally obtained by propagation in host bacterial strains and are purified using appropriate methods shown to preserve the biological properties of the phages. Phage APIs are manufactured under conditions designed to minimise microbial contamination and phage degradation.

Purification procedures need to be designed to minimize the content of harmful bacterial or culture medium components (e.g., bacterial endotoxins and animal products).

The manufacturing process must be described in detail (equipment, materials, culture media, additives, culture conditions, purification steps,...) in standard operating procedures (SOPs) and must be validated to confirm that the process can reliably output phage APIs of a determined standard.

The following manufacturing process has shown to be suitable for the small-scale production of qualitatively acceptable and safe phage APIs. It is indicative and based on the state of the art and available knowledge from peer reviewed scientific literature.

The manufacturing process comprises various stages.

De novo phage isolation. Natural phages are generally isolated from environmental samples such as sewage and river water or from clinical samples. Usually, the sample, culture medium and phage sensitive host bacteria (typically 10^7 - 10^8 colony forming units (cfu)) are mixed in a sterile container and incubated under appropriate conditions (typically at 37°C for 1-3 h). If justified, a small volume of chloroform is added and the container is further incubated at 4°C for a short period of time (typically for 1 h). Host bacteria are removed using membrane filtration (0.2-0.5 µm) or by centrifugation. Usually, phages are isolated on bacteriophage sensitive bacteria following the 'double agar overlay method'. Phage lysate is mixed with lukewarm (typically 45°C) culture medium containing 0.5-1% agar and a suspension of bacteriophage sensitive host bacteria (typically 10^7 - 10^9 cfu/ml) in a sterile container. This mixture is transferred to a sterile cell culture container with culture medium containing 1-3% agar and incubated under appropriate conditions (typically at 37°C for 12-36 h). The resulting plaques ('clear' zones formed in a lawn of bacterial cells due to lysis by phages) with different morphology are transferred to sterile culture media in sterile containers and incubated under appropriate conditions (typically at 37°C for 1-3 h). If justified, a small volume of chloroform is added and the containers are further incubated at 4°C (typically for 1 h). For each container, a dilution series (typically $\log(0) - \log(-8)$) is made in sterile containers filled with culture medium. A part from each dilution is mixed with lukewarm (typically 45°C) culture medium containing 0.5-1% agar and a suspension of bacteriophage sensitive host bacteria (typically 10^7 - 10^9 cfu/ml) in a sterile container. This lysate mixture is transferred to cell culture containers with culture medium containing 1-3% agar and incubated (typically at 37°C for 12-36 h). Plates showing 1-10 plaques are visually analysed. Again, all plaques with different morphology are transferred to sterile culture medium in sterile containers and incubated (typically at 37°C for 1-3 h). This complete cycle is repeated until phage lysates with one plaque morphotype, containing one phage clone, are obtained (homogeneous plaques).

If warranted, phages can be incited to evolve in vitro to exhibit broader host range or higher lytic activity under physiological conditions (e.g., temperature and pH).

Phage seed lots. Phage seed lots are usually prepared using a slightly modified double-agar overlay method. If justified, another adequate solidifying agent than agar can be used. Monoclonal phage lysate (typically containing 10^3 - 10^5 plaque forming units (pfu)) is mixed with lukewarm (typically 45°C) culture medium containing 0.5-1% agar and a suspension of phage sensitive host bacteria (typically 10^7 - 10^9 cfu/ml) in a sterile container. This mixture is transferred to a sterile cell culture container with culture medium containing 1-3% agar and incubated (typically at 37°C for 12-36 h). If justified, a small volume of chloroform is added and the container is further incubated at 4°C (typically for 1 h). The top agar layer is recuperated and transferred to a sterile container. *Alternatively, buffer solution is added to the top agar layer. The cell culture container is shaken (typically for 1-3 h) and the buffer solution is recuperated.* Bacterial cells and cell debris are removed, usually by centrifugation (e.g., 20 min at 6 000g) followed by membrane filtration (0.2-0.5 µm). Phage seed lots can be stored using validated preservation/storage (cooling, cryopreservation, freeze-drying,...) methods.

Phage APIs. Phage APIs are prepared in the same way as phage seed lots, but starting from characterised and quality controlled phage seed lots instead of phage lysates. If justified, other agreed manufacturing methods can be used. In addition, bioburden as well as the levels of impurities, including endotoxins (especially for Gram negative host bacteria) are minimized using appropriate methods (e.g.

dedicated filters, affinity columns, tangential flow filtration, cesium chloride banding).

QUALITY SYSTEM AND PRODUCTION ENVIRONMENT

Phage seed lots and phage APIs should be manufactured under a quality system.

The manufacturing of phage APIs from phage seed lots takes place in an environment with specified air quality and cleanliness to minimize the risk of contamination. The effectiveness of these measures is validated and monitored. Where phage APIs are exposed to the environment during processing, without a subsequent microbial inactivation or removal process, an air quality with particle counts and microbial colony counts equivalent to those of Grade A as defined in the current European Guide to Good Manufacturing Practice (GMP), Annex 1 and Directive 2003/94/EC is required with, if the system is not closed, a background environment at least equivalent to GMP Grade B in terms of particles and microbial counts. The biosafety level (BSL) is determined by the host bacteria used in the production processes (e.g., BSL-2 for *Pseudomonas aeruginosa*).

EQUIPMENT AND MATERIALS

All equipment and material are designed and maintained to suit its intended purpose and must minimize any hazard to recipients and staff. All critical equipment and technical devices are identified and qualified, regularly inspected and preventively maintained in accordance with the manufacturers' instructions. Where equipment or materials affect critical processing or storage parameters (e.g., temperature, pressure, particle counts and microbial contamination levels), they must be identified and subjected to appropriate monitoring, alerts, alarms and corrective action, as required, to detect malfunctions and defects and to ensure that the critical parameters are maintained within acceptable limits at all times. All equipment with a critical measuring function is calibrated against a traceable standard if available. Maintenance, servicing, cleaning, disinfection and sanitation of all critical equipment are performed regularly and recorded accordingly.

SOPs detail the specifications for all critical materials and reagents. In particular, specifications for culture media, additives (e.g., solutions) and packaging materials are defined. Where applicable, reagents and materials meet compendial requirements and/or documented specifications and the requirements of Regulation 2017/745 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on medical devices and Regulation 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on *in vitro* diagnostic medical devices. Animal component free culture media and additives should preferably be used. If materials of human or animal origin are used, measures to control endogenous and adventitious agents including transmissible spongiform encephalopathy (TSE) agents should be implemented. Material from TSE-relevant animal species should be subjected to a risk assessment to demonstrate that TSE risk factors have been considered and that the risk has been minimized by applying the principles described in the general text Ph. Eur. 5.2.8 and the Note for Guidance on Minimizing the Risk of Transmitting Animal Spongiform Encephalopathy Agents via Human and Veterinary Medicinal Products (EMA/410/01). Compliance to these requirements may be demonstrated on production of a TSE Certificate of suitability granted by the EDQM.

Host bacteria used in the manufacturing process are as safe (or least pathogenic) as possible. Non-lysogenic bacterial strains are used, if possible.

TESTS

Various tests can be applied, but validated tests measuring the identity and quantity of phages, bioburden, bacterial endotoxin levels, pH and, where relevant, water content and residual chloroform of phage APIs, performed by a Belgian Approved Laboratory, are mandatory.

HOST BACTERIA

Identification. State of the art clinical microbiology techniques.

PHAGE SEED LOTS

Phage identification. State of the art DNA or RNA sequencing and genome analysis. When reliable *in silico* morphology prediction is not possible, phage morphology should be determined by electron microscopy.

Phage enumeration. The phage enumeration of the phage seed lot should be determined using an appropriate method (e.g. pfu determination, qPCR).

Phage purity. Absence of adventitious agents (e.g., other phages, bacteria, viruses) should be demonstrated using an appropriate method, unless otherwise justified (e.g. virus testing may be omitted if no or only autoclave-sterilized material of human or animal origin is used).

Detection of genetic determinants conferring toxicity, virulence, lysogeny and antibiotic resistance. State of the art DNA or RNA sequencing and genome analysis.

Raw sequencing data must be provided in a broadly accepted format (e.g. FASTQ) to a Belgian Approved Laboratory for review and approval.

PHAGE APIs

All tests are performed under appropriate quality standards (e.g. ISO17025).

Phage identification. The phage strain of a phage API is determined using a validated or qualified phage identification test (e.g. specific PCR, qPCR..)

Quantitative assessment of phages. The potency of the phage API is determined using a validated or qualified assay (e.g. phage-specific qPCR).

Quantitative bioburden determination (EP 2.6.12). The total aerobic microbial count is determined using the official Ph.Eur. method or, where justified and authorised, using a validated alternative method. Phage APIs are required to contain ≤ 10 cfu/100 ml or g.

Bacterial endotoxins (EP 2.6.14). The test for bacterial endotoxins is used to detect and quantify endotoxins of gram-negative bacterial origin using amoebocyte lysate from horseshoe crab (*Limulus polyphemus* or *Tachypleus tridentatus*). The endotoxin concentration in the phage API should remain below the endotoxin threshold specified in the individual monograph. The endotoxin limit depends on the final therapeutic product (magistral preparation) and its route of administration and is stated in the individual monograph according to compendial requirements. *The maximal dose administered by the intended route per hour should not contain sufficient endotoxin to cause a toxic reaction. For instance, as stated in EP 5.1.10, the maximum dose for intravenous injection is 5 Endotoxin Units (EU)/kg/h.*

Potentiometric determination of pH (EP 2.2.3). The pH should conform to the pH specifications set forth in the individual monograph, usually 6.0-8.0 pH.

Water content (EP 2.5.12 or 2.5.32). Dried phage APIs are tested for water content. The maximum water content is 3.0 per cent m/m, unless otherwise stated in specific monograph (e.g. APIs intended for oral lyophilisates).

Impurities. Process-related impurities should be quantified

and qualified. In particular, when chloroform or any other particular reagent is used in the manufacture of the phage API, an appropriate validated procedure is to be employed for the quantification of the residual chloroform/reagent. Appropriate acceptance criteria should be set up such that the amounts of chloroform/reagent intake are consistently below levels that are demonstrated to be safe.

STORAGE

Phage APIs should be stored under the conditions specified in the individual monograph.

SHELF LIFE

Phage quantity using a stability indicative method, bioburden, pH and, where relevant, water content are periodically determined. The shelf life is the time period during which phage quantity, bioburden, pH and, where relevant, water content of the API remain within the limit thresholds specified in the individual monograph.

LABELLING

The label states:

- the identity and quantity of the phages within the API;
- the type of species and strain of host bacteria used as a substrate for the production of the phage API;
- the type of species and strains of bacteria that the phages are able to lyse;
- the storage conditions;
- the production date;
- the expiration date;
- for dried preparations:
 - the name, composition and volume of the reconstituting liquid to be added;
 - the period of time within which the preparation is to be used after reconstitution;
- instructions for reporting serious adverse reactions and/or events;
- instructions how to dispose of unused (expired) bacteriophage products.

SURVEILLANCE

The clinical use of phage API based magistral preparations must be surveyed and reported, including possible adverse events and reactions associated with their use. A centralized reporting system and a register for therapeutic phage applications are warranted.

High throughput annotation of a year worth of published Vibriophages genomes: a meta-analysis

Antoine Culot : Rime Bioinformatics SAS, Palaiseau, France
contact@rime-bioinformatics.com

Vibrio spp. are responsible for several major fish diseases, leading to heavy loss in aquaculture farms. They represent a promising target for phage therapy. In-depth study of phages genomes is a key step to assess their safety before therapeutic use. However, phage genomes have different structures than their bacterial hosts, such as a higher coding density (CD) and smaller, overlapping genes. In this study, we assessed the quality of genome annotations of vibriophages published last year.

179 published Vibriophage genomes were analyzed using a high throughput pipeline designed to screen for therapy compatible phages in large collections. To ensure repeatable results, multiple heuristics and databases were used for structural and functional annotations.

The median genome size was 59 kbp. The average compute time per phage was 30 min on a single core. The published annotations yielded 24% of functionally annotated genes on average, and an 89% average coding density. After the new analysis, +6% new genes were detected on average, and 49% of the genes had functional annotation. The newly detected genes were small (215 bp on average; average overall gene size was 590 bp), and +18% overlapping genes were detected. Published mean intergenic region size (IRS) was 93 bp on average and decreased to 75 bp after the new study. Eventually, the average CD was +2.14% higher (92%) after our analysis.

Those results prove that the average quality of phage genome annotations can be strongly improved using our high throughput pipeline. 1) The high number of overlapping genes detected, 2) the smaller size of the newly detected genes, and 3) the reduced IRS suggests that our analysis takes better consideration of the characteristics of phage genomes. However, 49% of functionally annotated genes is not enough to prove the absence of harmful genes (such as antibiotic resistance or virulence) in a genome. This pipeline is best suited to screen a large collection, before a deeper annotation.

Keywords : Aquaculture ; Phage therapy; Genome; Annotation

Phage genome annotation: is this phage actually safe for therapeutic use ?

Antoine Culot. Rime Bioinformatics SAS, 104 avenue du Général Leclerc, 91120, Palaiseau, FRANCE.

INTRODUCTION : Phage's genomes peculiar structure

The study of phages genomic properties is one of the main steps to assess their safety for therapeutic use [1]. This process enables detection of genes that make phages potentially harmful for the patient or the environment, such as antibiotic resistance, lysogeny, and pathogenicity genes. Phage genome annotation is traditionally performed using bioinformatics tools that are designed for bacterial genomes [2]. However, the different genome structure of phages and lack of phage gene entries in annotation databases cause poor gene calling performance and poor gene function annotation when bacteria-focused tools are used for phages.

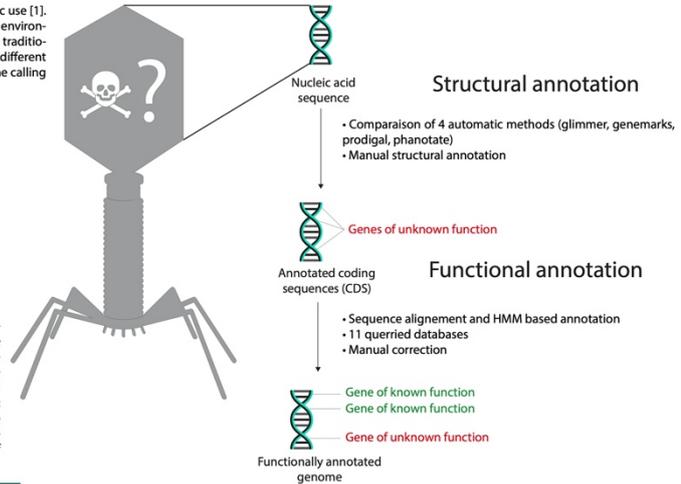


Fig 1. Phage genome structure peculiarities that should be taken into account for annotation

The peculiarities of phages genomes (Fig. 1) are rarely accounted for. This leads to insufficient characterization of phages that are considered for phage therapy. This problem is illustrated by phage VVP001, which infects *Vibrio vulnificus*, a marine bacteria responsible for heavy loss in aquaculture farms as well as food poisoning [3]. The genome of VVP001 was studied using state of the art—but bacteria focused—analysis methods and is poorly described : only 17% of the genes are functionally annotated. **How can we be sure no dangerous genes are present in the remaining 83% of the genome ?** Similar cases to VVP001 (about 20% of functionally annotated genes) are common in recent scientific literature, which underlines the difficulty of phage genome annotation.

Our aim is to demonstrate how combining multiple manual and automatic approaches for structural and functional annotation can improve the analysis result to reach higher confidence in the phage's harmlessness for patients and the environment.

Method: New annotation of a published genome



RESULTS & DISCUSSION: 5x more functions annotated

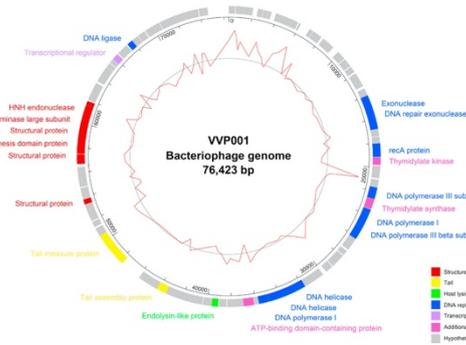


Fig 2. Genome map of phage VVP001, as published by Kim et al in 2021 [3]

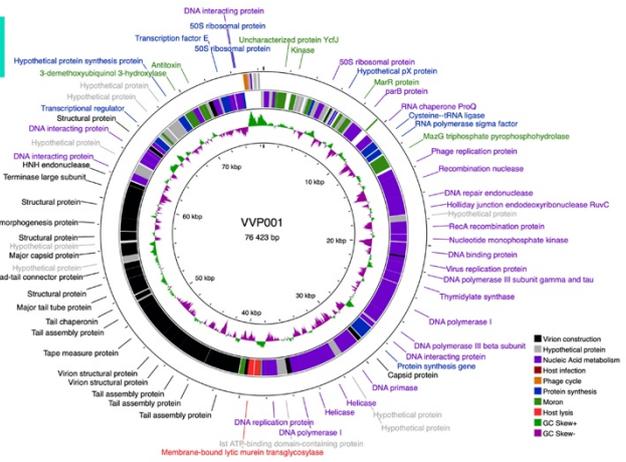


Fig 3. Genome map of newly annotated phage VVP001

The original annotation of VVP001's genome described 102 CDS, among which 17 (16,7%) were functionally annotated (Fig 2). This annotation leaves surprisingly large non-coding zones (in white, at 45 906 bp or 74 683 bp for example) which are especially rare in the usually densely packed genomes of phages. The new functional annotation (Fig 3) enabled the detection of 126 (+24%) genes. 93 of them (74%) were functionally annotated. At the end of their study of phage VVP001's genome, the authors underline the absence of toxin-coding or virulence factor coding genes, thus suggesting the harmlessness of this phage for phage therapy. This exemplifies the widely spread difficulty of phage genome annotation in the literature: authors are often left betting on the absence of unwanted genes when only 20-30% of the genome is annotated. Such conclusions are hazardous : using phages of which 70-80% of the genome is unknown could help spreading antibiotic resistance or virulence genes.

The analysis presented in this poster determined that the presence of unwanted genes is unlikely, thus making VVP001's usage for phage therapy safe, from the gene content point of view. Still, it is not impossible that new, never described and unwanted genes are present in this genome among the grey regions (Hypothetical proteins, Fig. 3). Despite the high quality of annotations currently achievable, bioinformatics tools still need to be improved to reach a full confidence on the harmlessness of a given phage.

Finally, the greater precision of the multi-method pipeline comes at the expense of time and computing power. Manual annotation is indeed a lengthy process, and so are the automatic functional annotation steps, which also require a powerful computing cluster to run. Such detailed analysis are therefore not reasonably doable for all phages.

CONCLUSION

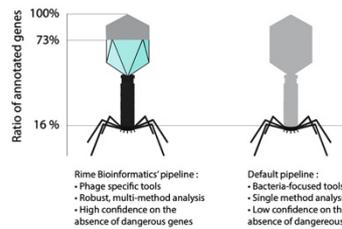


Fig 4. Comparison of the annotation results discussed in this study

Taking the peculiar genome structure of phages into account allowed to detect 33 (24%) more genes in phage VVP001's genome. As this detection is the result of the comparison of several gene calling methods, it is more robust. The usage of numerous large databases, queried using different strategies, allowed the functional annotation of 93 (73%) genes, when only 17 (16%) genes were previously associated with a function.

Knowing the function of 73% of the genome of phage VVP001 enables its use for phage therapy with greater confidence. It is now indeed less likely to discover lysogeny, virulence or antibiotic genes in this genome, which would forbid any therapeutic use for this phage. **Phage VVP001 seems therefore actually safe for therapeutic use.**

In order to promote the safest possible use of phage therapy for patients and for the environment, it is highly recommended to use multi-method, phage focused pipelines, which are more sensitive and robust (Fig 4).

[1] A. Culot, N. Grosset, M. Gauthier, Overcoming the challenges of phage therapy for industrial aquaculture: A review. *Aquaculture*, 513 (2019) 734-743.
 [2] K. McNair, C. Zhou, E.A. Dinsdale, B. Souza, R.A. Edwards, PHANOTATE: a novel approach to gene identification in phage genomes. *Bioinformatics*, (2019)
 [3] Hye-Jin Kim, You-Tae Kim, Hyeun Bum Kim, Sang Ho Choi, et al. Characterization of bacteriophage VVP001 and its application for the inhibition of *Vibrio vulnificus* causing seafood-borne diseases. *Food Microbiology*, 94:103630, April 2021. ISSN 07400020.



Rime Bioinformatics, high performance bioinformatics made accessible.

www.rime-bioinformatics.com

contact@rime-bioinformatics.com

Rime Bioinformatics, SAS au capital de 5 000 €

SERMENT DE GALIEN

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

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit 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, de respecter le secret professionnel.
- ❖ 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 couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.

Résumé

Dans cette thèse, je me suis penchée sur la menace préoccupante, croissante et mondiale de la résistance des bactéries aux antibiotiques et l'état de la recherche d'alternatives thérapeutiques possibles notamment la phagothérapie.

Ainsi, dans une première partie, je traite l'antibiothérapie sous plusieurs aspects : son histoire, son âge d'or, et l'état actuel du marché des antibiotiques. Puis, les infections bactériennes, les mécanismes de résistance des bactéries et le constat actuel de cette antibiorésistance. Enfin, nous verrons les mesures gouvernementales prises en France, en Europe et dans le monde pour lutter contre ce phénomène inquiétant.

Dans une seconde partie, j'introduis la phagothérapie comme solution alternative potentielle et prometteuse en présentant son histoire et son utilisation en Europe de l'Est, la technologie impliquée et les domaines d'application potentiels. Puis, je présente la phagothérapie en médecine humaine de nos jours, son marché, son statut réglementaire dans l'Union Européenne et en France. Enfin, je présente ses perspectives en étudiant les freins à son développement et ses inconvénients, mais aussi tous les signes d'intérêt qu'elle suscite et les avantages qu'elle présente. Notamment, dans le développement des nouvelles technologies liées à l'emploi des bactériophages.

Je conclurai sur l'espoir suscité par cette thérapie à condition de veiller à son développement dans un cadre réglementaire adapté et précis.

Mots-clefs : ANTIBIORESISTANCE – ANTIBIOTHERAPIE - PHAGOTHERAPIE – BACTERIOPHAGE - PHAGE – BACTERIE – BIOTECHNOLOGIE - VIRUS