

« Antibiotiques, antibiorésistance et environnement : des raisons d'espérer »

Séance thématique penta-académique

**Avec la participation
de l'Académie d'Agriculture de France,
de l'Académie Nationale de Chirurgie Dentaire
de l'Académie nationale de médecine
de l'Académie nationale de Pharmacie
de l'Académie Vétérinaire de France**

Sous *le Haut-Patronage* de Madame la Ministre de l'Environnement, de l'Énergie et de la Mer, Ségolène ROYAL
Sous *le Haut-Patronage* de Madame la Ministre des Affaires Sociales et de la Santé, Marisol TOURAINE
Sous *le Haut-Patronage* de Monsieur le Ministre de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, Stéphane LE FOLL
Sous *le Haut-Patronage* de Monsieur le Secrétaire d'État pour l'Enseignement et la Recherche, Thierry MANDON

COMPTE RENDU MERCREDI 15 JUIN 2016

Matinée

Discours introductif de Claude MONNERET au nom des cinq Académies

Il y a bientôt quatre ans, en novembre 2012, nos Académies, se réunissaient en organisant une séance intitulée
« *Résistance aux antibiotiques : une impasse thérapeutique ?* »

Devant le risque que présentait cette impasse thérapeutique, elles décidaient de mettre en place une veille inter-académique permanente sur la résistance aux antibiotiques. À cette occasion, ces mêmes académies émettaient certaines recommandations comme :

- favoriser la prévention des maladies infectieuses par l'hygiène et la vaccination ;
- éviter les prescriptions inutiles d'antibiotiques ;
- favoriser et développer une approche écosystémique ;
- accroître la solidarité internationale avec l'harmonisation de normes sanitaires en limitant l'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire ou encore en surveillant et contrôlant tout porteur de bactéries multi-résistantes...

Elles soulignaient que seule une approche coordonnée et globale s'imposait pour conduire à une amélioration de la situation.

Malheureusement, il faut bien reconnaître que la situation ne s'est guère améliorée durant ces quatre années. Au mieux, elle ne se serait pas trop dégradée.

En avril 2014, l'OMS publiait un rapport considérant la résistance aux antibiotiques comme une menace grave d'ampleur mondiale. Le Dr Keiji FUKUDA, Sous-Directeur Général de l'OMS n'hésitait pas à dire qu'« à moins que les nombreux acteurs concernés agissent d'urgence, de manière coordonnée, le monde s'achemine vers une ère post-antibiotiques, où des affections courantes et des blessures mineures qui ont été soignées depuis des décennies, pourraient à nouveau tuer » fin de citation.

Début juin 2016, le G7 à son tour lançait depuis Kobé au Japon, un cri d'alarme soulignant que « la santé est le fondement de la prospérité et de la sécurité, non seulement pour les individus mais aussi pour les nations ». Certes, ajoutait-il, des progrès ont été accomplis, dont l'adoption par l'OMS en 2015 du Plan d'action mondial de lutte contre la résistance aux antimicrobiens, mais il faut faire davantage.

La découverte des antibiotiques a été l'une des grandes avancées thérapeutiques du XX^{ème} siècle, ayant fait régresser la mortalité associée aux maladies infectieuses. Malheureusement, devant l'usage inconsidéré de ceux-ci, tant en médecine humaine que vétérinaire, il existe aujourd'hui une grave menace d'ampleur mondiale, la résistance aux antibiotiques. Au-delà de certaines bactéries devenues hautement résistantes, on dénombre également des bactéries pan-résistantes, c'est-à-dire résistantes à tous les antibiotiques. Ce problème majeur de santé publique, non seulement menace directement notre système de santé mais aussi menace indirectement nombre d'actes chirurgicaux (greffe d'organe) ou médicaux (réanimation, néonatalogie).

Par ailleurs, la complexification croissante de la question de l'antibiorésistance est devenue un fait avéré, faisant intervenir la flore intestinale, les transports internationaux, les animaux d'élevage, et tous les écosystèmes. La transmission de cette antibiorésistance inter-espèces est maintenant bien documentée. L'eau, l'environnement, et les aliments contaminés par des bactéries résistantes peuvent contribuer à la propagation de celles-ci.

Cet aspect sera l'objet de la première partie de la réunion avec les interventions de Fabienne PETIT, Christophe DAGOT, Isabelle KEMPF, Dominique PATUREAU et Anne-Marie POURCHER.

En juin 2015, le rapport intitulé « *Tous ensemble, sauvons les antibiotiques* » rédigé sous la direction du Dr Jean CARLIER et de Pierre LECOZ, avec la complicité de Benoit SHLEMMER, Président du « plan antibiotiques », faisait état de 158 000 infections à bactéries multi-résistantes et de 15 000 décès liés à celle-ci. C'est cette même approche globale, déjà préconisée par nos Académies comme je l'ai rappelé en introduction, que préconise le rapport du groupe de travail spécial sur la préservation des antibiotiques.

Combattre ce phénomène est donc l'affaire de tous : en favorisant la prévention des maladies infectieuses (hygiène et vaccination), en usant modérément et à bon escient des antibiotiques, en encourageant la recherche et l'innovation dans ce domaine par des mesures incitatives fortes, en favorisant le partage de l'information entre les divers acteurs concernés, en s'intéressant aux alternatives innovantes offertes par les phages (naturels ou génétiquement modifiés), les peptides antibactériens, le microbiome, ou de nouveaux vaccins.

Fin 2015, j'avais souligné lors d'une question d'actualité présentée au sein de notre Académie que l'on assistait à un frémissement dans les rangs de l'industrie pharmaceutique. Un virage semblait être pris avec la concrétisation d'accords entre des grands groupes comme Roche, Sanofi, ou Merck et des plus petites entreprises investies dans la recherche d'antibiotiques nouveaux. Il est encore trop tôt pour voir si cela se traduira dans les faits.

Toutefois, comme le souligne le rapport Carlet, des mesures incitatives fortes restent à prendre pour que des perspectives économiques s'offrent aux industriels. En effet, si l'on veut un usage limité de ces nouveaux antibiotiques et un prix modéré de ceux-ci, il faut bien admettre que le retour sur investissement est loin d'être suffisant. Il faudra donc trouver un nouveau modèle économique.

Deuxième particularité observée durant cette même année 2015, quelques innovations fortes en ce domaine comme la technologie permettant de cultiver des bactéries considérées jusqu'ici comme non cultivables, la découverte et/ou le développement de nouveaux inhibiteurs de carbapénémases comme l'avibactame, l'aspergillomarasmine, la biologie de synthèse sans oublier le retour en grâce des bactériophages, soit tels quels, soit génétiquement modifiés grâce aux nouvelles technologies de génie génétique comme la technique CRISPR-cas9.

Après avoir écouté Mme Arlette LAVAL qui nous proposera des pistes pour contourner l'antibiothérapie en médecine vétérinaire, ce sont ces différents aspects novateurs qui seront développés cet après-midi avec les interventions d'Olivier PATEY, Philippe BULET, Alain PHILIPPON, Thierry NAAS, Laurent DORTET et David BIKARD.

Tout cela pour nous convaincre qu'il reste des RAISONS D'ESPÉRER.

Devant cette prévalence croissante et inquiétante de bactéries résistantes à la quasi-totalité des classes d'antibiotiques, par lettre en date du 2 février 2016, Madame le Ministre des Affaires sociales et de la Santé, Marisol TOURAINE confiait au Professeur Christian BRUN-BUISSON, la mission de délégué ministériel à l'antibiorésistance.

Je vais maintenant lui laisser la parole en vous souhaitant une très bonne journée qui, j'en suis certain, sera passionnante et permettra de fructueux échanges.

Merci.

Ouverture par Christian BRUN-BUISSON, Délégué interministériel à l'Antibiorésistance

Mmes, Mr les Présidents des cinq Académies,

Mmes, Mr les académiciens,

Chers collègues,

Je voudrais tout d'abord vous remercier de l'honneur que vous me faites et vous dire tout l'intérêt que je porte, à inaugurer cette séance thématique, consacrée à l'antibiorésistance (ABR) et ses relations avec l'environnement, ainsi qu'aux alternatives aux antibiotiques.

L'antibiorésistance est une menace sérieuse et croissante pour nos sociétés, certes de manière encore plus prégnante dans les pays à faible et moyen niveaux de revenu, mais qui nous concerne tous et tous les pays à des degrés divers. Elle modifie notre approche de la maladie infectieuse et de son traitement. J'ai grandi, comme probablement beaucoup d'entre vous, dans le mythe de la toute-puissance des antibiotiques, les nouvelles molécules se succédant les unes aux autres dans l'innovation quasi-permanente.

Notre perception a considérablement changé au fil du temps, à mesure que le filon se tarissait, et que l'on voyait se réduire le nombre de molécules actives et les options thérapeutiques, alors que la complexité des prises en charge s'accroissait et que la fréquence des résistances augmentait.

Pour la première fois en France, nous disposons de données permettant de citer des chiffres derrière les mots du risque. L'Institut de Veille Sanitaire - devenu depuis « Santé Publique France » - a donné l'an passé, à l'occasion d'un travail annexe au rapport Carlet, une première estimation du coût humain de l'ABR, estimé à plus de 150 000 cas et 12 500 décès associés à l'ABR. On cite volontiers les chiffres plus anciens de 20 à 25.000 décès attribuables à l'antibiorésistance aux États-Unis et en Europe. Pour sa part, le groupe de Jim O'NEILL, a fait des projections basées sur des hypothèses plutôt pessimistes : en l'absence d'action correctrices, le nombre de décès annuel attribuable à l'ABR pourrait atteindre 10 M de décès par an en 2050, à l'échelle de l'humanité, avec bien sûr un coût considérable pour l'économie mondiale et un lourd tribut consenti par les compagnies d'assurance.

De fait, et pour continuer d'utiliser le langage guerrier qui est souvent associé au combat ou à la lutte contre l'antibiorésistance, les nouvelles du front de la résistance ne sont pas bonnes : si le taux de résistance des pneumocoques à la pénicilline s'est stabilisé à la fin de la dernière décennie, pour finalement décroître ; si le taux de SARM a également baissé pour redevenir proche de ce qu'il était dans la décennie 1980, en grande partie grâce aux mesures d'hygiène, la fréquence des résistances chez les bacilles à Gram négatif n'a cessé d'augmenter ces dernières années, aussi bien en pratique hospitalière qu'en pratique de ville, et c'est bien entendu le plus inquiétant. L'impact médiatique de la description du gène de résistance *mcr-1* à la colistine en Chine chez les volailles ainsi que chez quelques patients, rapidement suivi de la description de nombreuses autres identifications dans diverses espèces animales à travers l'Europe, y compris en France a été très fort. Perçue comme le dernier rempart contre la résistance, l'apparition d'une résistance transférable à cet antibiotique pose à l'évidence un problème sérieux, même s'il était attendu du fait de l'usage souvent intensif de la colimycine en médecine vétérinaire, et de son usage croissant en médecine humaine consécutif à l'expansion des carbapénémases.

Ces deux derniers phénomènes, l'expansion des carbapénémases et l'apparition de la résistance plasmidique et transférable à la colistine, illustrent bien une notion qui n'est maintenant que trop évidente, celle de l'absence de barrière à l'antibiorésistance : les bactéries et la résistance ne connaissent pas de frontière géographique ou d'espèce. La question doit donc être traitée à un niveau global.

Vous avez sous-titré votre colloque « Des raisons d'espérer ! » ; je partage votre avis : malgré les prévisions les plus pessimistes, les millions de morts annoncés, il existe de bonnes raisons d'espérer.

La première raison d'espérer est d'abord la mobilisation générale contre l'antibiorésistance, à l'échelle mondiale et Européenne. L'OMS a été très active dans ce domaine, avec la publication de rapports sur l'importance et l'impact de la résistance, puis son ambitieux plan d'action mondial contre la résistance, publié en mai 2015. L'Union Européenne a diffusé un plan d'action depuis 2001. Peut-être encore plus significatif de cette mobilisation récente, est l'engagement des gouvernements en faveur de cette cause nationale et internationale. Le récent rapport réalisé par l'équipe de l'économiste J. O'NEILL à la demande de D. CAMERON, celui commandé par le Président OBAMA, ainsi que celui commandé par Mme TOURAINE au Dr CARLET témoignent bien de l'importance portée à ce sujet. S'y associent les déclarations faites au niveau du G7 et du G20, et l'engagement à venir au niveau de l'ONU et des chefs d'états, enfin l'engagement de l'industrie à soutenir et s'associer à la démarche. De nombreuses propositions et initiatives pour stimuler et soutenir la recherche dans le domaine sont en cours d'élaboration ou de discussion.

Si le problème de l'antibiorésistance doit, au minimum, être envisagé au niveau supranational, et régional au sens de l'OMS, sinon global, c'est-à-dire mondial, agir chacun à son niveau localement est également important. La France est fortement engagée dans la lutte contre l'antibiorésistance, avec des objectifs chiffrés qui sont plus ou moins bien atteints selon les secteurs concernés, plutôt moins bien dans le secteur humain que dans le secteur animal, comme ce sera rappelé je crois cet après-midi par Mme LAVAL.

Des alternatives aux antibiotiques sont également en plein décollage. Cela va des phages aux peptides antimicrobiens, en passant par des agents modulateurs de virulence qui peuvent être des adjuvants utiles aux antibiotiques et/ou réduire le besoin à leur recours.

L'innovation est aussi dans le domaine du diagnostic et de la prévention, qui sont les deux autres voies pour mieux et moins utiliser les agents antibactériens. Les remarquables progrès de la biologie moléculaire autorisent la pratique d'examens de diagnostic rapide de germe, de pathologie virale ou bactérienne, de résistance, au lit du malade, et donnant des réponses en quelques minutes à quelques heures. Il faut que ces outils soient mis à disposition des prescripteurs, adoptés et intégrés dans leur pratique pour leur permettre de mieux prescrire, de manière plus pertinente et mieux ciblée. C'est une évidence !

La prévention par l'hygiène et la lutte contre la transmission croisée des bactéries - résistantes ou non d'ailleurs - est un des piliers de la politique de prévention. Ce n'est pas un hasard si le plan de lutte Trans sectoriel contre les infections associées aux soins, publié en juin dernier (le PROPIAS) comporte l'un de ses trois axes complètement dédié à l'antibiorésistance.

Le dernier pilier est la prévention vaccinale. On connaît les difficultés actuelles à convaincre sur ce sujet, les réticences de la population et les contre-vérités qui circulent. Une vaste concertation nationale va avoir lieu sur ce sujet prochainement, et j'espère vivement qu'elle pourra contribuer à améliorer la couverture vaccinale de la population française, l'une des plus basses d'Europe pour ce qui concerne les infections respiratoires, les plus souvent à l'origine de prescriptions antibiotiques.

Agir, c'est aussi communiquer de manière efficace et adaptée sur le sujet de l'antibiorésistance, afin de convaincre nos concitoyens de l'importance du problème. L'approche qui est prise, et qui doit être adoptée dans les prochaines campagnes d'explication et de communication, est celle « d'un seul monde, d'une seule santé », reconnaissant ainsi le caractère transversal et trans-sectoriel du problème.

Nous devons arriver à faire prendre conscience à la population comme aux professionnels de santé – humaine et animale – que les antibiotiques sont un bien précieux et fragile qu'il faut préserver, dans une approche globale de développement durable. Au fond, l'approche qui semble la plus appropriée est celle adoptée dans le domaine du réchauffement climatique. Faire prendre conscience au public comme aux professionnels, qui n'en sont pas encore certains, du fait que les antibiotiques - qui rendent par ailleurs des services inestimables - sont menacés par les activités humaines, médicales ou non, si elles ne sont pas régulées et maîtrisées, est le défi que nous devons relever aujourd'hui. C'est pourquoi je me réjouis de voir que le programme de cette matinée comporte plusieurs communications sur l'impact des activités humaines sur l'environnement et la résistance. C'est cette approche globale, trans-sectorielle, « one health » que nous défendons au sein du groupe de travail du Comité Permanent restreint (CPR) qui prépare actuellement la réunion du Comité Interministériel pour la santé (CIS) qui se tiendra prochainement et adoptera une feuille de route et des propositions concrètes pour avancer dans la lutte contre l'antibiorésistance.

Je suis heureux de pouvoir participer à vos travaux ce matin, je vous souhaite une très fructueuse journée de partage et d'échange sur les réflexions intersectorielles et avancées en matière de lutte contre l'antibiorésistance.

Je vous remercie.

1^{ÈRE} SESSION

ANTIBIORÉSISTANCE ET ENVIRONNEMENT

Modérateurs : Pierre BÉGUÉ (Anm) et Arlette LAVAL (AAF)

Fabienne PETIT

« *Vulnérabilité des environnements aquatiques à la contamination par des bactéries antibiorésistantes* »

La contamination des eaux par les antibiotiques et les bactéries antibiorésistantes est une problématique d'écologie et de santé publique. Un des enjeux majeurs des prochaines décennies sera d'évaluer la vulnérabilité microbiologique mais aussi la capacité de résilience des eaux à la contamination des germes fécaux qui, dans les pays industrialisés s'accompagne d'une contamination par des molécules médicamenteuses, à commencer par les antibiotiques, prescrites en médecine humaine ou vétérinaire. Dans ce contexte, il est important d'étudier finement la relation entre la prescription en antibiotiques, l'occurrence de bactéries antibiorésistantes (*Escherichia coli*, *Enterococcus*) et de molécules antibiotiques dans l'eau, à l'échelle d'un continuum entre un site très contaminé, à savoir un centre hospitalier – station de traitement des eaux usées – rivière. Dans une étude récente, les résultats montrent que, dans l'eau, les antibiotiques les plus persistants sont présents, et qu'il n'existe pas de relation avec les résistances aux antibiotiques des souches isolées dans ce même environnement. Alors que les pénicillines sont majoritairement prescrites, seuls les antibiotiques les plus stables sont détectés (fluoroquinolones, sulfamides, macrolides), mais leurs concentrations restent trop faibles, de l'ordre du ng/L pour exercer une pression de sélection sur les microorganismes. Le long du continuum, le nombre de souches hospitalières porteuses de supports génétiques impliqués dans l'antibiorésistance (intégrons de classe I chez *E. coli*, gène *erm(B)* et complexe clonal CC17 chez *E. faecium*) décroît le long du continuum au profit de souches mieux adaptées à l'environnement. Les estuaires constituent un milieu particulier, dont les sédiments sont exposés de façon chronique à de multiples contaminants chimiques, dont les antibiotiques, auxquels s'ajoutent des apports en bactéries résistantes. Ce sont, de ce fait, des environnements vulnérables, d'autant plus qu'ils sont proches des sources de contamination (STEP, rejet hospitalier, rejet industriel ou pisciculture). L'enrichissement du résistome bactérien des sédiments en gènes de résistance dans un environnement où des concentrations subinhibitrices en antibiotiques pourraient être atteintes rend ce compartiment propice à la dissémination de gènes de résistance au sein des communautés microbiennes. En conclusion, il existe une relation complexe entre prescription et contamination de l'eau par les antibiotiques et les bactéries antibiorésistantes. Les antibiotiques les plus stables persistent : fluoroquinolones, sulfamides, macrolides. Les souches d'*E. coli* (et d'*Enterococcus*) d'origine humaine (hôpital) perdent plus rapidement leur cultivabilité dans l'eau.

Il est intéressant de se poser la question suivante : quel est l'effet d'une exposition chronique à une multi contamination, en présence de concentrations en antibiotiques dans les eaux inférieures aux concentrations subinhibitrices ?

Enfin il existe un enrichissement du résistome environnemental en gènes de résistance, intégrons (vasières et carottes).

Christophe DAGOT

« *Évaluation d'activités anthropiques sur la dissémination de l'antibiorésistance dans l'environnement* » UMR Inserm 1092, Université de Limoges, 87000 Limoges

L'antibiothérapie a permis de faire grandement reculer la mortalité liée aux maladies infectieuses bactériennes et à contribuer à la préservation de la santé. La face négative de ce progrès sanitaire est l'apparition croissante de bactéries résistantes et multirésistantes du fait d'une utilisation massive et répétée de ces molécules. Les conséquences de cette (multi) résistance sont considérées comme dramatiques aussi bien d'un point de vue médical (baisse de l'efficacité de l'antibiothérapie, augmentation de la mortalité), qu'économique (coût des soins et de la recherche) et social (inégalité nord/sud). L'analyse globale des flux de médicaments, dont les antibiotiques et des résistances susceptibles d'y être liés, de leur production jusqu'au rejet dans les matrices environnementales, montrent la complexité actuelle du système de dissémination liée à l'activité humaine : production industrielle, centre de soins, activité vétérinaire, élevage, ...). Cela soulève de nombreuses questions méthodologiques pour arriver à une analyse systémique de cette problématique dont l'issue doit être une capacité à définir une analyse des risques rigoureuse aboutissant à la mise en place de mesures (multiples) de préservation de la qualité des soins et de la santé.

Ainsi la lutte contre l'antibiorésistance se décloisonne pour appréhender le problème et les solutions dans leur globalité, associant différentes spécialités : médicales, hospitalières, environnementales, biologie moléculaire et bioinformatiques, procédés, spécialistes du risques, mais aussi sociologues, parties prenantes, décideurs. De

nouveaux outils ont été développés issus des avancés et des baisses des coûts en biologie moléculaire permettant une exploitation (très) fine des bactéries, des gènes, de leurs expressions, de leur transfert.

Le modèle intégrons fait partie de ces nouveaux outils, présentant l'avantage d'être, dans une première analyse, une sorte d'indicateur de résistance et de tracer de manière quantitative une dissémination globale de résistance dans le tissu urbain et les matrices environnementales. Ainsi le suivi des intégrons de résistance de classe 1, 2 et 3 (IMR) a été mené sur le site Pilote de SIPIBEL, sur différents établissements de soin à l'échelle européenne, sur des technologies de traitement avancé, sur le milieu naturel, dans des sols.

Les résultats, présentés, ont montré une concentration élevée et la diversité des micro-organismes dans des échantillons des effluents hospitalier, avec une prévalence élevée d'IMR et une omniprésence de ces éléments avec une prévalence élevée dans les eaux usées.

La standardisation des méthodes d'évaluation, l'importance des bilans quantitatifs et qualitatifs, la compréhension des mécanismes d'expression et de transmission des gènes dans les systèmes anthropisés, l'exploitation des résultats en terme d'évaluation des risques, l'importance du quadrillage du territoire, voire des pays, en site pilote afin de récolter des données en terme d'observatoire, sont autant de pistes indispensables à la connaissance et la maîtrise de mécanismes de résistances. Par ailleurs, il faut insister sur la nécessité de méthodes analytiques indispensables pour obtenir des données fiables dans l'ensemble des sites d'études, ainsi que sur la mise en place de base de données compatibles permettant des échanges entre les différentes équipes scientifiques. L'ensemble de ces éléments doit conduire à une recherche de plus en plus intégrée et collaborative.

QUESTIONS - RÉPONSES - COMMENTAIRES

Olivier PATEY (Q) : à partir du moment où il y a des bactéries, il y a des bactériophages et il peut y avoir transmission des gènes de résistance. On sait qu'il y a 20 % des bactéries qui sont détruites par les bactériophages, et qu'il y a une action synergique entre les antibiotiques et les bactériophages sur les bactéries, y compris à des doses subinhibitrices, qui sont les doses que l'on retrouve en milieu hydrique. Pensez-vous qu'il puisse y avoir des conséquences avec, peut-être, la disparition des bactéries sensibles qui laisseraient la place à des bactéries résistantes qui seraient « surévaluées » en terme de diagnostic, dans le milieu hydrique ?

Fabienne PETIT (R) : *les résultats que l'on montre sont un peu contraires. Le premier facteur de disparition de ces bactéries, parfaitement adaptées au microbiome humain ou animal dans l'eau, est la prédation par des protozoaires, car les bactéries sont des sources nutritives pour ces derniers. Les bactériophages sont également une source de disparition. Dans l'eau, la bactérie ne va pas résister longtemps ; mais là où elle peut se stabiliser, là où la densité bactérienne va augmenter et où la situation sera favorable au transfert de gènes, on n'a des données qu'en laboratoires, pas in situ.*

Christophe DAGOT (R) : *remarque sur les procédés de traitements des eaux : il y a une grande guerre entre les bactéries qui sont dans les bassins d'aération, les protozoaires... et on constate un abattement de deux à trois logs de la population dans une station d'épuration. On observe aussi que les bactéries qui viennent du monde hospitalier sont plus détruites, c'est un petit signe optimiste, mais la façon dont elles disparaissent n'est pas connue actuellement.*

Yves LEVI (Q) : où en est-on dans le niveau de connaissance des relations entre la concentration des antibiotiques dans le milieu aquatique et l'impact potentiel sur l'augmentation de l'antibiorésistance ?

Christophe DAGOT (R) : *il y a une publication récente qui montre une corrélation entre la concentration en antibiotiques utilisés dans l'hôpital et le niveau des gènes de résistance, avec une étude statistique qui semble solide. Cette corrélation n'est pas retrouvée par nos équipes. On la retrouve pour des résistances typiquement hospitalières, pour des antibiotiques spécifiquement utilisés en milieu hospitalier mais on ne trouve pas forcément le gène de résistance en quantité importante. On n'a donc pas la preuve formelle de cette corrélation et la suppression de l'antibiotique qui ne supprime pas la résistance.*

Fabienne PETIT (R) : *ce que nous avons démontré dans l'eau, c'est la « décorrélation ». Dans l'eau, on retrouve les antibiotiques prescrits les plus persistants et la résistance n'a pas été établie dans le milieu hydrique mais dans le tractus digestif de l'homme ou de l'animal. Notre message est de dire que les concentrations les plus élevées sont trouvées avec les molécules persistantes hydrophobes qui peuvent se concentrer dans les sédiments ou les biofilms. À l'échelle du microenvironnement, on va peut-être atteindre des concentrations plus élevées qui pourraient avoir un effet sur la sélection surtout si, dans ces environnements, il y a exposition à d'autres éléments tels que des traces de métaux lourds. La corrélation ce n'est pas une relation de cause à effet. À la sortie d'un hôpital, il est évident qu'il y aura des bactéries résistantes et des antibiotiques, mais attention à l'utilisation des statistiques dans ce domaine, ce sont juste des phénomènes concomitants.*

Philippe BULET (Q) : est-ce que, dans vos études, vous avez collecté tous les organismes filtrants, tout au long de la circulation de l'eau, pour évaluer la présence des antibiotiques dans ces organismes filtrants qu'ils soient animaux ou végétaux ?

Christophe DAGOT (R) : *je ne l'ai pas fait ; certaines équipes se sont intéressées à ce sujet, mais c'est une approche qui est plus écotoxicologique.*

Fabienne PETIT (R) : *nous l'avons fait dans l'eau douce et le milieu marin en recherchant E. coli et Enterococcus car ce sont des bactéries cultivables puisqu'on nous disait que l'ADN seul n'indiquait pas une pathogénicité. L'avantage des organismes filtrants est qu'ils concentrent et nous avons retrouvé des résultats analogues à ceux que j'ai présentés : c'était lié à la couverture du bassin versant et tout de suite aux rejets. Dans les moules, les E. coli ne survivent pas longtemps - les entérocoques non plus - et si on en retrouvait, c'est parce qu'il y avait eu une pluie et un dysfonctionnement de la station d'épuration.*

Jean-Claude MOUNOULOU (Q) : *en aval d'un site atelier ou d'une station d'épuration, vous nous avez expliqué que la résistance décroît par dilution. S'agit-il d'une dilution passive ou y a-t-il, en plus, des mécanismes actifs ?*

Fabienne PETIT (R) : *les facteurs que l'on peut identifier sont la dilution, la prédation et la lyse. Il n'y a rien de spécifique de la résistance ; rien ne permet de dire qu'il y aurait eu un curage plasmique, si c'est ce à quoi vous pensez, il faudrait démontrer que la bactérie se développe. De toute façon, dans l'environnement, ce serait minoritaire par rapport aux paramètres forçants. Par contre, on peut avoir des taux de survie différents : nous avons isolé trois souches d'E. coli qui persistent dans l'eau plus de 15 jours à 7°C0.*

François BRICAIRE : *à la lumière de vos travaux, peut-on considérer que les bactéries qui sont multirésistantes sont plus facilement détruites en milieu hydrique ? Et une deuxième question pour Mr DAGOT : je n'ai pas bien situé, dans les schémas de résultats de filtration que vous avez montrés, ce qui sortait en matière de résistance des abattoirs.*

Christophe DAGOT (R) : *on ne retrouve pratiquement rien qui sort des abattoirs en raison des mesures qui sont prises en amont de l'abattage. On ne retrouve pas d'impact des effluents sur la dissémination de l'antibiorésistance, dans la mesure de ce que l'on a cherché, nous sommes en effet limités par notre méthode. Pour le bœuf, nous ne retrouvons pas d'impact ; nous n'avons pas étudié le porc ni la volaille car c'est un peu plus compliqué. Par contre, il en existe dans les lisiers/fumiers, mais nous en reparlerons cet après midi.*

Fabienne PETIT (R) : *nous travaillons sur un deuxième site atelier sur les eaux souterraines puisque 100 % des eaux de consommation en Normandie sont des eaux souterraines (plus de 50 % pour la France et au niveau mondial). Nos travaux sur le microcosme démontrent une disparition plus importante des souches multi-résistantes isolées à proximité des hôpitaux, qui étaient donc sorties depuis peu du tractus humain. En revanche, nous avons trouvé dans les eaux des bactéries multirésistantes avec parfois sept résistances ; elles sont rares. En résumé, la majorité des souches multirésistantes disparaît car le milieu n'est pas favorable mais on peut retrouver, à de très faible fréquence, des bactéries multirésistantes dans l'environnement.*

François BRICAIRE : *est-ce que, en revanche, ces bactéries multirésistantes ont un désavantage en matière de fragilité dans l'environnement ?*

Fabienne PETIT (R) : *ces bactéries ne sont pas adaptées à l'environnement. Ce sont des E. coli qui rencontrent, en milieu hydrique, des conditions qui ne leur permettent pas de survivre (protozoaires, changement de température, stress osmotique, oligotrophique...).*

Jean-Yves GAUCHOT (Q) : *l'approche environnementale est très intéressante. Ce qui me fait intervenir, c'est la dissociation entre la concentration en antibiotique et la présence, dans l'environnement, d'antibiorésistance. Les vétérinaires ont subi une loi dite « d'avenir » qui a été mal pensée, notamment sur certains antibiotiques critiques. Je suis spécialisé dans le traitement des chevaux et nous avons dû remplacer les céphalosporines de 3^{ème} génération qui avaient une dégradation en trois à quatre jours des sulfamides, considérés comme non critiques, qui ont une persistance environnementale de six à huit semaines, ce qui, de mon point de vue, n'améliore pas l'impact environnemental. Nous espérons que vos travaux permettront aux praticiens d'avoir les bons outils pour travailler correctement.*

Fabienne PETIT (R) : *c'est un constat. Nous n'avons pas travaillé sur les métabolites des antibiotiques.*

Isabelle KEMPF, ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et de la santé au travail) - Laboratoire de Ploufragan

« Présence des bactéries résistantes et gènes de résistance dans les effluents d'élevage »

Les animaux peuvent être porteurs de bactéries pathogènes, zoonotiques (*Salmonella*, *Campylobacter*...) ou commensales (*Escherichia coli*, *Enterococcus*...) résistantes aux antibiotiques. Le microbiote intestinal joue vraisemblablement un rôle majeur dans la dissémination de l'antibiorésistance de l'animal vers l'environnement. En effet, les matières fécales contiennent les bactéries résistantes, les gènes de résistance et leurs supports génétiques (plasmides par exemple) ainsi que parfois des antibiotiques ou leur résidu. Ces matières fécales peuvent être épandues dans l'environnement soit directement (pâturages, épandages sans stockage) ou après stockage, compostage ou autres traitements des fumiers et lisiers. Au cours de l'exposé, nous décrirons la sélection, la diffusion et la persistance des bactéries résistantes dans la flore intestinale des animaux de rente, ainsi que la prévalence en France ou en Europe des résistances les plus préoccupantes pour la santé publique ou vétérinaire. Quelques données préliminaires concernant l'utilisation des antibiotiques en pisciculture et l'antibiorésistance dans l'environnement aquatique en France seront également présentées.

En conclusion, il existe une présence avérée de bactéries résistantes et de gènes de résistance dans le microbiote intestinal / effluents chez animaux non (jamais) traités ou traités (et parfois antibiotiques et leurs métabolites). Il est important d'améliorer les connaissances, ainsi que la surveillance sur les bactéries cultivables, sur les gènes de résistance, ainsi que sur les bactéries non cultivables. Il y a encore peu de données sur la résistance dans l'environnement.

La réduction de l'utilisation des antibiotiques chez l'animal couplée à des méthodes adaptées de traitement des effluents d'élevage doivent permettre de réduire la diffusion de l'antibiorésistance vers l'environnement.

Dominique PATUREAU, Directeur de recherche, Laboratoire de Biotechnologie de l'environnement, INRA LBE

« Présence des antibiotiques dans les effluents d'élevage et leur devenir au cours du compostage et de la méthanisation »

Les effluents d'élevage sont reconnus pour contenir de nombreux antibiotiques. Y sont quantifiées les 4 grandes catégories d'antibiotiques, macrolides, fluoroquinolones, sulfamides et tétracyclines dans des gammes allant du µg au g/kg de matière sèche. Cette forte dispersion des données est liée aux usages très variables d'un pays à l'autre. L'essentiel des données concerne les effluents porcins, bovins et avicoles. La plupart des études porte sur la quantification des antibiotiques dans ces effluents traités ou non et rares sont celles qui étudient leur devenir au cours des traitements, voir même pendant leur stockage. Dans ces études sur le devenir, souvent réalisées en laboratoire, les antibiotiques sont ajoutés dans les effluents (parfois à des teneurs très élevées) afin de tester à la fois l'effet des antibiotiques sur les procédés et l'effet des procédés sur le devenir des molécules. Cependant, la façon de quantifier les pertes au cours des procédés n'est pas uniforme d'un article à l'autre (abattement en concentration par litre ou par kg de matière sèche ne tenant pas compte de l'évolution de cette dernière, considération de la teneur dans la phase aqueuse et non phases aqueuse et particulaire) rendant les comparaisons difficiles. Aussi une disparition des molécules cache une diversité de mécanismes peu souvent identifiés ; en effet ces molécules peuvent être minéralisées ou simplement transformées en métabolites (parfois identifiés) mais aussi certaines molécules peuvent former des résidus liés les rendant inextractibles ; ainsi les pertes quantifiées sont des pertes apparentes. Ainsi, la digestion anaérobie permet des abattements très variables de 0 à 100 % dépendant des molécules tandis que le compostage (avec ses conditions aérobies couplées à des températures thermophiles) semble être plus efficace à réduire la concentration en antibiotiques extractibles.

Anne-Marie POURCHER, Irstea, UR OPAALE, 17, avenue de Cucillé- 35044 RENNES Cedex

« Devenir des bactéries résistantes et gènes de résistance au cours du compostage et de la méthanisation »

Les lisiers, les fumiers et les litières des animaux d'élevage sont le plus souvent stockés avant épandage. Ils peuvent également être traités afin d'améliorer leur capacité amendante (compostage) ou pour produire de l'énergie (méthanisation). Parce qu'ils combinent une forte densité bactérienne et des concentrations en antibiotiques susceptibles d'induire une résistance, les effluents d'élevages représentent des environnements favorables au

maintien et à la dissémination des gènes de résistance. Leur stockage n'impacte pas ou peu les teneurs en gènes de résistance aux antibiotiques. Grâce à l'augmentation significative de la température, le compostage paraît plus efficace que le simple stockage pour réduire les teneurs en gènes de résistance. Cependant, les résultats des études divergent selon les gènes ciblés et le compostage ne conduit pas systématiquement à une diminution des gènes de résistance aux antibiotiques. Il a été observé un faible impact de la digestion anaérobie mésophile sur l'antibiorésistance mais, en raison du manque de données disponibles, de la complexité des facteurs intervenant dans la méthanisation et de la variabilité des conditions d'expérimentation, il est difficile d'estimer clairement l'impact de ce procédé. Il ressort néanmoins des études que le mode de gestion de la méthanisation (thermophile vs mésophile, charge organique, ...) joue un rôle sur la diminution des teneurs en bactéries résistantes.

En conclusion, qu'il s'agisse du compostage ou de la méthanisation, nous constatons une réduction des bactéries résistantes aux antibiotiques (BRAs) mésophiles ; il n'y a pas d'élimination complète. Le facteur important réside dans le couple durée / température. En ce qui concerne les gènes de résistance aux antibiotiques (GRAs), les comportements diffèrent selon les gènes. Le transfert des GRAs est possible et le facteur important reste le couple durée / température.

La diversité des intrants et la variabilité des données sur l'impact de la digestion anaérobie et du compostage rend difficile toute extrapolation du comportement des GRAs et BRAs.

Il existe des interactions entre les paramètres biotiques et abiotiques. Très peu de connaissances sur les facteurs autres que la température et la durée des traitements sont disponibles. La digestion anaérobie mésophile et le compostage ont un impact limité sur les GRAs et les BRAs.

QUESTIONS - RÉPONSES - COMMENTAIRES

Catherine REGNAULT-ROGER (Q) : il a été question des effluents et de leur rôle contaminant, vous avez également souligné le rôle du cuivre comme facteur favorisant les bactéries résistantes. A-t-on fait des études comparatives entre les exploitations de l'agriculture biologique et de l'agriculture conventionnelle en termes de résistance ?

Isabelle KEMPF : *il n'y a que quelques études qui montrent cependant qu'il y a moins de bactéries résistantes dans la flore digestive des animaux issus de productions biologiques mais il y a quand même des bactéries résistantes (par exemple chez le porc, environ 40 % versus 60 % de bactéries résistantes à la tétracycline).*

(Q) : vous avez dit qu'il y avait des traitements des lisiers qui sont des produits d'épandage, y a-t-il ensuite un suivi ? Avez-vous des exemples de travaux de suivi car ces lisiers sont ensuite épandus pour les cultures ?

Anne-Marie POURCHER : *il y a des études sur ce sujet. Au niveau du sol, nous savons qu'il y a un transfert. Nous avons réalisé une étude dans laquelle nous avons épandu du fumier de volailles provenant d'animaux contaminés à l'enrofloxacin et nous avons recherché la ciprofloxacine. Nous avons retrouvé des Escherichia coli résistants à la ciprofloxacine pendant deux mois. Il y a donc bien une persistance. Ensuite nous avons essayé de voir si les entérobactéries environnementales montraient une augmentation de leur résistance, cela n'a pas été le cas. De nombreuses études ont aussi été faites sur le passage à la plante, mais comme la plupart sont effectuées en laboratoire avec de fortes concentrations de bactéries résistantes, on retrouve ces bactéries et il manque des études de terrain. Celles qui ont été réalisées n'ont pas montré de passage à la plante.*

(R) : *nous sommes complémentaires sur ce sujet « présence des antibiotiques ». Un certain nombre d'essais ont été effectués sur des parcelles où il y a des épandages de fumier compostés, de lysats de digestats, il y a des suivis sol, eau et plantes, au niveau des molécules. Depuis peu, les chimistes et les microbiologistes travaillent ensemble sur la partie eaux usées, matières fertilisantes, apport de boues et autres effluents d'élevage, avec des suivis impact sur la microbiologie du sol. Alain HARTMANN, à Lyon, travaille sur ces aspects-là.*

Jean-Claude MOUNOLOU (Q) : c'est à propos de la transition température et aérobie/anaérobie dans les méthanisations, est-ce qu'il est possible d'imaginer que la transition métabolique est violente pour les bactéries sensibles qui sont en multiplication active au moment où démarre la méthanisation et moins violente sur les bactéries qui se multiplient plus lentement, qui sont plus résistantes et, qu'en conséquence, vous ayez des effets quantitatifs mesurés après méthanisation ?

Est-ce que cela influe sur l'aptitude à se multiplier des unes et des autres, sachant qu'au démarrage, elles ont des aptitudes différentes parce que l'effet de la condition métabolique est plus important pour les sensibles que pour les résistantes ?

Anne-Marie POURCHER : *les études montrent que le fait que la bactérie possède une résistance ne va pas la privilégier. Nous avons mené une étude qui n'a pas montré de différence entre E. coli résistant à la ciprofloxacine et E. coli « normal ».*

Claude HURIET (C) : c'est plus un commentaire sur une question précédente au sujet de la transmission finale sur les légumes ; il y a peu de risques car la charge bactérienne résistante est considérablement diminuée au cours du processus industriel. Une étape est oubliée, c'est celle de la manutention des légumes avec la possibilité d'une contamination par des bactéries résistantes à partir de la flore digestive humaine.

Anne-Marie POURCHER (R) : *il y a eu des études sur l'usage des eaux usées avec quantification sur les végétaux qui montre que c'est une hypothèse qu'il faut envisager.*

Claude HURIET (Q) : la question est posée à Dominique PATUREAU, qui, dans son exposé portant sur les effluents d'élevage et les études quantitatives et qualitatives, faisait référence à une dispersion des données et qui a donné l'un des rares éléments positifs concernant la bonne position de la France pour la diminution de la consommation d'antibiotiques. Par rapport à d'autres pays, comme l'Italie ou l'Espagne, où les dosages dans les effluents sont très différents, est-ce qu'il y a, en termes d'attitude du consommateur et peut-être aussi du produit, des différences significatives ? Autrement dit, est-ce que la projection de documents comme ceux-là risque d'être un élément dissuasif pour l'achat de viandes avec d'autres pays de l'Union Européenne ? Est-ce, ou non, neutre pour le consommateur ?

Dominique PATUREAU (R) : *il m'a été demandé de faire un état des lieux, ce que j'ai fait, mais en réalité nous avons peu de données. En outre, nous ne disposons que d'éléments très ponctuels. Il n'y a aucun retour dans le temps.*

Claude HURIET (Q) : cependant, vous avez dit que cette forte dispersion des données était liée aux usages très variables d'un pays à l'autre.

Dominique PATUREAU (R) : *tout à fait ; en diminuant notre consommation, nous devrions, a priori, diminuer la présence de ces contaminants dans les effluents. Mais il n'y a pas de données permettant de dire quelles étaient les teneurs il y a dix ans et quelles sont les teneurs maintenant.*

Claude CHOISY (Q) : qu'en est-il du procédé de prétraitement des lisiers par électrolyse, le procédé EDF ou d'autres permettant notamment de traiter les lisiers porcins ?

(R) : *il ne s'agit pas d'un procédé d'usage courant.*

Claude CHOISY (C) : il peut être particulièrement important dans les pays qui ont de grands élevages de porcs en réduisant les volumes de lisier.

(R) : *il n'y a pas de données sur ce type de procédés ; ils servent essentiellement à réduire la masse mais on ne sait pas s'il y aura des effets de concentration.*

Claude CHOISY (C) : une remarque par rapport à la question sur la meilleure survie possible des bactéries résistantes dans les composts. Dans les composts, il y a principalement une baisse du pouvoir réducteur qui n'est pas compatible avec la survie d'*E. coli*, qui est chimio-organotrophe, aérobien-anaérobie facultatif. Les antibiotiques ne vont pas changer le métabolisme de la bactérie.

En ce qui concerne la dispersion des résultats entre les pays, est-ce qu'elle ne peut pas être liée aux différences de capacités analytiques pour détecter les antibiotiques dans les matrices ?

(R) : *on peut toujours remettre en question la validité des méthodes analytiques, mais plus difficilement quand il s'agit de concentrations importantes facilement dosables. La variabilité est plutôt liée aux usages.*

Jean-Louis BERNARD (Q) : pendant des siècles nous avons conservé le fumier en l'état. Aujourd'hui, on a tendance à le stocker dans des fosses ; cela dit, le compostage et la méthanisation représentent une évolution considérable. Est-ce que, par rapport à la problématique que vous suivez sur les antibiotiques et les bactéries résistantes, on peut, sans se tromper, affirmer aux agriculteurs que ces techniques, en plein devenir, sont pour eux une évolution très positives ?

(R) : *il vaut mieux composter qu'épandre directement. Par rapport à la matrice initiale, on n'élimine pas tout mais il y a un énorme impact. Il est peut-être moins fort pour la digestion mésophile que pour le compostage en ce qui concerne les bactéries résistantes et les pathogènes mais les intérêts de ces procédés ne se limitent pas aux antibiotiques et à l'antibiorésistance.*

« Les pistes pour contourner l'antibiothérapie »

Arlette LAVAL Professeur émérite à ONIRIS, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, membre correspondant national de l'Académie d'Agriculture de France

« *Ne plus utiliser d'antibiotiques en médecine vétérinaire ? Une spirale vertueuse !* »

La maîtrise de l'antibiorésistance en médecine vétérinaire passe par la réduction de leur usage et l'optimisation des méthodes de traitement. La mise en place du plan Ecoantibio 2017 par le Ministère de l'Agriculture, qui prévoit une réduction de leur usage de 25% en 5 ans donne des résultats très encourageants. Comment expliquer l'instauration de cette « spirale vertueuse » ?

La volonté publique est importante en toile de fond mais elle n'aurait pas suffi si les éleveurs et les vétérinaires n'avaient pas adhéré à la démarche. Sachant que la réduction de la résistance suit la réduction des consommations, l'idée générale est de réduire les quantités consommées, tout en appliquant de bonnes pratiques thérapeutiques car il est hors de question de laisser les animaux malades sans traitement.

Dans les faits, tout a débuté avec l'abandon des antibiotiques facteurs de croissance, définitif au 1er janvier 2006. Le dernier rapport de l'ANSES préconise la fin de leur usage à titre strictement préventif, en particulier sous forme d'aliments médicamenteux, pour les remplacer par des traitements individuels ou des traitements collectifs courts, administrés dans l'eau de boisson. La démarche est d'ores et déjà engagée. Les antibiotiques critiques ne peuvent plus être utilisés que dans des conditions strictes qui vont considérablement réduire leur utilisation.

Dans les élevages contaminés, les produits pouvant être utilisés comme une « alternative aux antibiotiques » associés à des mesures diététiques qui ne cessent de s'améliorer, constituent aussi une approche intéressante. Surtout, le contrôle des infections doit faire une large part à la vaccination. L'histoire des infections récentes bactériennes et virales montrent que lorsque les vaccins sont efficaces et correctement utilisés, ils permettent de réduire considérablement le recours aux antibiotiques.

Une meilleure gestion zootechnique et sanitaire des élevages permet aussi de réduire les conséquences des infections latentes inévitables après quelques années d'existence : pratique de la bande unique dans les filières qui le permettent (porcs, volailles, lapins, veau de boucherie), quarantaine stricte, maîtrise de la ventilation, de la densité, des conditions d'alimentation, prévention des stress de toute nature. Une bonne gestion de la circulation des animaux (biosécurité interne) évite que les animaux les plus âgés, potentiellement infectés, ne contaminent les sujets les plus jeunes, plus vulnérables.

La solution la plus élégante consiste sans nul doute en un dépeuplement total du troupeau contaminé, en repeuplant avec des reproducteurs indemnes de contaminations, puis en les entretenant dans de strictes conditions de biosécurité pour éviter la réintroduction des agents pathogènes à partir des vecteurs animés (reproducteurs, visiteurs y compris les techniciens et vétérinaires) et des intrants de toute nature qui doivent tous être strictement tracés et contrôlés.

Enfin, la sélection de lignées d'animaux génétiquement résistants aux agents pathogènes les plus répandus représente aussi une voie d'avenir prometteuse.

La pérennité des résultats nécessite un suivi rigoureux des autorités de tutelle en particulier sous forme de contrôle du respect des obligations réglementaires. En effet on ne peut ignorer la menace d'effets pervers potentiellement dangereux. Par ailleurs, ces mesures sont coûteuses et dans des conditions économiques difficiles, elles risquent de ne plus être appliquées.

Pour poursuivre la progression et surtout ne pas rechuter, il y a sans doute lieu d'établir un suivi étroit de l'administration (évolution de la réglementation, intensification des contrôles), de rester vigilants (en particulier vétérinaires et techniciens), d'intensifier l'éducation, et de faire attention aux effets pervers de certaines mesures relatives au bien-être car « l'enfer est pavé de bonnes intentions ».

Par ailleurs, il faut porter attention aux intrants tels que les reproducteurs (quelles sont les garanties apportées, comment sont-elles validées ?), les importations (forte prévalence de SARM en Europe du Nord chez le porc, salmonelles pathogènes dans plusieurs pays exportateurs), et les matières premières alimentaires, y compris la paille (contamination de poulettes par *Salmonella enteritidis*, Virus de la DEP en 2014).

La crise économique représente certainement la plus grosse difficulté car la plupart de ces mesures sont coûteuses, limitant l'investissement, ne facilitant pas ni la vaccination qui est souvent abandonnée dans une vision court termiste, ni l'application de procédures de désinfection. Ainsi les antibiotiques ne doivent pas coûter moins cher que les autres mesures

En terme de perspective, il s'agit de simplifier les démarches administratives lors de la rénovation et de l'extension des élevages, et de faciliter les financements car un élevage en bonne santé dégage davantage de revenus et le retour sur investissement est finalement rapide

Olivier PATEY, Maladies infectieuses et tropicales, CHI Lucie et Raymond Aubrac, Villeneuve Saint Georges
« *Place de la phagothérapie dans le traitement des infections bactériennes* »

La phagothérapie est le traitement des infections bactériennes par des virus naturels, les bactériophages ou phages. Leur action lytique sur les bactéries est connue depuis la fin du 19^{ème} siècle et ils ont été utilisés chez l'homme pour la première fois dès 1919 par Félix d'Hérelle pour traiter des dysenteries bacillaires chez l'enfant, à l'hôpital des enfants malades à Paris. Depuis cette date, ils ont été largement utilisés à travers le monde, pour laisser la place, avec l'arrivée de la pénicilline G, aux antibiotiques qui ont pris leur place dans les pays de l'Ouest. Ils ont continué à être employés en URSS .

Ces phages lytiques sont spécifiques d'espèce, voire de souche, ce qui impose un diagnostic microbiologique pour une utilisation optimale. Ils existent actuellement sous forme monovalent, spécifiques d'une bactérie, ou polyvalent, soit d'espèce (cocktail de phages antistaphylocoques par exemple) soit actifs sur de nombreuses espèces bactériennes (intestiphage pour les infections digestives).

Leur action est indépendante du profil de résistance aux antibiotiques. Ainsi les cocktails antistaphylococciques commercialisés sont actifs sur plus de 90 % des souches de *Staphylococcus aureus*, quelle que soit sa résistance aux antibiotiques. Son action lytique est extrêmement rapide. Cette action est complétée par une action anti-biofilm grâce à des enzymes lytiques que produisent les phages, détruisant le biofilm et empêchant sa formation. Les bactéries sont ainsi libérées et à la merci des antibiotiques et des phages. Il existe ainsi une action synergique de ces deux agents antibactériens connue depuis les années 1940. Par ailleurs les biofilms ont une action délétère sur les ostéoblastes retardant l'ossification et la guérison des infections ostéoarticulaires et cette action pourrait expliquer l'évolution rapidement favorable observée avec les phages. Toutes les voies d'administration sont possibles, la voie locale étant préférable afin d'éviter une déperdition du potentiel phagique. Cependant, il a été montré depuis les années 40 que quelle que soit la voie d'injection, les phages se dirigent et se multiplient au foyer infectieux de façon exponentielle.

Les modèles animaux se multiplient (infections respiratoires, ostéoarticulaires avec et sans matériel étranger..) confirmant l'efficacité et la tolérance des phages ainsi que son action synergique avec les antibiotiques.

Leur rôle dans l'arsenal thérapeutique antibactérien apparaît donc double , à la fois dans le traitement des infections à bactéries multi voir totorésistantes, mais également dans le traitement des infections à bactéries sensibles aux antibiotiques pour optimiser celui-ci (échecs thérapeutiques liés aux biofilms notamment).

Les données chez l'homme restent cependant limitées à l'Ouest, en raison des problèmes réglementaires rendant impossible l'utilisation légale des phages russes ou géorgiens. À ce jour seuls deux cocktails de phages (anti-*Escherichia coli* et anti-*Pseudomonas aeruginosa*) sont disponibles en France dans un essai chez les grands brûlés avec une extension très limitée par la possibilité d'ATU nominatives depuis quelques semaines.

Les données de la littérature et la large utilisation mondiale depuis près de 100 ans sont très rassurantes quant à une éventuelle toxicité ces produits ayant même été utilisés par voie intra thécale.

Il existe un projet de recherche préclinique sur la mise au point d'un cocktail de phages antistaphylococciques qui devrait déboucher sur la réalisation de PHRC sur les infections ostéoarticulaires et le pied diabétique.

En attendant, les patients désirant se faire traiter doivent suivre la voie du tourisme médical vers la Géorgie.

Les indications thérapeutiques potentielles sont extrêmement nombreuses : les infections ostéoarticulaires, notamment sur prothèse, les infections respiratoires chroniques et récidivantes dans le cadre de la mucoviscidose ou des DDB, les infections du pied diabétique, certaines infections urinaires... Il existe des mycobactériophages qui pourraient être utilisés dans les tuberculoses MDR ou XDR permettant de réduire la contagiosité en détruisant les bactéries extracellulaires, les formes intracellulaires relevant de la vectorisation de ces phages.

À noter l'existence de l'association PHAGOTHERAPIE 2020 (Association Loi 1901) dont l'objet est de développer un cadre spécifique pour une utilisation régulée de la phagothérapie, et plus particulièrement de susciter et promouvoir la recherche sur la phagothérapie, de centraliser et diffuser les connaissances scientifiques, de coordonner les initiatives et les activités des organismes publiques, des chercheurs, des industriels et des soignants, de favoriser les actions et décisions en matière sanitaire, d'évaluer l'intérêt de la phagothérapie et de la phagoprophylaxie, de définir les modalités pratiques d'utilisation de la phagothérapie (besoins, compositions, indications), et enfin d'accompagner les patients désireux de bénéficier de la phagothérapie.

Philippe BULET, Institute for Advanced Biosciences, Centre de Recherche Université Grenoble Alpes, Inserm U1209, CNRS UMR 5309, (Grenoble) - Plateforme BioPark d'Archamps

« *L'avenir des peptides antimicrobiens issus de la biodiversité comme agent thérapeutique. Sommes-nous face à un rêve ou à une réalité ?* »

Conservés au cours de l'évolution, les peptides antimicrobiens (PAMs) aussi appelés peptides de défense sont ubiquitaires et font partie intégrante de la réponse immunitaire innée. Ils ont été retrouvés dans l'ensemble des organismes vivants de la paramécie à l'homme en passant par les micro-organismes et les plantes. Les PAMs sont soit induits suite à une infection soit constitutifs et stockés dans des cellules (sanguines ou épithéliales). Les méthodes d'isolement et de caractérisation de ces molécules reposent sur des approches bio-guidées et/ou sur des études par homologie. Les PAMs présentent une diversité structurale particulièrement importante qui les rend difficiles à classer, leur nomenclature reste un débat ouvert. Cependant, certains points structuraux permettent de les organiser en trois grandes classes : (1) les peptides à ponts disulfures, (2) les peptides linéaires qui adoptent une structure en hélices alpha et (3) les peptides non structurés riches en certains acides aminés. Malgré une forte diversité structurale, ils ont tendance à posséder des propriétés physicochimiques communes. Le mode d'action des PAMs a longtemps été considéré comme uniquement membranolytique vis à vis de leurs cibles. Actuellement plusieurs hypothèses sont émises concernant le mode d'action des PAMs, y compris l'interaction avec des récepteurs intracellulaires. Le pipeline des entreprises du médicament comporte plusieurs milliers de molécules. Historiquement ce pipeline est dominé par les petites molécules, bien que les taux d'attrition soient élevés. Actuellement les peptides thérapeutiques ou à vocation thérapeutique représentent une part non négligeable du marché des médicaments, même si tout reste à faire autour des PAMs. Il est désormais évident et reconnu que nous ne pouvons pas continuer à nous appuyer indéfiniment sur les antibiotiques conventionnels dans la mesure où ceux-ci génèrent l'apparition de plus en plus rapide de résistances et multi-résistances. Les PAMs disposent de nombreux atouts pour en faire des candidats potentiels dans la lutte à la résistance aux antibiotiques.

L'analyse des forces, faiblesses, opportunités et menaces des peptides naturels et leur usage comme agents thérapeutiques font apparaître des forces (Bonne efficacité, tolérance, sécurité, sélectivité, rapidité d'action, métabolisme prévisible, multifonctions, protocoles de synthèse standards, présence dans l'ensemble du règne du vivant), des faiblesses (Instabilité, sensibles aux protéases enclin à l'oxydation et à l'hydrolyse, possibilité d'agrégation, une demi-vie faible, élimination rapide, disponibilité orale très limitée, coût de production), des opportunités (découvertes de nouvelles molécule, optimisation de séquences, librairies ciblées, formulation, conjugaisons avec des thérapeutiques, voies d'administration non parentale), et des menaces (Immunogénicité, brevets qui tombent, besoin d'accroître la sécurité et l'efficacité, acquisition de résistance pour certains, diminution du coût de production.

L'économiste Jim O'Neill a récemment souligné que des actions urgentes sont nécessaires pour éviter que la médecine préventive retourne « au Moyen Age ». En effet, les prévisions montrent qu'à l'horizon 2050, la résistance aux antibiotiques fera un mort toutes les 3 secondes et que depuis mi-2014 plus d'un million de personnes sont mortes à cause d'une infection liée à la résistance aux antibiotiques.

Alain PHILIPPON, Professeur émérite, Faculté de Médecine Paris Descartes

« *Cannibalisme bactérien : le renouveau ?* »

La notion de cannibalisme bactérien ou de bactéries prédatrices est relativement récente (1962). Cette découverte d'agents bactéricides de type vibron (*d-Proteobacteria*) se développant aux dépens de bactéries à Gram-négatif telle *Escherichia coli* suscita beaucoup d'espoirs comme alternative aux antibiotiques. D'ailleurs le nombre de travaux publiés jusqu'en 1990 fut conséquent. Ils permirent d'en préciser plusieurs caractéristiques. Ainsi les bactéries prédatrices appartenaient au genre *Bdellovibrio* avec comme principale espèce, *Bdellovibrio bacteriovorus*, petit bacille à Gram-négatif, incurvé, mobile (ciliature polaire), aérobic strict ne pouvant pousser en l'absence d'une bactérie hôte, *E. coli* par exemple. Son spectre d'action a été précisé, limité à divers bacilles à Gram-négatif, pathogènes de l'homme, des animaux ou encore de plantes telles entérobactéries dont les salmonelles, *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. thomasi*), vibrions (*V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*). Ce type de bactéries a été isolé de divers écosystèmes dont le sol (rhizosphère), les eaux fluviales ou d'estuaire, mais aussi du tube digestif des mammifères. Le cycle lytique a été particulièrement étudié (microscopie électronique). D'une durée de 3 à 4 h, il a mis en évidence plusieurs phases (attachement, pénétration dans l'espace périplasmique, multiplication de 3 à 6 cellules filles et enfin lyse). Enfin l'incapacité de se multiplier lors de cultures cellulaires et son faible pouvoir inflammatoire justifiait des perspectives thérapeutiques. Cependant entre 1960 et 1990, divers antibiotiques à large spectre (bêta-lactamines, aminosides, fluoroquinolones) limitèrent considérablement les recherches sur ces bactéries. Cependant, l'émergence ultérieure de bactéries multirésistantes aux antibiotiques redonnent un nouvel essor à ce phénomène qui permit, au cours de ces dernières années, de préciser divers genres (*Bdellovibrio*, *Bacteriolyticum*, *Bacteriovorax*, *Peredibacter*, *Variovorax*), leurs génomes variant de 2,97 à 3,85 Md avec l'individualisation de nombreuses enzymes, la faible virulence du LPS, la présence quasi-constante dans le tube digestif des mammifères dont

l'homme. Ces nouvelles connaissances justifiaient des essais *in vitro* afin de mieux caractériser le spectre antibactérien lors d'infections buccales, périodontales, oculaires ou pulmonaires. La diminution du portage digestif de *Salmonella*, a été démontrée chez les volailles et bovins. Des essais de biocontrôle en agro-alimentaire (graines de soja, champignons, crevettes, huîtres) laissent espérer des applications. Enfin, des études cliniques restent encore nécessaires chez l'homme afin d'en préciser quelques possibles indications.

En conclusion il s'agit d'une réelle alternative aux antibiotiques dans divers domaines, mettant en œuvre un mécanisme naturel très présent dans divers écosystèmes, avec des résultats expérimentaux prometteurs mais insuffisants.

« Les innovations technologiques en antibiothérapie » :

Thierry NAAS, Hôpital Bicêtre - EA7361, Université Paris-Saclay, Faculté de médecine Paris-Sud, Institut Pasteur
« *Traitement des infections à entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) vers une stratégie d'inhibition* »

La lutte contre les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) représente un des plus grands défis auxquels doivent faire face nos sociétés actuelles. Le nombre d'infections causées par des BMR à Gram-négatif étant en nette augmentation dans le monde entier, celles-ci représentent un enjeu majeur de santé publique. Dans le cas des entérobactéries, qui représentent plus de la moitié des infections chez l'homme et la majorité des BMR, l'augmentation du nombre de cas est encore plus importante. Les entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) constituent aujourd'hui la principale préoccupation en termes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Si la France n'est, pour l'instant, confrontée qu'à des épisodes épidémiques, plusieurs pays – tels que l'Italie, la Grèce ou l'Inde – sont endémiques pour ces souches multirésistantes. L'isolement de plus en plus fréquent de l'espèce *Escherichia coli* en France est une source d'inquiétude supplémentaire car il signifie que la diffusion des EPC ne se limite plus à l'hôpital mais a vraisemblablement atteint le milieu communautaire. L'incidence des infections graves avec ces bactéries est en augmentation et risque de se poursuivre dans les prochaines années. Les antibiotiques restant le plus souvent actifs vis-à-vis des EPC sont la colistine et la tigécycline. L'efficacité de ces deux molécules pour le traitement des bactériémies est discutée et de nombreuses résistances sont décrites. Ces résistances ont été décrites dans des pays endémiques où ces antibiotiques sont utilisés depuis plusieurs années.

Le pipeline et les perspectives de nouvelles molécules thérapeutiques dans le traitement des infections à EPC sont assez limités. Nombre de ces molécules sont en fait d'anciennes molécules qui sont repositionnées afin de faire face à cette menace microbiologique sans précédent. Aucune 'nouvelle' molécule dirigée contre une nouvelle cible n'est à prévoir dans les années à venir. La stratégie d'inhibition des β -lactamases et plus particulièrement des carbapénèmases est une alternative thérapeutique intéressante car elle a déjà prouvé son efficacité avec les molécules de type acide clavulanique, sulbactam ou tazobactam. En effet, l'association amoxicilline-acide clavulanique (Augmentin) est l'antibiotique le plus prescrit aussi bien à l'hôpital qu'en communauté. Plusieurs molécules inhibitrices de β -lactamases dites de nouvelle génération ont été décrites dont certaines sont déjà commercialisées aux USA. La plupart de ces molécules ne ciblent que certaines classes de β -lactamase et sont basées sur un squelette dérivé de l'avibactam et du relebactam (diazabicyclooctanes) et des boronates (RPX7009). Ces inhibiteurs sont capables d'inhiber efficacement les carbapénèmases de classe A, C et parfois D, mais pas la classe B ou métallo- β -lactamases (MBL). Aucun inhibiteur n'est actif sur les MBLs, alors que ces dernières sont en augmentation exponentielle. Des études épidémiologiques en Inde et au Pakistan ont estimé que le taux de colonisation était de 20% pour les EPC de type MBLs NDM, ce qui correspondrait à 200 à 300 millions d'individus. L'inhibiteur idéal des MBLs n'est pas encore trouvé, bien que le nombre de molécules décrites dans la littérature est conséquent. Les thiois, incluant la molécule utilisée en clinique pour traiter l'hypertension, le L-captopril, ou l'Aspergillomarasmine A ont montré une bonne activité d'inhibition de NDM-1, dans le domaine du μM .

Bien que l'efficacité des associations β -lactamase/inhibiteur a clairement été montrée, l'existence de plusieurs β -lactamases appartenant à des classes moléculaires différentes (e.g. classes A plus D, ou A plus B, ou A plus C) dans la même souche nécessitera des inhibiteurs capables d'inhiber différentes classes moléculaires. La recherche d'inhibiteurs agissant sur toutes les classes d'enzymes est complexe compte tenu du fait que ces enzymes ont peu d'identité de séquence, possèdent des mécanismes d'action différents (liaison covalente ou non) et que les dérivés des β -lactamines servent aussi de substrat.

En conclusion, de nouveaux antibiotiques sont annoncés comprenant des cyclines, des aminosides, des céphalosporines, des carbapénèmes, des quinolones ainsi que de nouveaux inhibiteurs au spectre large, capable d'inhiber plusieurs classes de β -lactamase (avibactam, relebactam). Cependant il s'agit de nombreux Anti Gram +, et certaines limitations concernent les cyclines (spectre très large), la plazomicine (résistance liée à méthylase), avibactam (résistance déjà décrite). Par ailleurs il y a un besoin d'inhibiteurs de métallo- β -lactamases (NDM)

Laurent DORTET, Maître de conférence hospitalo-universitaire, PharmD, PhD

« Culture des bactéries dites non cultivables : une voie vers la découverte de nouvelles molécules antibiotiques »

Dans les années 1940, l'introduction des premières molécules antimicrobiennes (pénicilline et streptomycine) a révolutionné la médecine. Depuis, la résistance aux antibiotiques n'a cessé d'évoluer en parallèle de l'utilisation des nouvelles molécules antibiotiques. Depuis les années 1990-2000, la résistance aux antibiotiques évolue plus vite que l'introduction dans la pratique clinique de nouveaux antibactériens, avec l'émergence de bactéries multi- voire pan-résistantes aux antibiotiques. Ce retour vers une ère pré-antibiotique risque à plus ou moins court terme de limiter drastiquement l'ensemble des domaines médicaux tels que la chirurgie lourde, la transplantation et les thérapies anticancéreuses immunosuppressives.

Actuellement, la majorité des antibiotiques utilisables en clinique dérive plus ou moins directement de molécules produites naturellement par des germes environnementaux. En effet, les approches exclusivement synthétiques et moléculaires pour la découverte et la production de nouvelles molécules antibiotiques n'ont jamais abouties à des résultats aussi intéressants que le « screening » des molécules naturelles produites par des germes telluriques.

Cependant, environ 99 % des espèces bactériennes présentes dans l'environnement sont dites non-cultivables, tout du moins dans les conditions de cultures classiques des laboratoires de microbiologie. La mise au point de méthodes de cultures adaptées aux bactéries dites « non-cultivables » est donc une voie de recherche cohérente pour la découverte de nouvelles familles d'antibiotiques.

Récemment, plusieurs méthodes de cultures ont été développées pour la culture des bactéries dites « non-cultivables ». Ces méthodes utilisent des technologies de (i) culture « *in situ* », c'est à dire directement en contact de l'environnement naturel de la bactéries ou (ii) l'usage de facteurs de croissance particuliers. En 2015, une de ces approches a permis la découverte d'une nouvelle molécule antibiotique, la teixobactine, produite par une bactérie non-cultivable jusqu'alors, *Eleftheria terrae*. La teixobactine est la première représentant d'une nouvelle famille d'antibiotiques capables d'inhiber la synthèse du peptidoglycane. Elle est capable de se lier à des motifs très conservés du lipide II (précurseur du peptidoglycane) et du lipide III (précurseur des acides teichoïques), lui conférant une activité antibactérienne vis-à-vis de l'ensemble des bactéries à Gram positifs (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium* ...) et de *Mycobacterium tuberculosis*, y compris les souches multi-résistantes.

En conclusion, le développement de nouvelles molécules antibiotiques issues du « screening » de composés naturels produits par des bactéries dites non-cultivable (99 % des bactéries n'ont pas encore été cultivées) semble être une voie intéressante de développement. De plus, un réservoir immense de molécules chimiques produites par l'industrie pharmaceutique lors du développement de molécules thérapeutiques (hors domaine anti-infectieux) n'ont pas été « screenées » pour leur activité antibiotique potentielle, ouvrant encore le champs des possibilités dans la découverte de nouveaux agents antibactériens.

David BIKARD

« Étudier et Combattre les Bactéries Pathogènes à l'aide des CRISPR »

Les systèmes CRISPR-Cas ont récemment émergés comme un outil biotechnologique puissant. La protéine Cas9 est une nucléase guidée par des petits ARNs pour couper une séquence cible. L'utilisation de cette nucléase facile à reprogrammer nous a permis de développer des outils utilisant Cas9 pour modifier les génomes bactériens ou encore contrôler leur expression génétique. En particulier, nous nous intéressons au développement de méthodes de criblage à haut débit utilisant ces techniques. Finalement, nous avons démontré comment les systèmes CRISPR peuvent être retournés contre les bactéries pour développer des antimicrobiens spécifiques. La protéine Cas9 est en effet capable de tuer la bactérie en coupant dans son chromosome. Il est possible de spécifiquement éliminer les bactéries résistantes en programmant les ARN guides pour cibler des gènes de résistance aux antibiotiques. La combinaison de ces outils devrait accélérer les recherches sur la résistance aux antibiotiques et permettre de développer de nouvelles stratégies antimicrobiennes.

Conclusion par les Présidents des cinq Académies