

6. Antibactériens à base de phages

6.2 Les phages pour lutter contre les biofilms

Diapositive 1 :

Comment les phages peuvent-ils nous aider à lutter contre les biofilms? Avant d'essayer de répondre à cette question, nous allons vous présenter le monde des biofilms. Ensuite, nous découvrirons comment les phages et leurs enzymes peuvent nous aider à vaincre la menace du biofilm.

Diapositive 2 :

Qu'est-ce qu'un biofilm? Les biofilms sont des groupes structurés de cellules bactériennes, formés soit par une espèce de bactéries, soit par une combinaison de plusieurs espèces bactériennes. Les bactéries sont intégrées dans une matrice structurée de substances polymères extracellulaires autoproduites, également appelées EPS. Cette matrice EPS est souvent composée de polysaccharides, mais peut également comprendre des protéines et même de l'ADN.

Pour illustrer cette composition de biofilm, nous allons aborder rapidement sa formation. Tout d'abord, les cellules bactériennes s'attachent à la surface. Deuxièmement, la production d'EPS commence, entraînant une fixation irréversible de la surface des cellules. Dans une troisième phase, les cellules se déplacent et se regroupent, conduisant à la formation du biofilm mature. À ce stade, la matrice EPS devient un complexe structuré avec des canaux permettant le transport des nutriments et de l'oxygène, ce qui amène des types de cellules distinctes dans tout le biofilm. Enfin, les cellules peuvent se détacher et migrer pour commencer un nouveau biofilm.

Comme vous le remarquez, la matrice EPS est l'une des principales caractéristiques d'un biofilm, mais elle est également responsable des problèmes concernant le traitement du biofilm. L'EPS ne protège pas seulement les cellules contre les contraintes environnementales telle que l'oxydation, mais également contre les antibiotiques et les réponses immunitaires de l'hôte, ce qui rend les biofilms plus difficiles à traiter que les bactéries planctoniques.

Diapositive 3 :

Comment les phages peuvent-ils aider à lutter contre ces biofilms? Les cocktails de phages peuvent réduire la quantité de biofilm. Des expériences montrent qu'un cocktail de trois phages pourrait éradiquer un biofilm composé d'une seule espèce bactérienne. Cependant, la plupart des biofilms sont formés d'une accumulation de multiples types de bactéries. Dans ce cas, les cocktails étaient incapables d'éliminer du biofilm ne serait-ce qu'une espèce bactérienne, et donc encore moins d'effacer l'ensemble de la structure.

Il existe certaines limites à l'utilisation de phages et de cocktails de phages. Comme indiqué sur la figure, des cocktails de phages très complexes et variés sont nécessaires pour réduire les biofilms multi-espèces. Dans ce type de biofilms, les bactéries cibles sont entourées par d'autres espèces, qui ne sont pas sensibles au phage utilisé, protégeant ainsi les bactéries cibles. Enfin, il subsiste l'inconvénient biologique des bactéries devenant résistantes aux phages.

Les phages seuls ne suffisent pas à lutter contre les biofilms, cependant les phages ont trouvé un moyen d'infecter les bactéries au sein d'un biofilm, en utilisant des enzymes spécifiques. Nous allons maintenant nous concentrer sur un type d'enzyme, à savoir la dépolymérase d'EPS ou de polysaccharide.

Diapositive 4 :

Différents groupes de phages produisent des dépolymérases de polysaccharides. Ces dépolymérases peuvent être attachées au phage lui-même, en particulier sur la queue ou la capsid, ou peuvent être sécrétées dans l'environnement. Les enzymes dissolvent la liaison entre les polysaccharides. Ils ciblent les lipopolysaccharides, également appelés LPS, de sorte que le phage puisse s'attacher à l'enveloppe bactérienne. Ils peuvent également dégrader la structure complexe de la matrice EPS.

Ceci démontre comment ces enzymes peuvent nous aider dans la lutte contre les biofilms. Les dépolymérases dégradent la matrice EPS, perturbant ainsi la structure de protection autour des cellules bactériennes, rendant les bactéries disponibles pour un traitement antibiotique. La combinaison de dépolymérases et d'antibiotiques peut conduire à l'élimination complète du biofilm.

Diapositive 5 :

Maintenant, nous allons utiliser des exemples de recherche pour examiner de plus près le potentiel de ces dépolymérases.

Le premier cas est « Dépolymérase et fibrose kystique ». Les patients atteints de fibrose kystique sont confrontés à un mucus très dense et visqueux dans leurs poumons, induisant des difficultés respiratoires. Le mucus est un excellent endroit pour la formation de biofilm par des agents pathogènes tel que *Pseudomonas aeruginosa*. Pour lutter contre ces biofilms de *P. aeruginosa*, la recherche a commencé par les phages capables de dégrader la matrice EPS. Quatre phages susceptibles de dégrader les polysaccharides issus de la matrice EPS des *P. aeruginosa* ont été trouvés (Figure: plus l'absorbance est élevée, plus les polysaccharides sont dégradés). Ceci démontre la capacité à identifier des phages produisant des dépolymérases afin de lutter contre des maladies spécifiques avec biofilm.

D'autres chercheurs ont avancé d'un pas supplémentaire lorsqu'ils ont enquêté sur les dépolymérases de phages dirigés contre des *Staphylococcus aureus*, cause fréquente d'infections nosocomiales. Une dépolymérase EPS capable d'éliminer jusqu'à 90% des cellules du biofilm a été découverte. La plus grande découverte était que la protéine pouvait fonctionner indépendamment du phage. Ceci ouvre la voie à un traitement combiné des dépolymérases et des antibiotiques pour éliminer les biofilms.

Pour conclure, je vais vous donner une dernière astuce sur la sélection de la dépolymérase. Comme la composition réelle du EPS dépend des bactéries présentes à l'intérieur du biofilm, vous trouverez les dépolymérases les plus utiles sur le plan thérapeutique dans les phages qui ont co-évolué avec les bactéries cibles.

Diapositive 6 :

Pour conclure sur ce sujet, nous montrons un exemple de comment l'ingénierie des phages peut être utilisée pour combiner les propriétés de destruction bactérienne des phages lytiques avec les capacités des enzymes à dégrader l'EPS.

Si vous souhaitez réaliser cette stratégie, choisissez premièrement un bactériophage spécifique d'une bactérie bien représentée dans le biofilm. Ensuite, laissez les bactéries exprimer une dépolymérase à large spectre, qui peut être sécrétée dans l'environnement. Cette étude a utilisé la Dispersin B, une enzyme ciblant de multiples espèces.

Le phage conçu infecte le biofilm. Suite à l'infection, le phage se réplique à l'intérieur de la bactérie, tandis que la Dispersin B est exprimée. Lors de la lyse cellulaire, le phage et l'enzyme sont relâchés, permettant aux phages de continuer l'infection et donc de détruire les bactéries, tandis que l'enzyme dégrade fortement l'EPS, donnant au phage la possibilité d'atteindre toutes les bactéries. Cette stratégie a permis une destruction de 99% des cellules du biofilm.