



La résistance aux antibiotiques

PROJETS FINANCÉS SUR LA PÉRIODE 2011 – 2021

Les cahiers de l'ANR
NUMÉRO 14 – NOVEMBRE 2022



LES CAHIERS DE L'ANR

Les cahiers de l'ANR traitent de questions thématiques transverses aux différents appels à projets financés par l'Agence nationale de la recherche (ANR). Cette collection, qui existe depuis 2009, met en perspective les recherches, les innovations et les avancées technologiques en cours dans un domaine spécifique. Sans prétention d'exhaustivité, son objectif est de revenir sur les enjeux sociétaux et les défis d'avenir identifiés par les communautés de recherche mobilisées sur une thématique. Les cahiers de l'ANR s'adressent aussi bien aux chercheurs, qu'aux décideurs politiques et au grand public.

Le présent cahier concerne la résistance aux antibiotiques et fait référence aux différents projets de recherche financés par l'ANR dans ce domaine. Ce cahier, le 14^e de la collection, a été conçu par Philippe Bouvet, Jean-Marc Cavaillon, Jean-Claude Dussaule, Sophie Gay, Marie-Pierre Gosselin, Quentin Merel, Ana Navarrete, Ingrid Pfeifer, Nadia Senni en collaboration avec la Direction de l'information et de la communication. Nous remercions l'ensemble des contributeurs et des relecteurs, et plus particulièrement Dominique Dunon-Bluteau, initiateur de ce cahier.

PRÉSENTATION

Une étude récente menée dans 204 pays estime qu'au niveau mondial, la consommation d'antibiotiques en pédiatrie a augmenté de 46 % entre 2000 et 2018¹. L'incidence annuelle de la présence de germes résistants aux antibiotiques a été régulièrement illustrée tant par des études menées en Europe que dans des pays émergents^{1,2}. L'Inde, la Thaïlande et l'Équateur figurent parmi les pays ayant un taux d'incidence de résistance particulièrement élevé, tandis que la Suède, le Canada et la Norvège présentent les taux les plus faibles³. Une étude multicentrique finlandaise révèle une forte augmentation des bactériémies nosocomiales dues à des bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*)⁴. En Iran, en pédiatrie, plus de 80 % des *Pseudomonas*, des *Acinetobacter* et des *Escherichia coli* sont résistants à l'ampicilline et l'amoxicilline⁵. En Afrique du Sud, 46 % des patients hospitalisés avec des infections par *Staphylococcus aureus*, l'étaient par des germes résistants à la méticilline (MRSA)⁶. Ces derniers sont associés à une mortalité supérieure en comparaison aux infections dues à des germes sensibles à la méticilline⁷. Que ce soit en France⁸ ou dans les pays en développement⁹, la résistance aux antibiotiques est généralement associée à une augmentation de la mortalité.

En utilisant des modèles statistiques prédictifs, il a été estimé à environ 4,95 millions le nombre de décès dans le monde associés à la résistance aux antibiotiques en 2019, dont 1,27 million directement attribuables à des bactéries résistantes aux antibiotiques. Les six principaux agents pathogènes responsables des décès associés à la résistance sont *Escherichia coli* (résistant aux céphalosporines de 3^e génération ; résistant aux fluoroquinolones), suivi de *Staphylococcus aureus* (résistant à la méticilline), *Klebsiella pneumoniae* (résistant aux carbapénèmes), *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* (résistants aux carbapénèmes) et *Pseudomonas aeruginosa*. La région du Globe la plus affectée par la résistance aux antibiotiques est l'Afrique subsaharienne occidentale¹⁰.



1 Browne AJ. et al., (2021) Global antibiotic consumption and usage in humans, 2000–18: a spatial modelling study. *Lancet Planet Health*; 5: e893–e904

2 Alicino C., et al., (2015) Trends in the annual incidence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: a 8-year retrospective study in a large teaching hospital in northern Italy, *BMC Infect. Dis.* 15: 415.

3 Klein EY. et al., (2019) Tracking global trends in the effectiveness of antibiotic therapy using the Drug Resistance Index, *BMJ Glob. Health*. 4: e001315.

4 Martelius T. et al., (2016) Nosocomial bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* resistant to third-generation cephalosporins, Finland, 1999–2013: Trends, patient characteristics and mortality, *Infect. Dis. (Lond)*; 48: 229–34.

5 Rabirad N. et al., (2014) Antimicrobial susceptibility patterns of the gram-negative bacteria isolated from septicemia in Children's Medical Center, Tehran, Iran, *J. Prev. Med. Hyg.* 55: 23–6.

6 Perovic O. et al., (2015) Prevalence and Trends of *Staphylococcus aureus* Bacteraemia in Hospitalized Patients in South Africa, 2010 to 2012: Laboratory-Based Surveillance Mapping of Antimicrobial Resistance and Molecular Epidemiology, *PLOS One*.10: e0145429.

7 Wang JT. et al., (2015) Comparison of Outcomes among Adult Patients with Nosocomial Bacteremia Caused by Methicillin-Susceptible and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Retrospective Cohort Study, *PLOS One*.10: e0144710.

8 Guillemot D. et al., (2005) Thirty-day mortality of nosocomial systemic bacterial infections according to antibiotic susceptibility in an 800-bed teaching hospital in France. *Clin Microbiol Infect*; 11: 502–4.

9 Seboxa T. et al., (2015) High mortality from blood stream infection in Addis Ababa, Ethiopia, is due to antimicrobial resistance, *PLOS One*. 10: e0144944.

10 Antimicrobial Resistance Collaborators. (2022) Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis, *Lancet*. 399: 629–55.

Pour lutter contre ce fléau, l'Organisation mondiale de la santé (OMS), l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE/WOAH) et le programme des Nations unies pour l'environnement (PNUE/UNEP) ont uni leurs efforts. Parallèlement, la France a développé un plan stratégique contre la résistance aux antibiotiques. Que cela soit au niveau national, européen ou mondial, la recherche constitue une arme stratégique pour :

- améliorer la compréhension de la transmission et de l'impact de la résistance aux antibiotiques dans tous les secteurs ;
- renforcer des interventions efficaces contre la résistance aux antibiotiques, élaborer de nouvelles stratégies antibactériennes et développer de nouvelles molécules antibiotiques ;
- contribuer à la surveillance intégrée multisectorielle ;
- étudier les évolutions comportementales face à l'usage des antibiotiques ;
- approfondir l'influence environnementale sur la dissémination de la résistance aux antibiotiques.

Côté français, l'ANR a été un acteur de choix pour soutenir la recherche française sur la résistance aux antibiotiques en renforçant le financement des projets de recherche dans ce domaine, en favorisant l'alignement de la recherche française avec celle menée aux niveaux européen et mondial, et en stimulant les collaborations interdisciplinaires, internationales, ainsi que le transfert de connaissance.

Le présent *cahier* dresse un historique et un état des lieux de la recherche sur l'antibiorésistance. Outre la présentation des appels à projets ayant contribué au financement de la recherche française dans ce domaine de 2011 à 2021, il propose une analyse des publications issues des projets financés ainsi qu'une sélection de projets de recherche.

ABRÉVIATIONS

AAPG	Appel à projets générique
BSLE	Bêta-lactamases à spectre élargi
CARB-X	Accélérateur biopharmaceutique de lutte contre les bactéries résistantes aux antibiotiques
CDC	Centers for Diseases Control
CE/CES	Comité d'évaluation scientifique
Covid-19	Coronavirus infectious disease
EPHA	Agence européenne de santé publique / European Public Health Alliance
ERA-NET	European Research Area Network
GARDP	Partenariat global dans la recherche et le développement dans le domaine antibiotique / Global Antibiotic Research and Development Partnership
IDEX	Initiatives d'excellence
IHU	Institut hospitalo-universitaire
IRT	Institut de recherche technologique
JCJC	Jeunes chercheuses et jeunes chercheurs
JPIAMR	Joint programming initiative on Antimicrobial Resistance
LabEx	Laboratoire d'excellence
MRSA	Staphylocoque doré méticilline résistant
MRSEI	Montage de réseaux scientifiques européens ou internationaux
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
OIE/WOAH	Organisation mondiale de la santé animale
OMS/WHO	Organisation mondiale de la santé
PPR	Programme prioritaire de recherche
PRC	Projet de recherche collaborative
PRCE	Projet de recherche collaborative entreprises
PRCI	Projet de recherche collaborative international
RHU	Recherche hospitalo-universitaire
UE-JAMRAI	Joint Action Antimicrobial Resistance and Healthcare-Associated Infections
PNUE/UNEP	Programme des Nations unies pour l'environnement
WAAAR	Alliance mondiale contre la résistance aux antibiotiques / World Alliance Against Antibiotic Resistance

SOMMAIRE

Présentation	3
Abréviations	5
PARTIE 1	
Contexte historique et état des lieux	7
<ul style="list-style-type: none">• La découverte des antibiotiques• L'émergence de la résistance• En quête de nouveaux antibiotiques• Les politiques de lutte contre la résistance aux antibiotiques• La pandémie de Covid-19 et l'usage des antibiotiques• Le point de vue du Dr Jean Carlet	
PARTIE 2	
Les appels à projets de l'ANR	17
<ul style="list-style-type: none">• L'Appel à projets générique (AAPG)• L'initiative de programmation conjointe sur la résistance aux antimicrobiens (JPIAMR)• Le programme franco-allemand sur la résistance aux antimicrobiens• Les autres opportunités de collaboration internationale• Les appels dédiés au renforcement des partenariats public-privé• Le programme prioritaire de recherche (PPR)• Les laboratoires d'excellence (LabEx)• Les autres actions de France 2030 impliquées dans la recherche sur l'antibiorésistance	
PARTIE 3	
Publications scientifiques	37
PARTIE 4	
Panorama des projets scientifiques financés	41
Annexes	85

CONTEXTE HISTORIQUE ET ÉTAT DES LIEUX

La découverte des antibiotiques

Le terme « antibiotique » pour décrire une substance opposée au développement de la vie est proposé en 1871 par François Henri Hallopeau, un dermatologue ayant exercé dans les hôpitaux de Tenon, Saint-Antoine et Saint-Louis. Le terme « antibiose », par opposition à symbiose, fut proposé par Jean Paul Vuillemin, mycologiste et professeur à la faculté de médecine de Nancy en 1889 pour désigner la sélection naturelle d'un organisme par rapport à un autre : « *L'homme, par une intervention raisonnée, dominera les maladies des plantes, des animaux, de sa propre espèce, autant qu'il connaîtra les puissances symbiotiques ou antibiotiques, qu'il doit renforcer ou neutraliser, pour que tout s'équilibre et se régularise autour de lui* ».

En effet, le monde microbien, pour exister, se doit de neutraliser les autres espèces microbiennes et a mis en place, à ces fins, de nombreuses stratégies de lutte et d'élimination de la concurrence microbienne. L'existence de substances antibiotiques est donc aussi vieille que le monde des microbes, qui a, par la même occasion, aussi mis en place des mécanismes de résistance pour contrecarrer ou échapper à ces approches moléculaires. Ce n'est que tardivement que l'homme a su exploiter ces antibiotiques pour lutter contre les maladies infectieuses.

On doit la première observation d'antibiose à Louis Pasteur qui, en 1877, alors qu'il étudiait la bactérie de l'anthrax avec Jules Joubert, ancien élève de l'École normale supérieure, rapportait que celle-ci ne se développait pas en présence d'autres micro-organismes : « *Chez les êtres inférieurs, plus encore que dans les grandes espèces animales et végétales, la vie empêche la vie* ». Par la suite, Victor Babès et Arnaldo Cantani rapportèrent, en 1885, cet antagonisme entre diverses souches de bactéries et l'envisagèrent à des fins thérapeutiques. Carl Alois Philipp Garré, ancien étudiant du microbiologiste Robert Koch, proposa, en 1887, des approches technologiques innovantes sur gélatine pour étudier l'antagonisme entre les différentes souches de bactéries. En 1889, le pathologiste Karl Gottfried Paul Döhle publia sa thèse dans laquelle il présentait qu'*in vitro*, le bacille de l'anthrax ne survivait pas en présence d'une bactérie qu'il nomma alors « *Micrococcus anthracotoxicus* ». Cette même année 1889, Charles

Bouchard, professeur de pathologie générale à la faculté de médecine de Paris et membre des Académies de médecine et de sciences démontrait que des germes de *Pseudomonas pyocyanea* (aujourd'hui *Pseudomonas aeruginosa*) offrait un degré considérable de protection à des lapins inoculés avec des germes de l'anthrax. En Allemagne, Rudolph Emmerich et Oscar Löw obtinrent un produit verdâtre et fluorescent à la forte odeur de jasmin à partir d'une culture de *Bacillus pyocyaneum*. Cette préparation tuait en cinq minutes des germes de *Vibrio cholerae* et de gonocoques, en dix minutes le bacille de la diphtérie et les streptocoques, en trois heures, le bacille de la dysenterie et en vingt-quatre heures, le bacille de la typhoïde et les staphylocoques. Emmerich et Löw créèrent alors un médicament qu'ils appelèrent « pyocyanase ». Ce fut le premier antibiotique utilisé dans les hôpitaux. En 1907, Charles Nicolle, démontra l'existence de substances bactéricides produites par *Bacillus subtilis*, travaux confirmés en 1912 avec d'autres *Bacillus* par Gustave Rappin, qui montra que des filtrats de bouillons de culture de ces germes avaient des effets bénéfiques contre la tuberculose. Une approche contre la tuberculose fut également proposée par Albert

“
L'existence de substances antibiotiques est donc aussi vieille que le monde des microbes.

Vaudremer qui démontra *in vitro* que le champignon, *Aspergillus fumigatus* était actif contre le bacille de la tuberculose. Par la suite, il mena des études chez l'humain, de 1910 à 1913, traitant plus de 200 patients tuberculeux avec un succès très relatif, allant de la guérison complète à une amélioration transitoire ou à une absence d'avantage thérapeutique. En 1925, André Gratia et sa collaboratrice Sara Dath rapportèrent leurs observations sur la bactériolyse des bactéries responsables de l'anthrax via le « streptothrix », un streptomycète, une bactérie

filamenteuse ressemblant aux champignons microscopiques que l'on trouve dans le sol, l'eau et la matière en décomposition qui s'avéra avoir un large spectre d'action.

Nombreux furent ceux qui découvrirent la capacité du *penicillium* à empêcher la croissance bactérienne avant d'en saisir l'impact potentiel (tableau 1).

Le terme antibiotique prendra son véritable envol en 1942, à la suite des travaux de Selman Waksman.

Plusieurs scientifiques reçurent le prix Nobel pour leurs travaux sur les antibiotiques : Gerhard Domagk (1939), Sir Alexander Fleming, Howard Florey, et Ernst Boris Chain (1945) et Selman Waksman (1952). La découverte et l'usage des antibiotiques ont contribué à prolonger l'espérance de vie en modifiant l'issue des infections bactériennes.

Tableau 1: Les premières contributions aux découvertes des antibiotiques

1869	Victor Feltz (1835-1893) & Léon Coze (1819-1896)	<i>Penicillium</i> empêche la croissance des bactéries
1871	John Scott Burdon-Sanderson (1828-1905) François Henri Hallopeau (1842-1919)	<i>Penicillium</i> empêche la croissance des bactéries Crée le mot « antibiotique »
1874	Sir William Roberts (1830-1899) Theodor Billroth (1829-1894)	<i>Penicillium</i> empêche la croissance des bactéries <i>Penicillium</i> empêche la croissance des bactéries
1876	John Tyndall (1820-1893)	<i>Penicillium</i> empêche la croissance des bactéries
1893	Bartolomeo Gosio (1863-1944)	L'acide mycophénolique comme agent antibactérien
1895	Vincenzo Tiberio (1869-1915)	Activité bactéricide d'extraits fongiques
1897	Ernest Duchesne (1874-1912)	Activité bactéricide <i>in vivo</i> d'extraits fongiques
1899	Rudolph Emmerich (1852-1914) & Oscar Löw (1844-1941)	Premier usage clinique d'un antibiotique (pyocyanase)
1929	Sir Alexander Fleming (1881-1955)	Découverte de la pénicilline
1930	Selman Waksman (1888-1973)	Renaissance du mot « antibiotique »
1935	Gerhard Domagk (1895-1964)	Découverte du sulfamido-chrysoïdine, commercialisé sous le nom de Prontosil®
1935	Jacques Tréfouël (1897-1977) & Thérèse Tréfouël (1892-1978)	Découverte des sulfamides
1936	Leonard Colebrook (1883-1967)	Usage clinique du Protosil® dans les fièvres puerpérales
1939	René Dubos (1901-1982)	Découverte de la tyrothricine
1940	Ernst Boris Chain (1906-1979) Edward Abraham (1913-1999) Howard Florey (1889-1968) Norman Heathley (1911-2004)	Isolement et purification de la pénicilline
1942	Albert Schatz (1920-2005)	Découverte de la streptomycine
1945	Benjamin Minge Duggar (1872-1956)	Découverte de l'auréomycine®

L'émergence de la résistance

Dès 1945, **Sir Alexander Fleming** s'alarme du risque de résistance :

« Je crains que si la pénicilline est en vente libre, les patients ne s'essaient à l'automédication, et ne prennent pas les doses suffisantes. En cas de doses trop faibles, les microbes ne sont pas tués. Et ils risquent d'apprendre à résister à la pénicilline. Voici quelques règles simples pour l'usage de la pénicilline :

Premièrement : ne l'utilisez que sur des microbes appropriés.

Deuxièmement : utilisez-la de manière à ce qu'elle soit en contact avec le microbe.

Troisièmement : prenez-la en dose suffisante.

Quatrièmement : prenez-la assez longtemps pour tuer le microbe. »

La résistance aux antimicrobiens survient lorsque les micro-organismes développent des stratégies qui rendent inefficaces les médicaments utilisés pour traiter les infections. Des pans entiers de la médecine moderne, et en premier lieu certains de ses progrès les plus notables, ne peuvent être mis en œuvre sans que des antibiotiques puissants ne soient disponibles pour prévenir ou traiter les infections bactériennes.

En France, en 2015, un groupe de travail coordonné par le Dr Jean Carlet, missionné par la ministre des affaires sociales, de la Santé et des Droits des femmes, rendait son rapport sur la problématique de la résistance aux antibiotiques¹¹. Ce rapport mentionne l'existence en France de plus de 150 000 infections annuelles par des bactéries multi-résistantes, entraînant le décès de 12 500 patients. 63 % de ces infections sont dues au *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et aux entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^e génération. Avec *Pseudomonas aeruginosa* résistant aux carbapénèmes, ces bactéries sont responsables de 88 % des décès. Ce sont les données de ce rapport qui ont servi de base à la structuration de la feuille de route interministérielle pour la maîtrise de la résistance aux antibiotiques publiée en novembre 2016. La France demeure un pays surconsommateur d'antibiotiques, avec une consommation de l'ordre de 30 % de plus que la moyenne européenne et presque trois fois plus que les Pays-Bas. Le corollaire est que la France apparaît comme l'un des pays européens les plus touchés par la résistance aux antibiotiques. L'antibiorésistance

est donc un problème majeur de santé publique dans notre pays. Une partie de l'augmentation des résistances est également liée à la pollution de l'environnement, à la contamination des rivières et des sols, au portage par la faune sauvage (oiseaux, rongeurs...), aux transferts internationaux non seulement des personnes mais aussi résultant du commerce international, et aux activités humaines. Il faut cependant se réjouir de la diminution très significative de la consommation d'antibiotiques en agriculture, favorisée par la législation européenne



La France consomme

30 %

d'antibiotiques de plus que
la moyenne européenne.

interdisant les antibiotiques comme facteurs de croissance chez les animaux d'élevage et par les deux plans successifs « Écoantibio » français. Du fait des mécanismes de transferts horizontaux qui permettent aux bactéries, même d'espèces différentes, de transmettre entre elles des gènes de résistance, le « résistome » (l'ensemble des

¹¹ https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_antibiotiques.pdf

gènes de résistance à un ou plusieurs antibiotiques) concerne aussi bien les bactéries pathogènes et non pathogènes que celles de la flore digestive et de l'environnement. Par conséquent, il existe un intérêt considérable pour la caractérisation du « résistome », tant pour les bactéries responsables des infections communautaires et associées aux soins que pour celles des microbiotes (et en particulier du microbiote intestinal) humain, animal et environnemental. Le traitement des infections dues aux bactéries multirésistantes représente un défi majeur, car l'augmentation de la résistance aux antibiotiques entraîne un risque accru d'échecs thérapeutiques, de rechutes, d'hospitalisations plus longues et d'aggravation des résultats cliniques. Le monde médical en milieu hospitalier est toujours en quête d'une identification rapide des infections et la caractérisation de la résistance aux antibiotiques demeure une urgente nécessité. Cependant, il est de plus en plus clair que cette crise ne peut pas être surmontée qu'en développant de nouveaux antibiotiques selon des schémas qui ont prévalu depuis soixante ans, ou en poursuivant des stratégies qui ont, du moins en partie, abouti à la situation actuelle.

Depuis 2011, année de lancement d'un premier plan gouvernemental Écoantibio, l'exposition globale des animaux aux antibiotiques a reculé de 45,4 %. La diminution est très importante chez les volailles (-64,4 %) et les porcs (-55,5 %), mais plus modeste chez les bovins (-22,5 %), les chats et les chiens (-11,8 %)12. Cette réduction de l'exposition des animaux d'élevage et de compagnie aux antibiotiques est exemplaire. Par contre, on continue d'observer en médecine humaine un usage important d'antibiotiques, en particulier en ville. En comparaison, leur usage en milieu hospitalier demeure modeste avec 1,73 million de patients admis pour une infection bactérienne et 44 115 patients admis en soins intensifs pour un sepsis13. En France, 43 % des médecins généralistes admettent prescrire un antibiotique à des patients qui n'en n'ont peut-être pas besoin et 53 % indiquent avoir été confrontés à des problèmes de résistance aux antibiotiques ayant compliqué la prise en charge thérapeutique dans leur patientèle au cours des trois derniers mois14.

Figure 1: Affichette proposée par l'OMS listant les causes de la résistance aux antibiotiques



12 <https://www.anses.fr/fr/system/files/Press2021DPA01.pdf>

13 Singer M. et al., (2019) Sepsis hysteria : excess hype and unrealistic expectations, *The Lancet*. 394, 1513-14.

14 DREES (2022) *Études et Résultats*. Un médecin généraliste sur deux est confronté à des problèmes d'antibiorésistance, N° 1217.

En quête de nouveaux antibiotiques

Dans son rapport de 2022¹⁵, l'OMS recense dans le pipeline clinique 45 antibiotiques et combinaisons avec un nouvelle entité thérapeutique et 32 agents antibactériens non traditionnels. Sur les 45 antibiotiques, 27 sont actifs contre les pathogènes prioritaires de l'OMS, 13 contre *Mycobacterium tuberculosis* et 5 contre *Clostridium difficile*. Parmi les 27 antibiotiques actifs contre les pathogènes prioritaires de l'OMS : 6 remplissent au moins un des critères d'innovation ; seuls 2 d'entre eux sont actifs contre les bactéries à Gram négatif multirésistantes et 13 sont des combinaisons de β -lactamines et d'inhibiteurs de β -lactamases. Sur les 32 antibactériens non traditionnels, 5 sont des anticorps, 9 des bactériophages et des enzymes dérivées de phages, 10 des agents modulateurs du microbiome, un agent immunomodulateur et 6 des agents divers. 12 nouveaux antibiotiques ont été approuvés soit par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis, soit par l'Agence européenne des médicaments (EMA) ou les deux, depuis le 1^{er} juillet 2017. À quelques exceptions près, les nouveaux agents ont un bénéfice clinique limité par rapport au traitement existant, car plus de 80 % appartiennent à des classes existantes pour lesquelles les mécanismes de résistance sont bien établis et une émergence rapide de la résistance est anticipée. Il existe 121 entités commerciales et non commerciales qui développent 217 agents antibactériens divers. Les développeurs sont largement répartis géographiquement, avec la majorité en Europe (50,4 %) et dans la région des Amériques (37,2 %), 9,3 % dans la région du Pacifique occidental et 4,1 % dans la région Asie de l'Est. Le pipeline préclinique comporte 90 petites molécules à action directe, 92 produits non

traditionnels dont les bactériophages, des inhibiteurs de virulence, des composés immunomodulateurs, des agents potentialisateurs, et 33 peptides antimicrobiens. Sur les 217 agents antibactériens, 152 (43,8 %) ciblent un seul agent pathogène. Parmi les agents en cours de développement, 37 ciblent la synthèse de la paroi cellulaire, 56 agissent directement sur la membrane cellulaire, 10 agissent par immunomodulation, 18 agissent sur la synthèse de protéines cibles et 24 ciblent des facteurs de virulence. Le pipeline préclinique continue d'être dominé par les petites et moyennes entreprises (n=140, soit 86,4 % des développeurs qui ont soumis des données), 74 micro-entreprises (< 10 employés), 40 petites entreprises (11 à 50 employés) et 26 structures de taille moyenne (51 à 500 employés). L'OMS conclut que, dans l'ensemble, le pipeline clinique et les antibiotiques récemment approuvés sont insuffisants pour relever le défi de l'augmentation de l'émergence et de la propagation de la résistance aux antimicrobiens.



15 <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1425317/retrieve>

Les politiques de lutte contre la résistance aux antibiotiques

Tout le monde se souvient du slogan « Les antibiotiques, c'est pas automatique » de la campagne de sensibilisation initiée en 2002 et menée jusqu'en 2007. Cet effort s'est avéré efficace. Une réduction de 26,5 % a été observée tous âges confondus et pour toutes les régions de France. Il a même été atteint 30,1 % de réduction d'usage des antibiotiques pour les enfants de moins de 6 ans et 35,8 % pour les enfants de 6 à 15 ans¹⁶.

En 2015, l'OMS a adopté un plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens, et en particulier aux antibiotiques. Si le problème varie selon les pays, il demeure planétaire : la circulation des êtres humains, la dissémination environnementale et le commerce international des animaux et des produits alimentaires, contribuent à cette globalisation. À la suite de cette recommandation de l'OMS et du rapport du Dr Carlet, le gouvernement français a mis en place un Plan de recherche prioritaire financé à hauteur de 40 millions d'euros sur dix ans, sous l'égide de l'Inserm en partenariat avec l'ANR.

La vaccination est au cœur de la lutte contre l'antibiorésistance. Plusieurs vaccins homologués, ciblant à la fois les bactéries (*Haemophilus influenzae* type b, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella enterica* serovar Typhi) et virus (virus de la grippe, rotavirus) pathogènes humains, ont déjà prouvé leurs bienfaits en réduisant la consommation injustifiée d'antibiotiques et les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, et en favorisant l'immunité collective¹⁷. Un certain nombre de nouveaux vaccins expérimentaux, visant à réduire la propagation des agents pathogènes bactériens multirésistants, sont également à divers stades de développement clinique. Cependant, les vaccins en tant qu'outil de lutte contre la résistance aux antimicrobiens restent sous-estimés et malheureusement sous-utilisés. La mobilisation mondiale des ressources de santé publique et de l'industrie est essentielle pour maximiser l'utilisation des vaccins homologués, et le développement de nouveaux vaccins prophylactiques pourrait avoir un impact profond sur la réduction de la résistance aux antimicrobiens.



Les vaccins en tant qu'outil de lutte contre la résistance aux antimicrobiens restent sous-estimés et sous-utilisés.

¹⁶ Sabuncu E. et al., (2009) Significant reduction of antibiotic use in the community after a nationwide campaign in France, 2002–2007, *PLOS Med.* 6: e1000084.
¹⁷ Jansen KU. et al., (2021) The impact of human vaccines on bacterial antimicrobial resistance. A review, *Environmental Chemistry Letters.* 19:4031–4062.

La pandémie de Covid-19 et l'usage des antibiotiques

On a observé, pendant la pandémie de Covid-19, une augmentation significative des prescriptions d'antibiotiques chez les patients touchés par la maladie, en particulier chez les adultes présentant des comorbidités sous-jacentes, malgré la rareté des preuves d'infections bactériennes associées.

Une méta-analyse réalisée sur des données issues du monde entier a révélé que 74,6 % des patients hospitalisés pour Covid-19 avaient reçu des antibiotiques, tandis que seulement 6,9 % des patients Covid-19 présentaient une infection bactérienne¹⁸. Au Pérou, il a été rapporté que 68,9 % des patients Covid-19 avaient utilisé des antibiotiques avant l'hospitalisation, avec un taux d'automédication de 33 %¹⁹. Il n'est donc pas surprenant que des co-infections mortelles par des micro-organismes pan-résistants aient été signalés chez des patients Covid-19²⁰. Notons qu'à l'inverse, durant la pandémie de la grippe espagnole en 1918-1919, faute d'antibiotiques disponibles, la majorité des décès furent consécutifs à des pneumonies bactériennes²¹.

Selon une étude publiée en juillet 2022 par les Centers for Disease Control²², la pandémie de coronavirus a provoqué une augmentation des infections et des décès dus à des germes résistants aux antibiotiques ou aux antifongiques, dans les hôpitaux américains, annulant des années de progrès dans la lutte contre l'un des plus graves défis de santé publique de la médecine moderne. Il faut néanmoins noter que pendant la pandémie de Covid-19, de nombreuses infections bactériennes et fongiques sont restées potentiellement non diagnostiquées et non traitées. De mars 2020 à octobre 2020, près de 80 % des patients hospitalisés avec le Covid-19 ont reçu un antibiotique. Le rapport a analysé la résistance aux antimicrobiens aux États-Unis, en se concentrant spécifiquement sur les infections à des germes résistants aux antimicrobiens en milieu hospitalier. Selon le rapport, en 2020, plus de 29 400 personnes sont décédées d'infections résistantes aux antimicrobiens couramment associées aux soins de santé. Parmi ceux-ci, près de 40 % ont contracté l'infection pendant leur hospitalisation. Les données dis-

ponibles montrent un accroissement alarmant des infections résistantes commençant pendant l'hospitalisation, augmentant d'au moins 15 % de 2019 à 2020. En 2020, les infections hospitalières à *Acinetobacter* résistant aux carbapénèmes ont bondi de 78 %, avec 7 500 cas et 700 décès. La situation pour les autres germes est présentée ci-dessous :

- *Acinetobacter* résistant aux carbapénèmes (+78 %)
- *Candida auris* résistant aux antifongiques (+60 %)
- Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (+35 %)
- *Candida* résistant aux antifongiques (+26 %)
- Entérobactéries productrices de bêta-lactamase (+32 %)
- Entérocoque résistant à la vancomycine (+14 %)
- *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant (+32 %)
- *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (+13 %)

Notons que toutes les données ne sont pas encore disponibles, comme par exemple pour le *Streptococcus pneumoniae*, l'une des principales causes de pneumonie bactérienne et de méningite.



74,6 %

des patients hospitalisés pour Covid-19 ont reçu des antibiotiques.

18 Langford BJ. et al., (2021) Antibiotic prescribing in patients with COVID-19: rapid review and meta-analysis, *Clin. Microbiol. Infect.* 27: 520-531.

19 Zavala-Flores E. et al., (2020) Medicación prehospitalaria en pacientes hospitalizados por COVID-19 en un hospital público de Lima-Peru, *Acta Med. Peru.* 37: 393e5.

20 Sharifipour E. et al., (2020) Evaluation of bacterial co-infections of the respiratory tract in COVID-19 patients admitted to ICU, *BMC. Infect. Dis.* 20: 646.

21 Morens DM. et al., (2008) Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness, *J. Infect. Dis.* 198(7):962-70.

22 Special Report. COVID-19 US Impact on antimicrobial resistance - July 2022.



LE POINT DE VUE DU DR JEAN CARLET

Jean Carlet est l'ancien président de la World Alliance Against Antibiotic Resistance (WAAAR) qu'il a fondée, et auteur du rapport pour le gouvernement de la situation sur l'antibiorésistance (2015).

En 2014, le Dr Keiji Fukuda, sous-directeur général de l'OMS déclarait : « Sauf si les nombreux acteurs concernés agissent de manière urgente et coordonnée, le monde se dirige vers une ère postantibiotique dans laquelle des infections courantes et des blessures mineures, traitées pendant des décennies, pourraient tuer à nouveau ».

Partagez-vous cette vision pessimiste ?

Je serais plus nuancé en parlant plutôt d'un retour à l'ère pré-antibiotique. Je suis bien entendu inquiet, mais dire que « des infections courantes et des blessures mineures, traitées pendant des décennies, pourraient tuer à nouveau » est une exagération. Une blessure mineure, sauf peut-être en temps de guerre, ne nécessite pas d'antibiotiques dans 95 % des cas. Exagérer n'a jamais été une bonne façon de convaincre !

Vous vous êtes vu confier par le gouvernement français la rédaction d'un rapport²³ sur la situation de l'antibiorésistance dans notre pays. Dans quelles circonstances ce rapport a-t-il été sollicité ?

Après un long silence, le problème de l'antibiorésistance a pris de l'ampleur en devenant une priorité de santé publique mondiale. La ministre de la Santé de l'époque, Marisol Touraine, en avait été alertée par de nombreuses personnes et structures, dont la WAAAR (l'Alliance mondiale contre la résistance aux antibiotiques), et avait pris des mesures immédiates, comme mettre en place cette task-force de 40 personnes pour proposer des recommandations afin de réduire la consommation d'antibiotiques.

Quels sont vos attentes essentielles dans ce domaine ?

Il faut absolument mobiliser les généralistes. 90 % des antibiotiques sont prescrits en ville. Être capable de différencier virus et bactérie, par des tests rapides, pas trop coûteux et faisables en consultation serait capital. C'est une pratique systématique dans certains pays (dosage de la Protéine C réactive et dosage de la procalcitonine). Les médecins généralistes français n'y sont pas favorables (dosage trop long, 10 à 15 min). De nouveaux tests sont quasiment prêts.

Booster la recherche clinique et fondamentale sur

l'antibiorésistance constitue également un levier important. Marisol Touraine, en particulier grâce aux recommandations de la task-force, avait alors décidé de sanctuariser 20 millions d'euros pour la recherche, sur cette thématique, d'où le programme récent de l'ANR. Il faut impérativement poursuivre ces efforts financiers.

Il faut également aider l'industrie, notamment les start-up, à développer des antibiotiques innovants, tout en trouvant un équilibre entre préserver la protection des nouveaux antibiotiques en limitant les prescriptions et assurer la viabilité financière des entreprises. La recherche et le développement d'alternatives et de compléments aux antibiotiques (anticorps monoclonaux, boosters de l'immunité, phages...) doivent aussi être renforcés, tout comme la prévention de la transmission croisée des bactéries entre les personnes, en particulier à l'hôpital, mais aussi en ville (familles, lieux publics, comme toilettes, écoles, etc.). On peut espérer que la pandémie de Covid-19 et l'éducation sur les mesures barrières y ont aidé.



Booster la recherche clinique et fondamentale sur l'antibiorésistance constitue également un levier important.

Vous avez présidé jusqu'à 2019 la WAAAR²⁴, une ONG engagée dans la lutte contre l'antibiorésistance. Quelles sont les missions de cet organisme ?

La WAAAR a vocation à :

- inciter à une utilisation contrôlée des antibiotiques (approches prudentes, contrôlées et étudiées de l'utilisation des antibiotiques dans les hôpitaux, l'élevage, l'agriculture et les milieux vétérinaires) ;
- informer et sensibiliser le public et les professionnels de la santé sur le bon usage des antibiotiques ;

²³ <https://www.vie-publique.fr/sites/default/files/rapport/pdf/154000669.pdf>

²⁴ <https://waaar.org/>

- prévenir la transmission croisée de MDRO (Multi-Drug Resistant Organisms/organismes résistants à plusieurs antibiotiques), en particulier par l'hygiène des mains, les standards de précaution et les procédures d'isolement, ainsi que par l'élimination progressive des ventes d'antibiotiques sans ordonnance, dans bien des pays ;
- accroître et soutenir les efforts de recherche fondamentale et appliquée en médecine humaine et vétérinaire, ainsi qu'encourager la recherche de médicaments par le développement rapide de nouveaux antibiotiques.

Vous avez longtemps dirigé un service de soins intensifs. Avez-vous vous-même été confronté à l'émergence de l'antibiorésistance ?

Bien sûr ! J'ai connu il y a trente ans la période des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline, avec progressivement une très importante décline, grâce en particulier aux solutés hydroalcooliques. Ensuite est arrivée la période des bactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (BSLE), avec résistance croissante des entérobactéries, tel *E. coli*, aux céphalosporines, et enfin l'installation des carbapénèmes, avec de plus en plus de bactéries multirésistantes, comme les *Pseudomonas* et les *Acinetobacter*, fréquentes en service de soins intensifs.

D'après vous, quelles sont les causes principales de l'antibiorésistance ?

L'agriculture ou l'élevage ne semblent pas être une cause majeure. L'hôpital, bien sûr, pour plein de raisons évidentes, mais aussi la médecine de ville. Il existe des différences considérables entre continents et pays concernant le niveau de résistance aux antibiotiques. Il est très élevé en Asie (en Inde et au Moyen-Orient notamment), en Afrique du Nord ou encore en Grèce. Les causes sont la surconsommation des antibiotiques, leur présence dans les effluents et les rivières (contamination par les usines de fabrication...), et la pauvreté des règles d'hygiène. Les infections graves en réanimation, liées à des bactéries résistantes à tous les antibiotiques « toto-résistantes », très fréquentes dans certains pays, sont encore assez rares en France.

La pandémie de Covid-19 et les mesures barrières associées peuvent-elles avoir un impact sur l'antibiorésistance ?

On peut espérer que la connaissance des gestes barrières va aider à la compréhension des mesures de prévention de la transmission des bactéries et des virus. On peut aussi craindre un effet négatif et paradoxal, les citoyens étant fatigués de toutes ces mesures et les ayant prises en « grippe ».

La santé animale, la santé humaine et l'environnement sont étroitement liés. Comment voyez-vous l'antibiorésistance dans le contexte « One Health » ?

Le concept « One health, une seule santé » est devenu très à la mode, mais reste parfois un peu flou. Il faudrait pouvoir rapidement l'étayer par des programmes et des données précises. Il y a une assez bonne coopération avec les vétérinaires, qui ont été très actifs, et le concept « une seule santé » se conçoit parfaitement sur le sujet de l'antibiorésistance. Il faut certainement l'étendre à l'environnement, ce qui sera plus difficile.

Il est également capital d'inclure la protection des antibiotiques dans le concept très important du « développement durable », très discuté actuellement. C'est une action que la WAAAR va mener de façon très active et prioritaire ces prochaines années.



On peut espérer que la connaissance des gestes barrières va aider à la compréhension des mesures de prévention de la transmission des bactéries et des virus.

De 2002 à 2007, une campagne de sensibilisation a été lancée par le gouvernement de l'époque. Le slogan « Les antibiotiques, c'est pas automatique » est dans la mémoire de chacun. Avez-vous l'impression que depuis nous avons baissé la garde ?

Non, le gouvernement est beaucoup plus motivé qu'à l'époque. Il comprend une équipe dédiée à la résistance aux antimicrobiens.

La Caisse nationale de l'Assurance maladie, qui avait mis en place la campagne « Les antibiotiques, c'est pas automatique » semble, à l'inverse, moins impliquée actuellement.

Qu'attendez-vous des financements de l'ANR sur cette thématique ?

De très beaux projets ont été retenus à l'occasion des appels à projets répétés de l'ANR. Il faudrait aussi développer les projets épidémiologiques et translationnels, qui sont très importants et souvent difficiles à défendre face aux projets de recherche fondamentale. Il faut surtout que le financement soit poursuivi sur la durée.

LES APPELS À PROJETS DE L'ANR

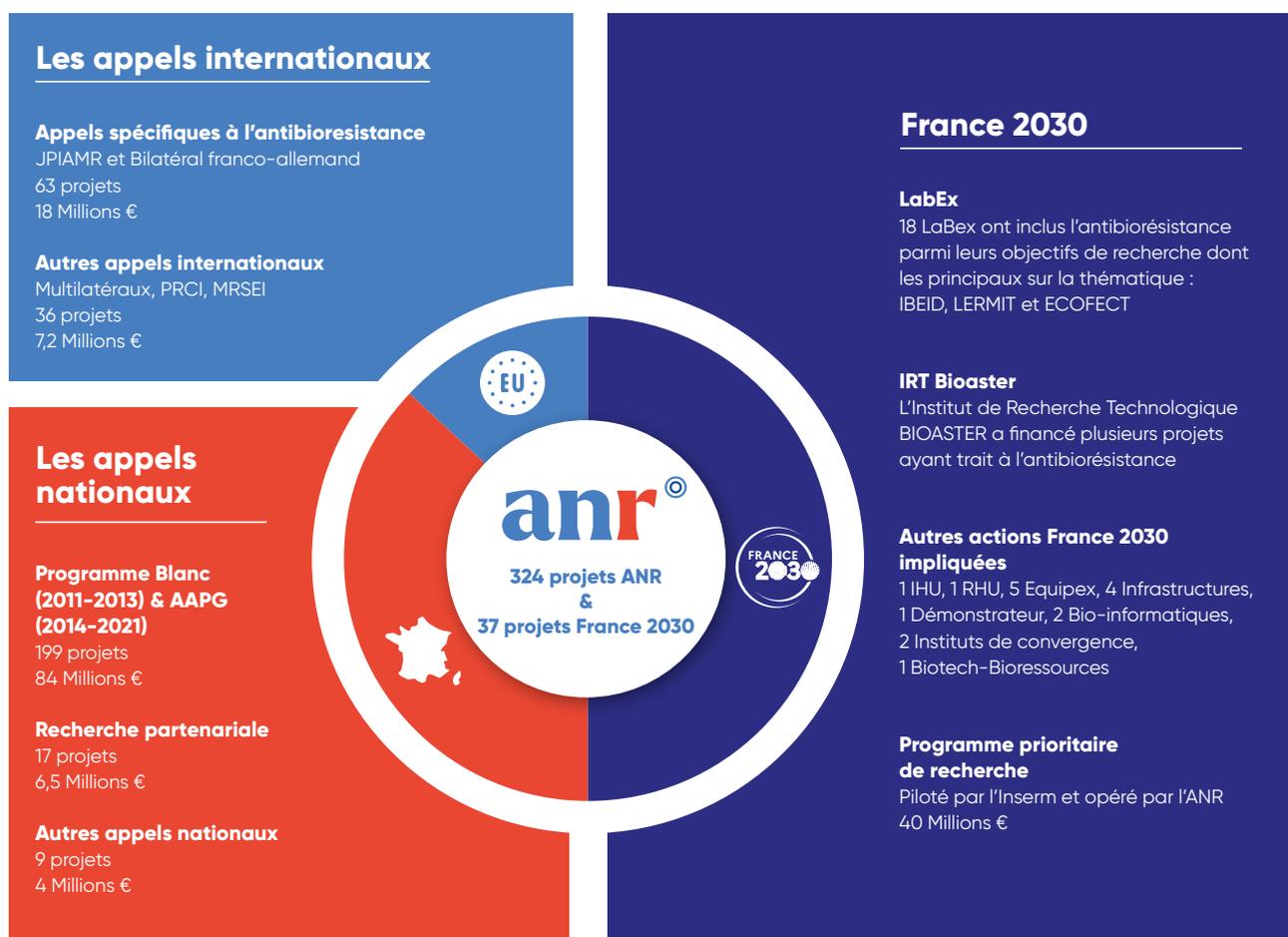
Dans le cadre de son plan d'action et de ses différents appels à projets, l'ANR propose des instruments de financement ayant chacun ses propres objectifs et spécificités en termes de soumission, de sélection et de suivi.

En vue de soutenir la recherche sur la résistance aux antibiotiques, l'Agence a mis en œuvre un dispositif de financement avec l'Appel à projets générique

(AAPG), qui finance le plus grand nombre de projets, les appels à projets internationaux, qu'ils soient ciblés ou non, et les actions France 2030, dédiées en totalité ou en partie à l'antibiorésistance (figure 2).

Tour d'horizon de la participation de l'ANR au financement de la recherche sur la résistance aux antibiotiques entre 2011 et 2021.

Figure 2 : Le financement par l'ANR de la recherche sur l'antibiorésistance entre 2011 et 2021



L'Appel à projets générique (AAPG)

L'Appel à projets générique soutient majoritairement les projets de recherche non ciblés. Il s'agit du principal outil de financement de l'ANR.

Anciennement appelé programme ou appel Blanc, il devient l'AAPG en 2014. Afin de faciliter l'évaluation des projets, l'AAPG a été découpé en 56 axes de recherche, correspondant chacun à un comité d'évaluation scientifique (CES) dédié. Les projets s'intéressant à la résistance aux antibiotiques sont principalement financés dans les comités 18 (Innovation biomédicale), 35 (Santé-Environnement) et 44 (Biochimie du vivant) [figure 3 et tableau 2]. Les projets financés au sein du CE18 ont pour thématique principale la caractérisation de nouveaux composés pour la résistance aux infections, ainsi que l'identification de nouvelles stratégies pour combattre les bactéries résistantes. Les projets issus du CE35 traitent, quant à eux, principalement sur la transmission de la résistance et l'évolution bactérienne. Enfin, les projets du CE44 portent principalement sur des aspects fondamentaux de la mécanistique bactérienne afin de d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Figure 3 : Répartition des projets financés entre les différents comités d'évaluation scientifique dans le domaine de la résistance aux antibiotiques

La période considérée est 2018-2021, intervalle pendant lequel le périmètre des comités est resté stable. Le nombre de projets financés sur cette période est indiqué à côté du nom de chaque comité.

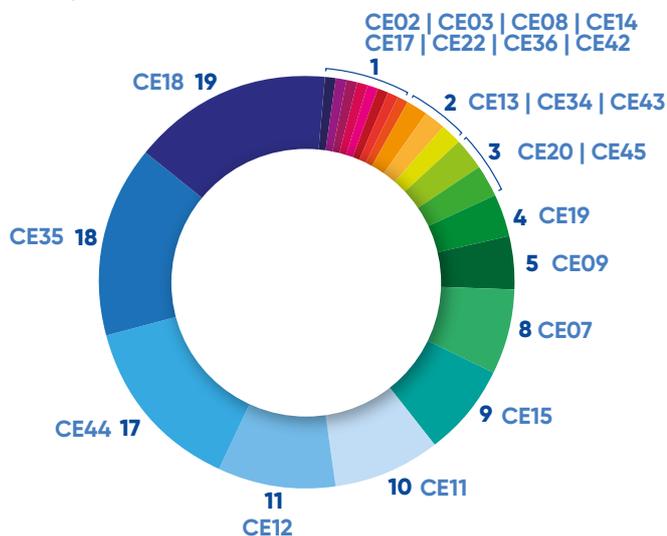


Tableau 2 : Intitulé des différents comités d'évaluation scientifique au sein desquels ont été financés les projets AAPG portant sur l'antibiorésistance entre 2018 et 2021

Comité d'évaluation scientifique	Intitulé des comités
CE02	Terre vivante
CE03	Interactions homme-environnement
CE07	Chimie moléculaire et procédés associés pour une chimie durable
CE08	Matériaux métalliques et inorganiques et procédés associés
CE09	Nanomatériaux et nanotechnologies pour les produits du futur
CE11	Caractérisation des structures et relations structure-fonctions des macromolécules biologiques
CE12	Génétique, génomique et ARN
CE13	Biologie cellulaire, biologie du développement et de l'évolution
CE14	Physiologie et physiopathologie
CE15	Immunologie, Infectiologie et Inflammation
CE17	Recherche translationnelle en santé
CE18	Innovation biomédicale
CE19	Technologies pour la santé
CE20	Biologie des animaux, des organismes photosynthétiques et des micro-organismes
CE22	Sociétés urbaines, territoires, constructions et mobilité
CE34	Contaminants, écosystèmes et santé
CE35	Santé-Environnement : environnement, agents pathogènes et maladies infectieuses émergentes et ré-émergentes, adaptations et résistance aux antimicrobiens.
CE36	Santé publique
CE42	Capteurs, instrumentation
CE43	Bioéconomie : chimie, biotechnologie, procédés et approches système, de la biomasse aux usages
CE44	Biochimie et chimie du vivant
CE45	Mathématique, informatique, automatique, traitement du signal pour répondre aux défis de la biologie et de la santé

De 2014 à 2021, l'AAPG dispose de quatre instruments de financement ayant chacun ses spécificités en termes de modalités de soumission et d'évaluation. Ces différents instruments permettent de financer soit des projets de recherche individuelle portés par des jeunes chercheuses ou des jeunes chercheurs (JCJC), soit des projets de recherche collaboratifs dans un contexte national (PRC) ou international bi-

latéral (PRCI), soit des projets de recherche collaborative entre entités publiques et privées (PRCE). Les PRCI et PRCE font chacun l'objet d'un développement ultérieur. Entre 2011 et 2013 le programme Blanc ne contenait pas ces instruments et le financement des jeunes chercheuses ou des jeunes chercheurs était réalisé via un programme spécifique.

| 10 ans de financement de la recherche sur l'antibiorésistance par l'AAPG

Entre 2011 et 2021, 199 projets (hors PRCI) ont été financés sur le thème de l'antibiorésistance, soit un engagement financier de 85 millions d'euros de la part

de l'ANR sur le programme Blanc (2011- 2013) et l'AAPG (2014-2021).

Figure 4 : Évolution annuelle du nombre de projets financés sur le programme Blanc et l'AAPG entre 2011 et 2021



À partir de 2014, année de création de l'AAPG, une augmentation du nombre de projets consacrés à l'antibiorésistance est observée. Cela peut s'expliquer à la fois par la hausse constante du budget d'intervention de l'ANR, passé de moins de 600 millions d'euros en 2014 à plus de 1,19 milliard d'euros en 2021, mais également par une prise de conscience nationale, européenne et mondiale, de l'urgence de lutter contre l'antibiorésistance.

Comme pour la majorité des thématiques, l'antibiorésistance est principalement financée grâce à l'outil de financement PRC. De 2014 à 2021, 11 projets PRCE ont été financés. À partir de 2018, une nette augmentation du nombre de projets JCJC financés est observée (figure 4). Globalement, la répartition du financement entre les différents instruments de financement est cohérente avec la répartition observée globalement en Biologie-Santé.

| 2019-2020 : l'antibiorésistance, priorité stratégique

La France reconnaît, en 2019, la nécessité de mener à bien une politique de recherche plus ambitieuse dans le domaine de la résistance aux antimicrobiens (AMR). En plus des actions déjà mises en place, comme la JPIAMR, l'ANR lance en 2019-2020 deux appels bilatéraux franco-allemands sur cette thématique²⁵, ainsi qu'un financement dédié supplémentaire au sein de l'AAPG. Le Plan prioritaire de recherche, lancé en janvier 2020, poursuit ces actions spécifiques sur une période de dix ans.

Ainsi, grâce à cette priorité stratégique, une enveloppe dédiée d'environ 3 millions d'euros, venant en supplément de la dotation annuelle de l'ANR, a permis le financement de 14 projets supplémentaires²⁶ relevant de cette thématique dans le cadre de l'AAPG 2019-2020 (annexe 1). Il est important de noter que cette priorité inclut la résistance à d'autres antimicrobiens comme les antiparasitaires et antifongiques (un projet portant sur la résistance aux antifongiques a d'ailleurs été financé sur cette priorité^{27,28}).

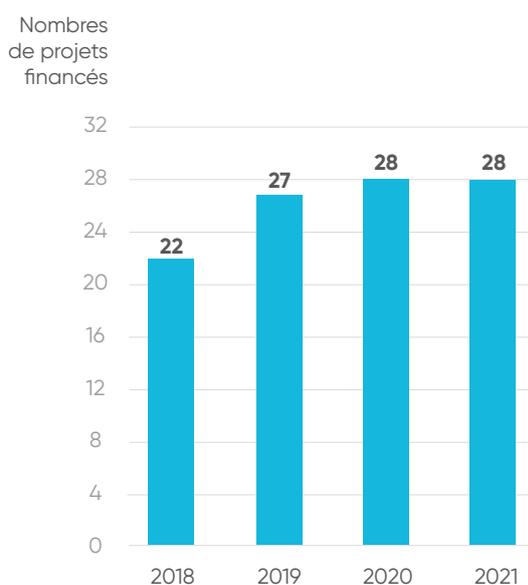
Tableau 3 : Comités d'évaluation de l'AAPG concernés par la priorité stratégique de l'État « résistance aux antimicrobiens » en 2019 et 2020

Comité d'évaluation scientifique	Intitulé des comités
CE07	Chimie moléculaire et procédés associés pour une chimie durable
CE11	Caractérisation des structures et relations structure-fonctions des macromolécules biologiques
CE12	Génétique, génomique et ARN
CE13	Biologie cellulaire, biologie du développement et de l'évolution
CE15	Immunologie, Infectiologie et Inflammation
CE16	Neurosciences moléculaires et cellulaires - Neurobiologie du développement
CE17	Recherche translationnelle en santé
CE18	Innovation biomédicale
CE19	Technologies pour la santé
CE34	Contaminants, écosystèmes et santé
CE35	Santé-environnement : environnement, agents pathogènes et maladies infectieuses émergentes et ré-émergentes, adaptations et résistance aux antimicrobiens
CE36	Santé publique
CE44	Biochimie et chimie du vivant
CE45	Mathématiques et sciences du numérique pour la biologie et la santé

La priorité se décline dans différents comités scientifiques de l'AAPG (tableau 3). Son effet est bien visible, avec la hausse du nombre de projets financés sur les années 2019-2020 (respectivement 27 et 28 projets financés) par rapport à 2018 (22 projets) dans les comités concernés (figure 5).

En 2021, un programme prioritaire de recherche (PPR) sur la résistance aux antibiotiques est lancé dans le cadre de France 2030²⁹. La thématique relevant désormais d'un appel à projets spécifique, la priorité n'est plus intégrée à l'AAPG. L'augmentation du budget de l'AAPG en 2021 (+53,2 %) permet de compenser l'arrêt de l'enveloppe budgétaire dédiée à la priorité. Ainsi, le nombre de projets financés dans cette thématique reste stable entre les années 2019-2020 et l'année 2021 même si le nombre de projets déposés diminue. Cela peut être la conséquence de la pandémie de Covid-19 apparue en 2020 et qui a mobilisé de nombreuses équipes de recherche dans le domaine des maladies infectieuses.

Figure 5 : Nombre de projets financés dans la thématique « résistance aux antibiotiques » au sein des CES concernés par la priorité stratégique



25 Voir page 26.

26 Projets classés A/A+ présents sur listes complémentaires.

27 Projet CRYPERS financé en 2020 dans le CE37.

28 Les analyses menées dans le reste de ce cahier portent exclusivement sur les projets liés à la résistance aux antibiotiques.

29 Voir page 34.

L'initiative de programmation conjointe sur la résistance aux antimicrobiens (JPIAMR)



Un alignement européen des politiques de recherche

En 2008, la Commission européenne propose la création d'initiatives de programmation conjointe (Joint Programming Initiative - JPI) pour coordonner, à l'échelle européenne, la réponse des chercheurs face aux grands défis sociétaux. La résistance aux antimicrobiens (AMR) et le spectre d'une impasse thérapeutique pour soigner les maladies infectieuses à l'orée de 2050 font partie des dix grands défis sociétaux retenus. De 2011 à 2021, la JPIAMR³⁰ se focalise uniquement sur la résistance aux antibiotiques en raison de l'urgence de la situation.

En 2014, un premier agenda stratégique de recherche³¹ définit les besoins de recherche dans six grands domaines : la thérapeutique, le diagnostic, la surveillance, la transmission, les interventions et l'environnement. Cet agenda développe une vision « One Health » de la recherche dans le domaine de la résistance aux antibiotiques. Cette approche intégrée de la recherche vise à mieux prendre en compte l'interdépendance entre l'utilisation des antimicrobiens en santé humaine, en santé animale (animaux de compagnie, d'élevage et sauvages), en agriculture, et leur accumulation dans l'environnement. En 2019, afin de mieux prendre en compte les défis de l'innovation dans la lutte contre la résistance aux antimicrobiens, l'agenda stratégique est révisé³². En dix ans, au gré des feuilles de route et des plans d'actions successifs, la JPIAMR a ainsi financé plus de 137 projets de recherche et réseaux trans-

nationaux à hauteur de plus de 125 millions d'euros. L'approche « One Health » a notamment été formalisée par la création d'un appel à projets commun avec les JPI Water et Ocean, et des réunions d'alignement communes avec d'autres programmes actifs dans le domaine, comme l'European Joint Programme (EJP) One Health.

Au 1^{er} janvier 2022, la JPIAMR, coordonnée par la Suède, compte 29 pays membres³³ dont la majorité des pays européens, et également d'autres pays, comme l'Afrique du Sud, l'Argentine, le Canada, le Chili, la Corée du Sud, l'Inde et le Japon. Des appels conjoints ont également été lancés avec l'International Center for Antimicrobial Resistance Solution (ICARS), la Swedish International Development Agency (SIDA) et l'International Development Research Center (IDRC) pour encourager la recherche dans les pays à revenus faibles et intermédiaires. Le travail accompli dans l'alignement des politiques de recherche entrepris par la JPIAMR a été salué et repris par de nombreuses institutions³⁴, dont l'OMS dans son plan d'action global sur le thème de la résistance aux antimicrobiens³⁵ et le Conseil européen. De la même manière, la JPIAMR a été incluse, en 2017, dans le Plan d'action européen contre la résistance aux antimicrobiens³⁶ comme un instrument permettant de stimuler la recherche et l'innovation dans le domaine AMR.

30 Joint Programming Initiative on AntiMicrobial Resistance <https://www.jpiamr.eu/>

31 SRA : Strategic Research Agenda.

32 SRIA : Strategic Research and Innovation Agenda.

33 Afrique du Sud, Allemagne, Argentine, Belgique, Canada, Chili, Corée du Sud, Danemark, Egypte, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Inde, Irlande, Israël, Italie, Japon, Moldavie, Norvège, Pays-Bas, Pologne, République tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Suède, Suisse, Turquie.

34 <https://www.consilium.europa.eu/en/press/press-releases/2016/06/17/epsco-conclusions-antimicrobial-resistance/>

35 <https://www.who.int/fr/publications-detail/9789241509763>

36 https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/antimicrobial_resistance/docs/amr_2017_action-plan.pdf

Un engagement important de la communauté scientifique française

La France, via l'engagement financier de l'ANR, a participé à 12 des 13 appels lancés par la JPIAMR de 2014 à 2021, permettant ainsi aux chercheurs et chercheuses français de mener des projets de recherche transnationaux ou de coordonner des réseaux de recherche au niveau mondial (figure 6). Ainsi, la France est présente dans 40 projets de recherche collaboratifs sur les 99 financés (annexe 5). De plus 6 réseaux de recherche, sur les 38 financés par la JPIAMR, sont coordonnés par des scientifiques français. Le budget total de la France au cours des huit dernières années s'élève à plus de 11 millions d'euros. 54 équipes françaises ont ainsi été financées avec un budget moyen par équipe de 200 000 euros (figure 7). Ces projets de recherche ont permis aux équipes françaises de collaborer

avec 156 équipes de recherche étrangères réparties dans 36 pays localisés en Afrique, Amérique, Asie et Europe (figure 8). Les projets financés dans le cadre de la JPIAMR sont en général translationnels avec un but clairement établi d'appui aux politiques publiques (peu de projets mécanistiques, figure 9). Les projets et réseaux financés portent un intérêt à la santé humaine dans 80 % des cas, tandis que 43 % s'intéressent au phénomène de l'antibiorésistance dans le règne animal (bétail, vie sauvage, animaux de compagnie) et 43 % considèrent l'accumulation de souches bactériennes porteuses de résistance dans l'environnement. 43% des projets et réseaux financés utilisent une approche « One Health » (minimum deux dimensions « One Health » traitées) [figure 10].

Figure 6 : Frise chronologique des appels lancés par la JPIAMR (2014-2022)

Pour chaque appel, l'axe thématique de recherche est indiqué.

L'ANR finance uniquement les partenaires français des projets sélectionnés. Les partenaires étrangers sont financés par les organismes de financement des pays partenaires. Les deux appels lancés en 2020 sur les polluants aquatiques ont été financés sur le budget 2021.

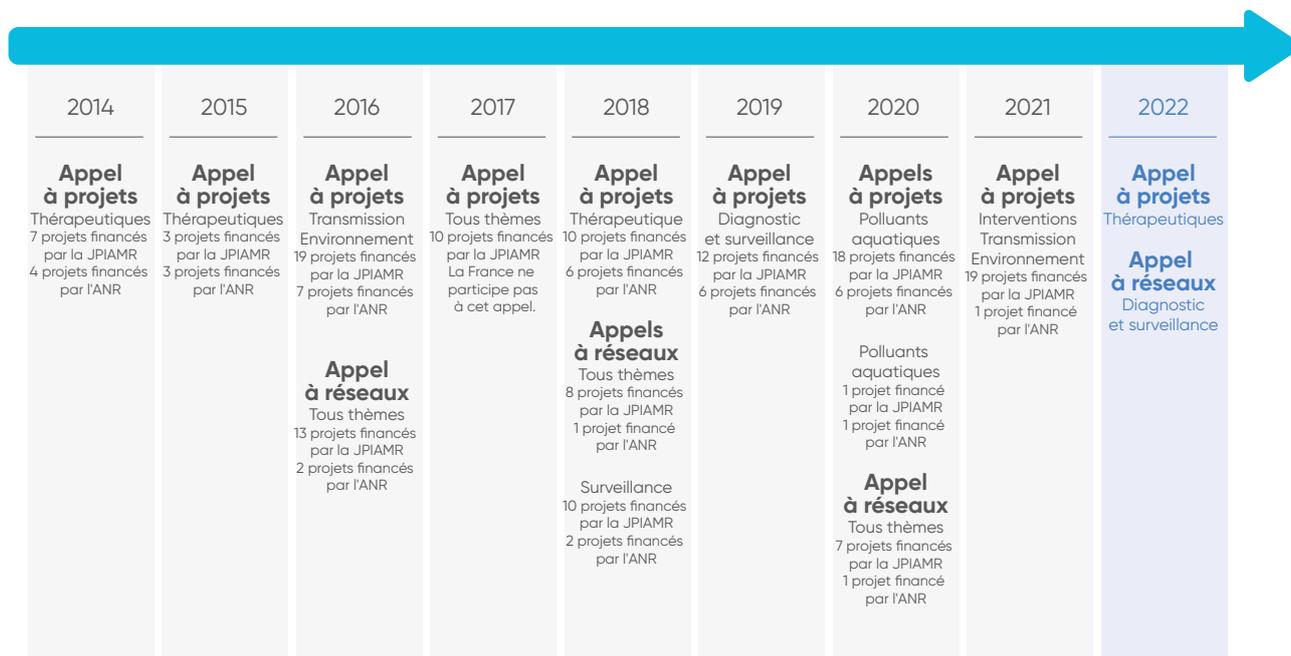


Figure 7 : Partenaires français financés dans le cadre des appels à projets lancés par la JPIAMR

A : localisation géographique des partenaires français : le diamètre du cercle est proportionnel aux nombres de partenaires

B : tutelle gestionnaire des partenaires français

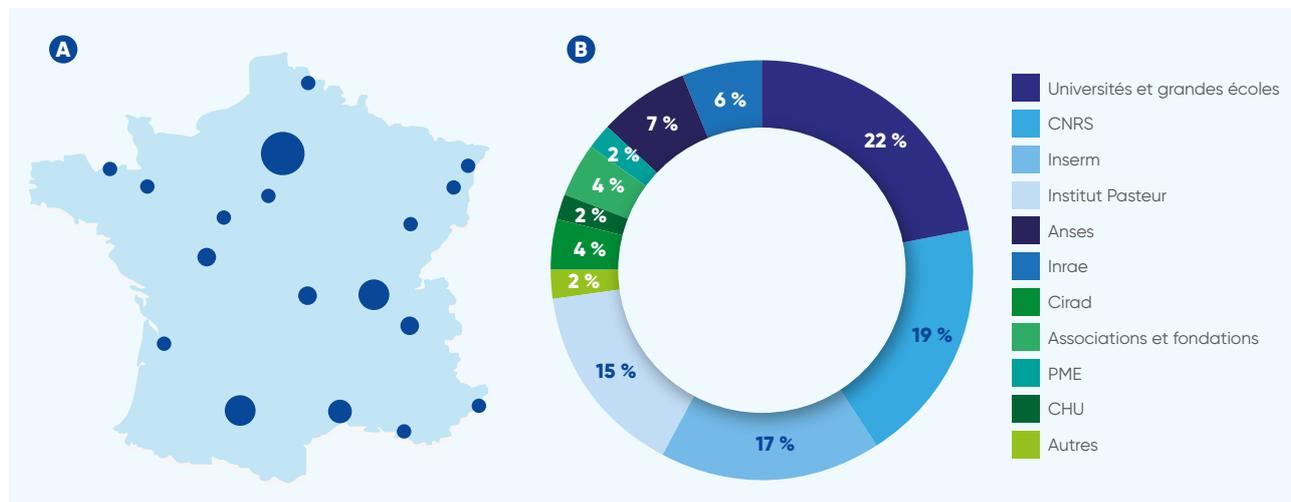


Figure 8 : Localisation géographique des partenaires étrangers ayant collaboré avec une équipe française dans le cadre des appels à projets lancés par la JPIAMR

L'intensité de la coloration reflète le nombre de collaborations (plus la couleur est intense, plus un grand nombre de partenaires sont localisés dans ce pays). Sur les 156 partenaires étrangers, seuls 10 partenaires ont collaboré aux projets financés sur fonds propres (3 équipes au Royaume-Uni, 2 en Suisse, et 1 en Allemagne, Canada, États-Unis, Italie et Suède). L'ensemble des autres partenaires étrangers ont bénéficié d'un financement, soit par l'intermédiaire de leur agence nationale, soit par le biais d'une agence permettant le financement de projets de recherche dans les pays à revenus limités.

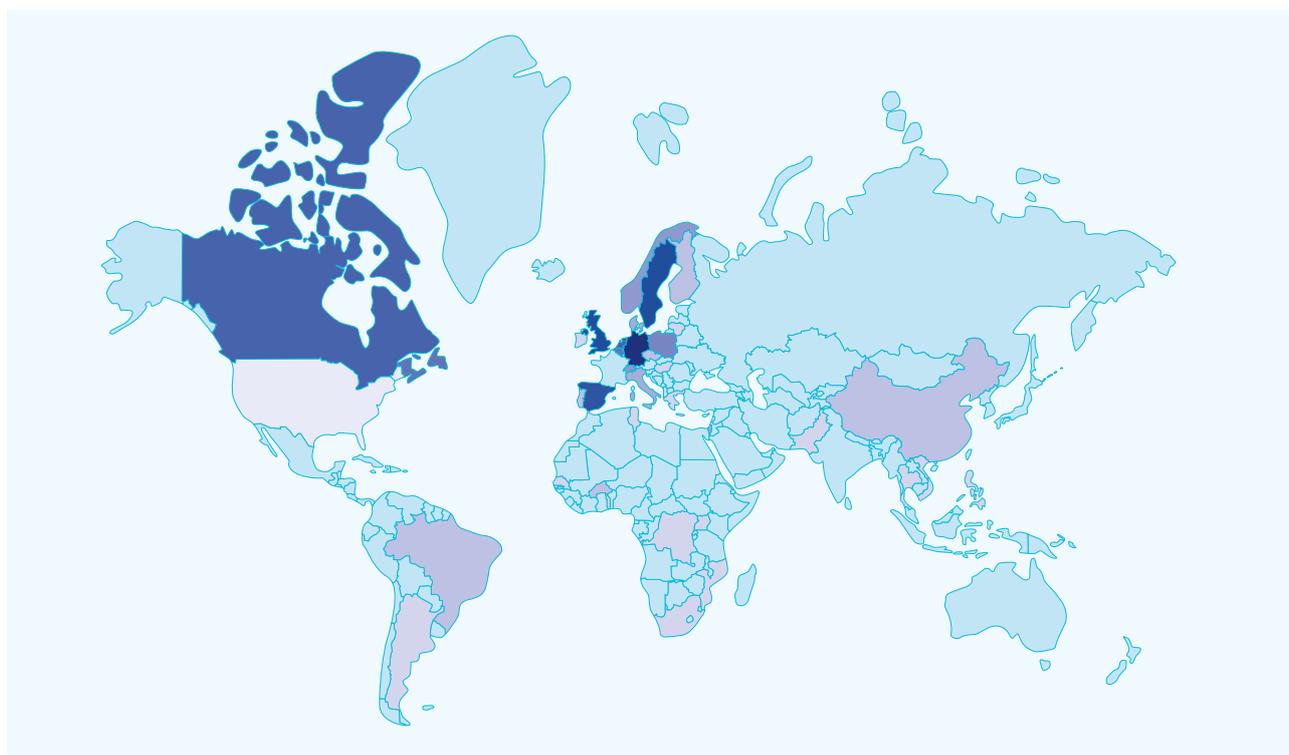


Figure 9 : Thématiques abordées dans les projets de recherche soutenus par l'ANR dans le cadre de la JPIAMR

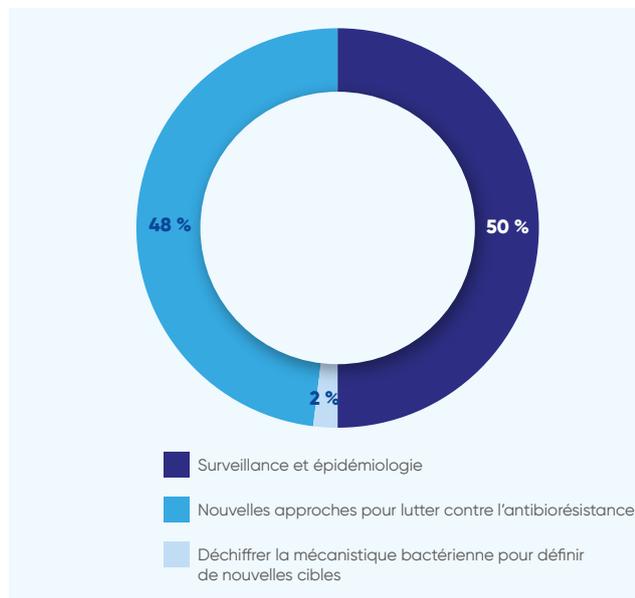
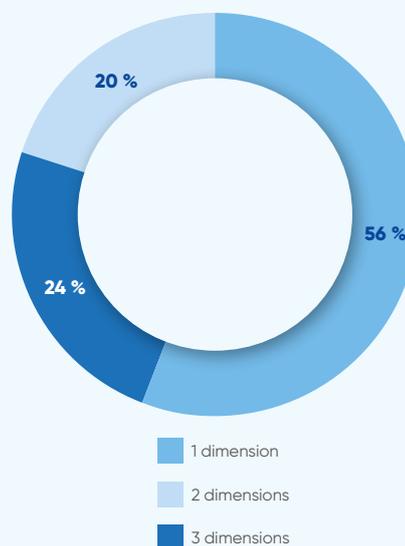


Figure 10 : Nombre de dimensions « One Health » (santé humaine, animale, environnement) abordées dans les projets et réseaux financés par l'ANR dans le cadre de la JPIAMR



Une coordination accrue et un spectre d'actions plus large grâce à la création d'un partenariat européen à l'orée de 2025

Si l'effort de recherche entrepris est conséquent et a mené à de nombreuses publications et brevets au cours des années passées, il doit être poursuivi et amplifié au cours des années futures. Pour cette raison, de nombreux états membres, dont la France, ont soutenu la création en 2025 d'un partenariat européen dans le domaine de la résistance aux antimicrobiens (Partnership One Health AMR) au sein du nouveau programme-cadre Horizon Europe. L'ANR coordonne la rédaction de l'agenda stratégique de recherche et d'innovation du futur partenariat, ainsi que la construction de la feuille de route et du plan d'action. L'actualisation de l'agenda stratégique, coordonnée avec l'OMS, qui révisé également son propre agenda dans le domaine, portera notamment sur :

- le renforcement de l'approche « One Health ». Le pilier « environnement » de l'agenda stratégique de la JPIAMR disparaîtra au profit d'une intégration complète de l'environnement et de la santé animale dans les questions de santé publique. Cette consolidation est également soutenue par la France à l'échelle nationale (feuille de route interministérielle dans la lutte contre la résistance aux antimicrobiens³⁷ en cours d'actualisation) ;
- l'élargissement des antibiotiques aux autres antimicrobiens. Si l'agenda stratégique de 2014 actualisé en 2016 portait majoritairement sur la résistance aux antibiotiques, une révision de l'agenda en 2021 a déjà permis d'intégrer la résistance aux

antifongiques dans le plan d'action de la JPIAMR. Une réflexion est également en cours pour savoir si la résistance aux antiparasitaires et aux antiviraux doit y être intégrée (besoin de financement dans ce domaine ? Préexistence de stratégies transnationales ? Similitude des mécanismes de résistance ? Ou des systèmes de surveillance ?) ;

- une meilleure approche globale de la recherche dans ce domaine en intégrant les problématiques sociétales, sociologiques et économiques dans chacun des piliers de recherche ;
- un renforcement de l'alignement des efforts de recherche avec les actions européennes et mondiales dans ce domaine : Organisation mondiale de la santé (OMS), Organisation mondiale de la santé animale (OIE/WOAH), Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE), l'Action conjointe sur la résistance aux antibiotiques et des infections associées aux soins (l'EU-JAMRAI), le Partenariat Global dans la Recherche et le Développement dans le domaine Antibiotique (GARDP), l'accélérateur biopharmaceutique de lutte contre les bactéries résistantes aux antibiotiques (CARB-X), Welcome Trust, l'association pour le traitement et les soins des enfants atteints du sida ou d'autres maladies infectieuses (PENTA), l'Agence européenne de santé publique (EPHA), et les futurs partenariats sur la santé animale et sur la préparation face aux nouveaux risques épidémiques.

37 https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/feuille_de_route_antibiorésistance_nov_2016.pdf

Le programme franco-allemand sur la résistance aux antimicrobiens



À l'occasion du 6^e Forum de la coopération franco-allemande en recherche, le 19 juin 2018 à Berlin, les représentants des deux pays ont fait une déclaration d'intention commune concernant leur engagement fort dans la lutte contre la résistance aux antimicrobiens :

« La France et l'Allemagne soutiennent conjointement les initiatives internationales, comme celles menées dans le cadre de l'Organisation mondiale de la santé et du G7/G20, pour lutter contre la résistance aux antimicrobiens à l'échelle planétaire dans une approche "One Health". En outre, les deux pays disposent de l'expertise et des ressources nécessaires pour cibler la résistance aux antimicrobiens à travers des collaborations de recherche bilatérales. Les deux parties mettront chacune 7 millions d'euros à disposition pour des projets de recherche bilatéraux sur la base de deux appels à propositions conjoints. »

Sur la base de cette déclaration, deux appels à projets ont été organisés par le ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (MESR) représenté par l'ANR et par son partenaire, le ministère allemand de l'Éducation et de la Recherche (BMBWF). Chaque projet éligible à un financement devait être coordonné de manière binationale et devait démontrer de façon convaincante le bénéfice supplémentaire de cette coopération franco-allemande.

Les thèmes prioritaires pour les deux appels ont été identifiés par des comités d'experts franco-allemands en fonction des atouts respectifs des deux pays dans le domaine de la résistance aux antimicrobiens. Tandis que la première édition, en 2019, portait sur la résistance aux antibiotiques chez les bactéries résistantes de la liste « priorité 1 : critique » des agents pathogènes prioritaires publiée par l'OMS et sur la résistance aux antifongiques, la seconde en 2020 portait sur une approche « One Health ».

En total, 17 projets ont été financés avec un budget ANR total de 6,7 millions d'euros (le budget du BMBWF était de 79 millions d'euros) [annexe 6]. Le taux de sélection de 25,4 % et le taux d'aide allouée par l'ANR était de 27,9 %. Concernant les thèmes de recherche financés en 2019, 4 projets portaient sur les antibactériens avec de nouveaux modes d'action, 1 projet portait sur les stratégies de prévention et de traitement basées sur le microbiote, 2 projets portaient sur l'émergence, la dissémination et le fardeau de la résistance et 1 projet avait pour objet la résistance aux antifongiques. En 2020, 7 projets portaient sur les bactéries résistantes aux antibiotiques colonisant les humains et les animaux de ferme et 2 projets avaient pour objet la résistance antimicrobienne dans les réservoirs environnementaux.

Les autres opportunités de collaboration internationale

Si l'ANR finance uniquement les partenaires français³⁸, elle offre de nombreuses possibilités de financement pour les collaborations internationales s'intéressant à l'antibiorésistance. En dehors de la

JPIAMR et de l'appel bilatéral franco-allemand, l'ANR propose d'autres instruments de financement pour contribuer au financement des collaborations internationales.

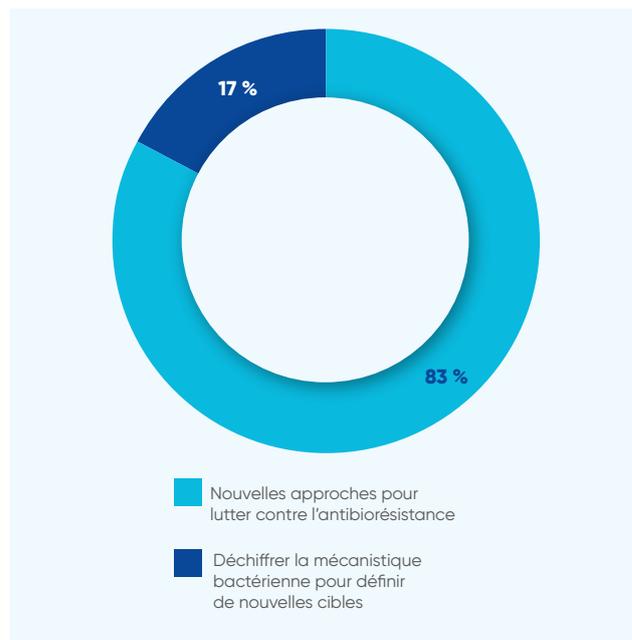
Les projets de recherche collaboratifs internationaux (PRCI) bilatéraux

Dans le cadre de l'AAPG, l'ANR encourage le développement de projets collaboratifs avec un partenaire étranger qui peut être, suivant les accords bilatéraux en cours, sur fonds propres (2011 à 2015), ou financés par une agence de financement étrangère (2014 à 2022). Depuis 2016, la définition des projets de recherche collaborative internationale (PRCI) a été restreinte aux collaborations bilatérales qui sont établies entre au moins un organisme éligible au financement de l'ANR, et au moins un partenaire étranger³⁹. En 2022, les pays concernés par ces accords bilatéraux internationaux sont l'Allemagne, l'Autriche, le Brésil, le Canada-Québec, les États-Unis, Hong Kong, le Luxembourg, la Suisse et Taïwan⁴⁰.

Suivant les termes de l'accord bilatéral en vigueur, les PRCI peuvent être évalués conjointement par les deux agences de financement ou par une seule. Lorsque l'ANR est en charge de l'évaluation, une année sur deux, les PRCI sont évalués conjointement aux autres projets déposés durant la deuxième étape de l'Appel à projets générique.

Depuis 2016, l'instrument de financement PRCI a ainsi permis le financement de 6 projets en lien avec l'antibiorésistance pour un budget total de plus de 1,8 million d'euros (le budget moyen par équipe française s'élève à 263 000 euros) [annexe 4]. Dans la thématique antibiorésistance, ces collaborations ont impliqué l'Allemagne (67 %) et l'Autriche (33 %). Les PRCI financés s'intéressent essentiellement à de nouvelles approches pour lutter contre l'antibiorésistance (figure 11).

Figure 11 : Thématiques abordées dans les PRCI en lien avec l'antibiorésistance depuis 2016



38 Organismes de recherche ayant leur établissement principal en France ou entreprise (au sens européen) ayant leur siège social réel au sein d'un État de l'Union européenne et disposant d'un établissement ou d'une succursale en France.

39 Éligible au financement par une agence étrangère qui a signé un accord bilatéral avec l'ANR.

40 La liste des pays concernés par les accords bilatéraux est révisée chaque année. Certains accords restreignent le champ scientifique des collaborations possibles.

Montage de réseaux scientifiques européens ou internationaux (MRSEI)

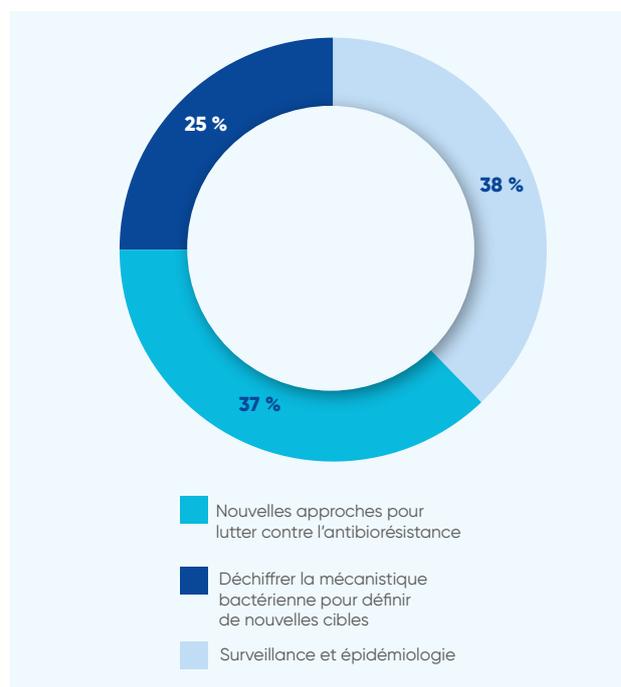
Le programme MRSEI a été créé pour donner les moyens aux scientifiques travaillant dans des laboratoires français de déposer, en tant que coordinateur ou coordinatrice, un projet de recherche lors d'appels collaboratifs européens (Horizon 2020, Horizon Europe) ou internationaux, et de leur donner ainsi la possibilité de développer des projets interdisciplinaires ambitieux et de renforcer leur visibilité au niveau international. L'évaluation des propositions est réalisée au fil de l'eau (plusieurs vagues par an), l'aide reçue (30 000 euros maximum sur deux ans) finance les actions permettant d'élaborer ou de renforcer le réseau scientifique pour aider le coordinateur ou la coordinatrice à monter le projet européen ou international.

Cet instrument de financement a permis de financer 8 réseaux internationaux dans le domaine de l'antibiorésistance, pour un budget total de 235 000 euros (annexe 7). Les projets financés se répartissent de manière homogène dans les trois thématiques de recherche (figure 12).

4 des 8 réseaux financés par l'outil MRSEI ont reçu un financement européen par la suite (taux de succès 50 %). Parmi ceux-ci, 2 projets (FAIR et IL12 for HAP) visent à développer de nouvelles approches thérapeutiques via la stimulation du système immunitaire de l'hôte. Chaque projet a bénéficié d'un financement européen d'environ 10 millions d'euros dont environ 5 millions d'euros à destination des équipes françaises impliquées dans chacun des projets. Le projet MOOD vise à renforcer la surveillance de l'AMR en s'appuyant sur la collecte et l'analyse de données. Le projet a bénéficié d'une enveloppe européenne de presque 14 millions d'euros dont plus de 5 millions d'euros à

destination des équipes françaises impliquées dans le projet. Enfin, le réseau MED.VET.EJP a contribué à préparer le montage du programme conjoint européen (EJP) « One Health », coordonné par l'Anses. L'EJP One Health bénéficie d'un cofinancement de la Commission européenne à hauteur de 44 millions d'euros. Ces « success stories » illustrent parfaitement l'effet levier des appels MRSEI.

Figure 12 : Thématiques abordées dans les réseaux MRSEI en lien avec l'antibiorésistance



Les projets de recherche internationaux multilatéraux

Les European Research Area Nets (ERA-NETs), créés par le programme cadre FP7 de l'Union européenne (2007-2013) et poursuivis dans le programme-cadre suivant Horizon 2020 (2014-2020), ont permis le lancement d'appels à projets internationaux. Pour pouvoir candidater, les chercheurs doivent réunir un consortium comptant au moins trois partenaires travaillant dans trois pays différents, dont au moins deux de l'Union européenne ou associés à l'Union européenne⁴¹. Dans ces appels, les projets soumis sont évalués par un unique comité d'évaluation international. Les recommandations de ce panel d'experts sont reconnues par l'ensemble des organismes de financement participant à l'appel. À l'issue de la sélection, ces derniers financent les par-

tenaires des projets sélectionnés travaillant dans leur pays. Certains appels bénéficient en plus d'un cofinancement de la Commission européenne.

En tout, 18 projets de recherche internationaux multilatéraux sur l'antibiorésistance ont été financés durant la période 2011-2021 (annexe 8). Ces 18 projets s'additionnent aux 46 projets et réseaux internationaux financés par les 3 ERA-NETs « labellisés » JPIAMR (JPI-EC-AMR, JPIAMR-ACTION et AQUATIC POLLUTANTS). Les ERA-NETs (hors JPIAMR) ayant permis le financement de projets internationaux sur l'antibiorésistance sont les suivants :

- Infect-ERA⁴² : lancé en 2013 et dédié aux maladies infectieuses chez l'humain.
- Anihwa⁴³ : lancé en 2012 et dédié à la santé et au

41 https://s3platform.jrc.ec.europa.eu/documents/20125/242632/Ukraine%20H2020-hi-list-ac_en.pdf/9d196d4e-02c8-ad03-6855-49af5a7f14aa?version=1.1&t=1619515706173

42 <http://www.infect-era.eu/>

43 <https://www.anihwa.eu/>

bien-être animal (animaux d'élevage, incluant les poissons et les abeilles).

- ICRAD⁴⁴ : lancé en 2019 et dédié aux maladies infectieuses chez les animaux.
- EuroNanoMed⁴⁵ : trois ERA-NETs consécutifs (2009-2011 ; 2012-2016 ; 2017-2022) dédiés à la nanomédecine.
- IC4WATER et WaterWork : deux ERA-NETs « labellisés » JPIA Water⁴⁶, une initiative de programmation conjointe sur l'eau.

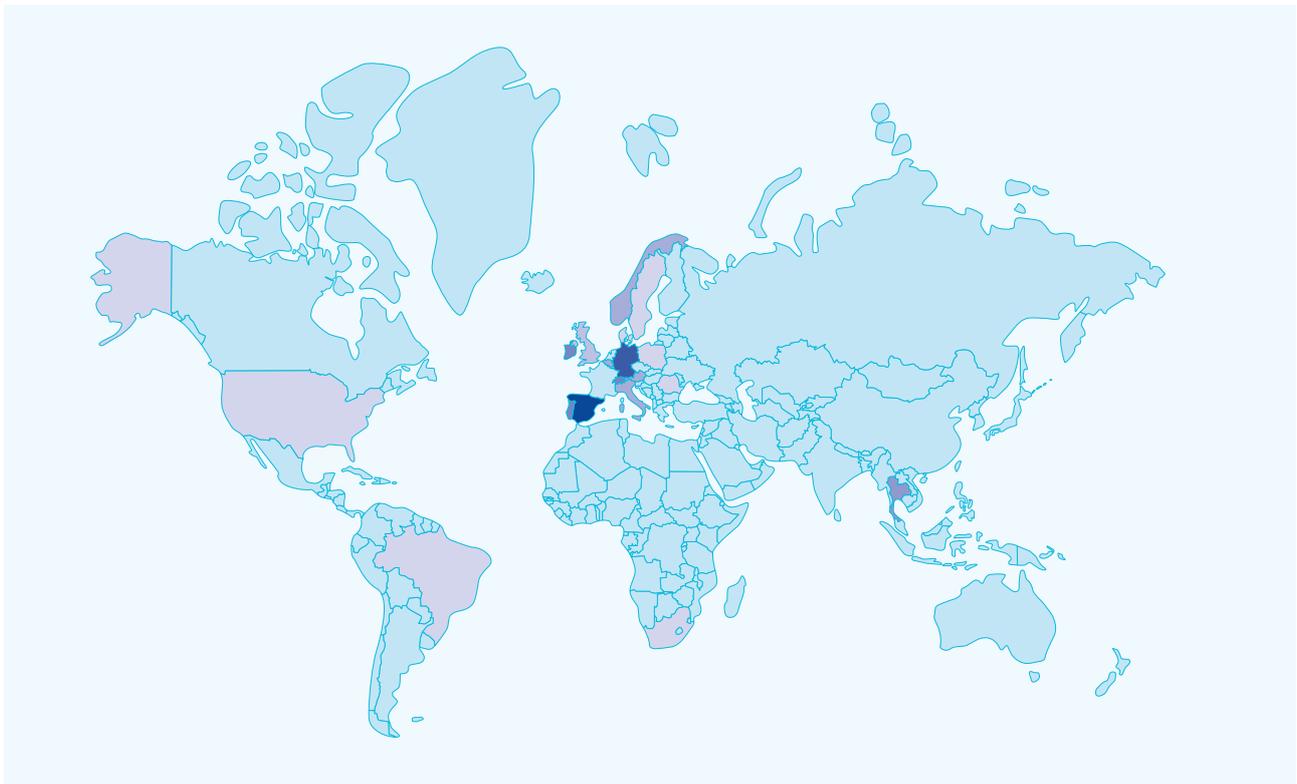
- BiodivERSA⁴⁷ : trois ERA-NETs consécutifs (2005-2010 ; 2010-2014 ; 2015-2022) dédiés à la biodiversité.

Le financement des projets internationaux multilatéraux (hors JPIAMR) s'élève à près de 3,8 millions d'euros sur la période 2011-2021, avec un budget moyen de 130 000 euros alloué par équipe.

Ces projets ont permis aux 29 équipes françaises financées de collaborer avec 68 équipes de recherche réparties sur 4 continents (figure 13).

Figure 13 : Localisation géographique des partenaires étrangers ayant collaboré avec une équipe française dans le cadre des appels à projets multilatéraux (hors JPIAMR)

L'intensité de la coloration reflète le nombre de collaborations (plus la couleur est intense, plus un grand nombre de partenaires sont localisés dans ce pays).



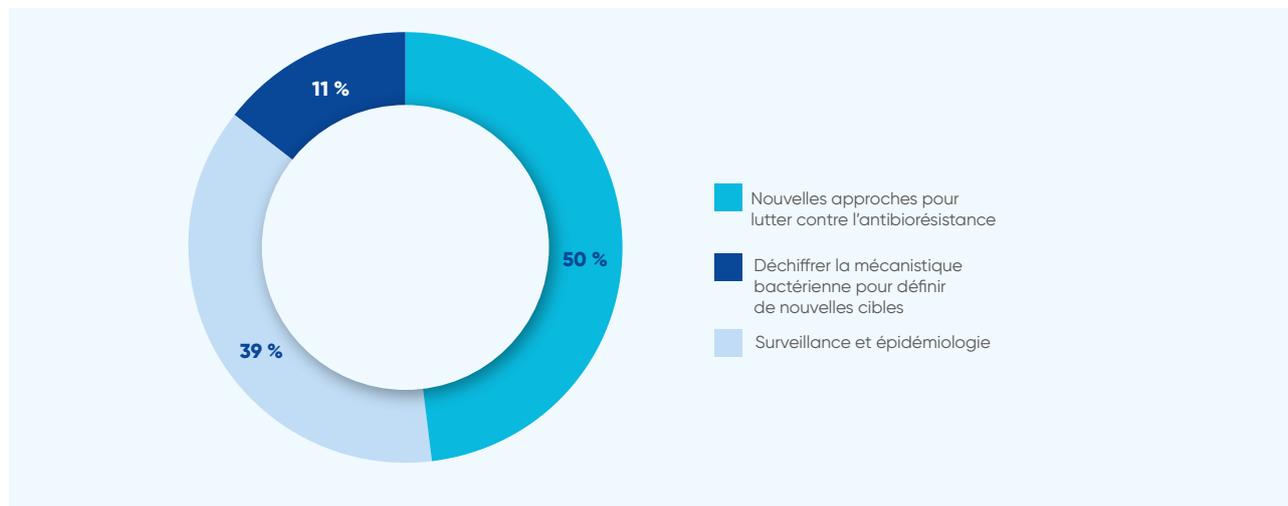
44 <https://www.icrad.eu/>

45 <https://euronanomed.net/>

46 <http://www.waterjpi.eu/>

47 <https://www.biodiversa.org/>

Figure 14 : Thématiques abordées par les projets internationaux multilatéraux en lien avec l'antibiorésistance
Comme pour les projets financés par la JPIAMR, ceux financés par les programmes de financement européens sont en général translationnels avec un objectif d'appui aux politiques publiques (peu de projets mécanistiques).



Près d'un quart des projets financés (22 %) adoptent une approche « One Health » (au moins deux compartiments « One Health » abordés dans le projet). 66 % des projets financés incluent un volet en

recherche humaine, tandis que 44 % des projets intègrent la thématique santé animale et 28 % des projets financés s'intéressent au rôle de l'environnement dans la diffusion de l'antibiorésistance.

Les appels dédiés au renforcement des partenariats public-privé

Depuis 2005, l'ANR participe au renforcement des partenariats entre laboratoires de recherche publics et privés au travers de différents appels à projets spécifiques et programmes dédiés. 26 projets portant sur l'antibiorésistance ont ainsi été financés depuis 2011 (annexes 3 et 9).

Au sein même de l'AAPG, l'instrument de financement PRCE est dédié aux collaborations scientifiques entre au moins un laboratoire de recherche public et un partenaire privé produisant des travaux de recherche et développement. Ces projets visent à obtenir des résultats de recherche qui seront profitables aux deux parties, en permettant à la fois aux partenaires

académiques d'aborder différemment de nouvelles questions de recherche et aux entreprises d'accéder à une recherche publique du meilleur niveau. Entre 2014 et 2021, 11 PRCE portant sur la résistance aux antibiotiques ont été financés par l'ANR (annexe 3). Parmi ces projets, un peu plus d'un tiers a été sélectionné dans les comités Innovation biomédicale (CE18) et Technologie pour la santé (CE19). Les PRCE sont particulièrement adaptés à ces deux comités d'évaluation scientifique prenant en compte les applications des recherches proposées et leur possible valorisation. Avant l'apparition de l'AAPG, en 2014, les thématiques de ces deux comités relevaient d'appels spécifiques

dédiés, le programme Recherches Partenariales et Innovation Biomédicale (RPIB), d'une part, et l'appel Technologie pour la Santé et l'autonomie (TecSan), d'autre part.

Le programme RPIB soutenait des projets de recherches biologique et biomédicale dans le but de valoriser les résultats de la recherche publique et de promouvoir leur transfert vers des applications industrielles dans le domaine de la santé. Les projets financés devaient s'inscrire dans au moins une des thématiques suivantes : « Produits thérapeutiques et vaccins », « Outils et produits de diagnostic », « Outils technologiques pour la recherche et la production de biomolécules ». Deux projets relevant de l'antibiorésistance ont été financés en 2011 grâce à cet appel, Septiscreen et MRSA-VAC.

L'appel à projets Technologies pour la Santé (TecSan) avait pour objectif de promouvoir, dans le domaine de la santé et de l'autonomie, les applications de technologies innovantes ayant un fort potentiel de valorisation, au travers de projets de recherche appliquée permettant l'élaboration de concepts innovants et de sauts technologiques importants. Un projet de développement d'outil diagnostique lié à la lutte contre l'antibiorésistance a notamment été financé en 2013 dans le cadre de cet appel⁴⁸.

TecSan s'inscrit dans la continuité de l'appel Emergence-TEC, lancé par l'ANR pour soutenir l'émergence et la maturation des projets de technologies pour la santé. Cet appel s'adressait exclusivement aux laboratoires académiques avant tout partenariat industriel. Les projets soutenus étaient innovants, à fort potentiel de valorisation et les premières phases de validation des hypothèses avaient déjà été réalisées. 2 projets relevant de la lutte contre l'antibiorésistance ont été financés dans le cadre de ces appels en 2011 et 2012.

Parmi d'autres appels dédiés aux partenariats public-privé, les appels ASTRID et ASTRID Maturation soutiennent des projets de recherche innovants répondant à des thématiques intéressantes pour le ministère des Armées et aux retombées bénéfiques dans les domaines civil et mi-

litaire. Les projets issus de ces appels, financés par l'Agence de l'innovation de défense (AID) et mis en œuvre par l'ANR, ont permis de soutenir 10 projets de recherche entre 2012 et 2021.

Le programme LabCom, créé en 2014, a pour objectif d'inciter les acteurs de la recherche académique à créer des partenariats structurés à travers la co-construction de « Laboratoires Communs » avec des entreprises privées (ETI et PME en particulier). Deux LabComs portent sur la résistance aux antibiotiques, LUMINT⁴⁹ et AlgaHealth, financés respectivement en 2015 et en 2018.

33 partenariats public-privé, tous programmes confondus, portent sur la résistance aux antibiotiques (annexe 10). 73 % des entreprises ont reçu un financement de la part de l'ANR, les autres ayant participé sur fonds propres. Il est à noter que les catégories les plus représentées sont les TPE (très petites entreprises) et les PME démontrant le rôle clé de leur entreprise dans le domaine de la résistance aux antibiotiques. Parmi les partenaires industriels, SANOFI apparaît deux fois dans le programme RPIB. ELVESYS, une PME spécialisée en microfluidique apparaît également deux fois sur des programmes différents, ASTRID Maturation et l'AAPG.



48 Voir le projet ReSynPlex portant sur la détection et la caractérisation multiplexée des pathogènes associés aux syndromes respiratoires, p 48.

49 Voir page 44.



Le programme prioritaire de recherche (PPR)

Le rapport réalisé à la suite du groupe de travail présidé par les Dr Jean Carlet et Pierre Le Coz a permis de faire des propositions pour traiter du sujet de l'antibiorésistance à l'échelle nationale. Ce rapport, remis en juin 2015 à Marisol Touraine, ministre des Affaires sociales, de la Santé et des Droits des femmes, sert de base pour le travail du

comité interministériel pour la santé qui s'est réuni en novembre 2016. Parmi les recommandations retenues, figure la création d'un programme prioritaire de recherche (PPR) doté de 40 millions d'euros sur 10 ans financé dans le cadre du Programme d'investissements d'avenir intégré dans France 2030 (figure 15).

Figure 15 : Chronologie des événements depuis la déclaration de l'OMS



Le pilotage scientifique du PPR a été confié à l'Inserm, sous la direction de Marie-Paule Kiény. Évelyne Jouvin-Marche en assure la coordination scientifique (figure 16). Le texte du programme, élaboré en sep-

tembre 2019, a été validé par le comité de pilotage interministériel⁵⁰ du PPR. L'ANR, opérateur de France 2030 dans le champ de l'enseignement supérieur et de la recherche, est en charge de la gestion du PPR.

Figure 16 : Chronologie des événements depuis le lancement du PPR Antibiorésistance

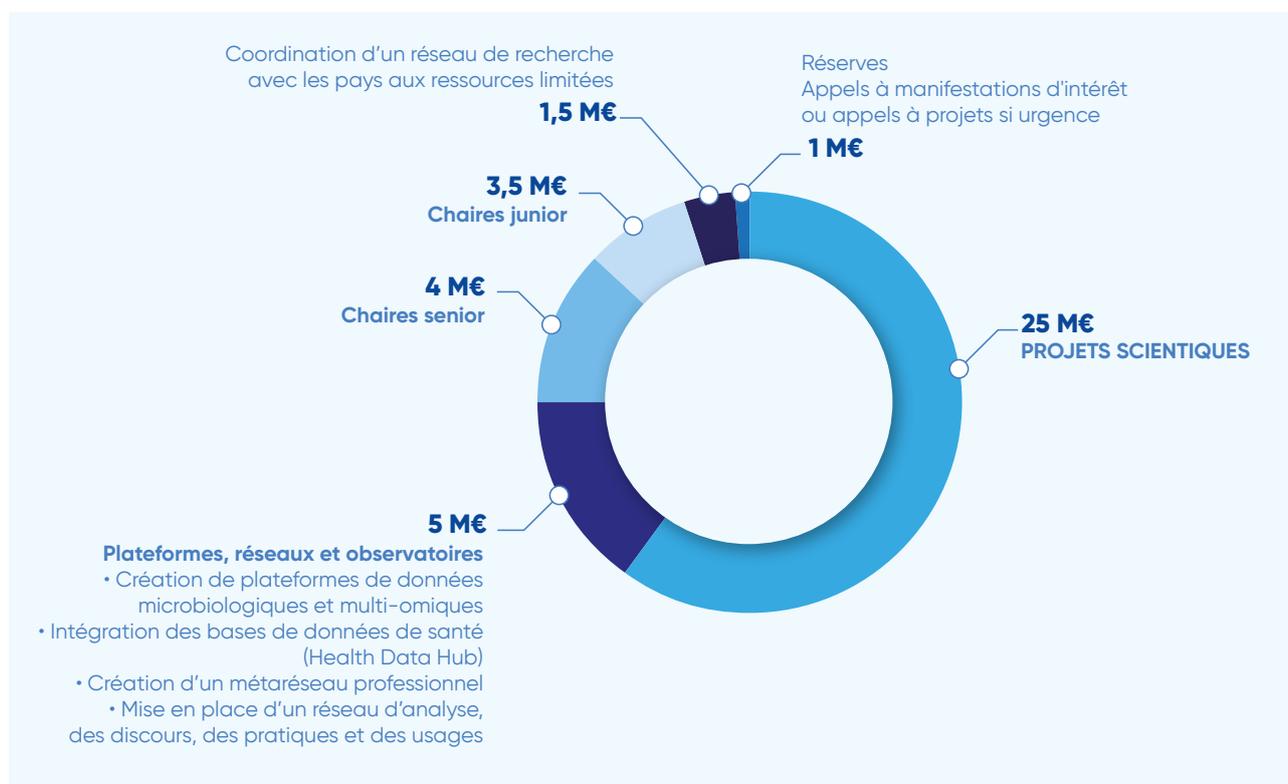


50 Le comité de pilotage est composé du ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation, du ministère des Solidarités et de la Santé, du ministère de la Transition écologique et solidaire et du ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation.

Le budget du PPR est réparti entre le financement de projets scientifiques sélectionnés dans le cadre d'un appel à projets (25 millions d'euros), la mise en place de quatre plateformes⁵¹ (5 millions d'euros), la coordination d'un réseau de recherche avec des pays à ressources limitées (1 millions d'euros) et la création de quatre chaires sénior (4 millions d'euros) et de 7 chaires junior (3,5 millions d'euros) [figure 17]. L'Inserm a assuré la mise en place des plateformes et

du réseau avec les pays à ressources limitées, ainsi que la première partie de la sélection des candidats aux chaires (à partir des CV). L'ANR a mis en œuvre les processus de sélection des projets dans le cadre de l'appel à projets et la deuxième étape de sélection des chaires. L'Agence est également en charge de la contractualisation, du suivi financier et scientifique des projets.

Figure 17 : Répartition du budget du PPR



Le PPR sur l'antibiorésistance repose sur quatre piliers interdisciplinaires et interconnectés :

<p>Défi #1</p> <p>Dynamiques et contrôle de l'émergence, de la transmission et de la dissémination de l'antibiorésistance</p>	<p>Défi #2</p> <p>Optimisation de l'usage des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire</p>	<p>Défi #3</p> <p>Déterminants individuels, ethnologiques et sociologiques, économiques, politiques et culturels de l'antibiorésistance</p>	<p>Défi #4</p> <p>Innovation thérapeutique</p>
--	---	--	---

51 Plateforme de base de données microbiologique multi-omique ; pôle de données de santé ; métaréseau professionnel ; réseau d'analyse des discours, pratiques et usages liés aux antibiotiques et à la résistance aux antimicrobiens.

Figure 18 : Chronologie de l'appel à projets lancé dans le cadre du PPR Antibiorésistance

L'appel à projets s'est déroulé en trois grandes étapes :

- l'appel à manifestation d'intérêt (131 propositions reçues), suivi d'un colloque permettant d'envisager la formation de consortiums ;
- la présélection (72 propositions reçues) ;
- le grand oral (20 coordinateurs entendus).

L'appel à projets



11 projets ont été classés A+ par le jury à l'issue du processus d'évaluation (figure 18) et proposés pour un financement (annexe 11). Les coordinateurs et coordinatrices ont été informés le 16 février 2021 de la décision finale. Le taux de succès global fut de 15,3 %. 3 projets sont d'une durée de 48 mois, 4 d'une durée de 60 mois et 4 d'une durée de 72 mois. Les

projets sélectionnés couvrent l'ensemble des défis attendus. Au cours du deuxième semestre de 2021, des réunions de lancement rassemblant les représentants de l'ANR, les membres des consortiums et les gestionnaires des différents organismes partenaires ont été organisées par les coordinateurs et coordinatrices.

Chaires junior et senior

Dans le cadre du PPR, des chaires interdisciplinaires junior et senior seront financées pour renforcer la recherche française sur la résistance aux antibiotiques. L'appel devrait permettre le recrutement de chercheurs dont l'expertise favorisera le développement d'investigations d'excellence dans ce domaine. Les chaires junior sont ouvertes sans condition de nationalité, ou de statut, pour des jeunes chercheurs et jeunes chercheuses ayant entre trois et dix ans d'expérience professionnelle après obtention de leur doctorat. Les chaires senior sont ouvertes à tous les scientifiques ayant une expérience professionnelle d'au moins dix ans après obtention du doctorat. Les

projets pourront démarrer dès le 1^{er} trimestre de 2023 pour une durée allant de 18 à 60 mois pour les postes seniors et de 48 à 60 mois pour les postes junior.

La première étape de sélection des candidats à partir de leur CV a été menée par l'Inserm, 18 candidatures sur 24 ont été retenues pour les chaires junior et 3 sur 11 pour les chaires senior. La deuxième étape de sélection est gérée par l'ANR. *In fine*, seuls 14 candidats ont déposé un dossier. Le jury s'est réuni le 19 octobre 2022, les résultats devraient être connus en novembre après validation par les autorités ministérielles.

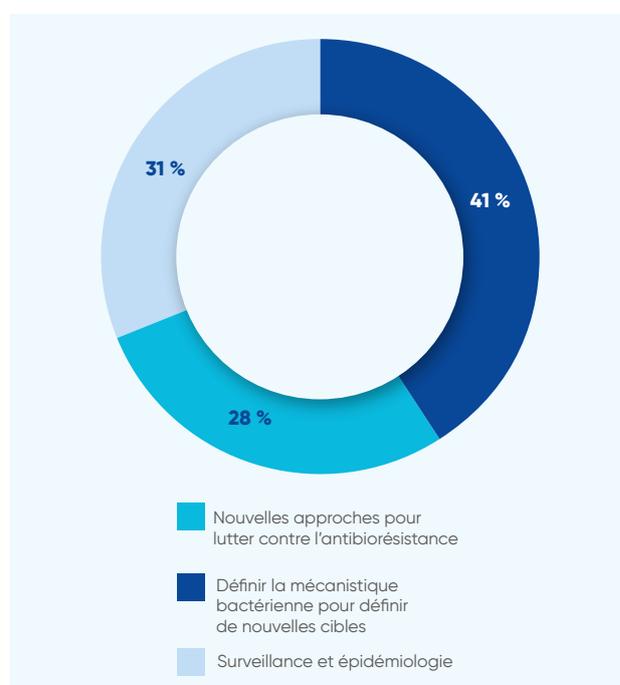
Les laboratoires d'excellence (LabEx)

L'ambition affichée des LabEx est d'augmenter l'excellence et l'originalité scientifiques, le transfert des connaissances et, par là même, la visibilité internationale de la recherche française, tout en entraînant dans cette dynamique d'autres laboratoires nationaux ; de garantir l'excellence des cursus et de jouer un rôle moteur dans les formations de niveau master et doctorat ; de s'inscrire dans la stratégie de leurs établissements de tutelle et de renforcer la dynamique des sites concernés. Le financement des LabEx entre dans le cadre du premier Programme d'investissement d'avenir (PIA 1). La durée initiale des LabEx était de huit à neuf années. Le succès de cette action du PIA 1 intégré dans France 2030 est attesté par la reconduction du financement de la majorité des projets après avis d'un jury international en 2018 et/ou par l'obtention d'un label Initiatives d'excellence (IDEX) ou I-SITE par leur établissement universitaire de tutelle pour plusieurs d'entre eux. Les LabEx ayant des thématiques de recherche très larges, leurs priorités scientifiques dépassent bien entendu un domaine de recherche restreint comme l'antibiorésistance. Parmi les LabEx financés, 18 ont inclus l'antibiorésistance parmi leurs objectifs de recherche (annexe 12). La majorité d'entre eux s'inscrivent dans la thématique Biologie-Santé, les projets en infectiologie et en neurosciences y étant les mieux représentés. Globalement, les publications impliquant au moins une équipe labellisée « LabEx » regroupent 65 % des 137 articles qui ont été colligés sur la résistance aux antibiotiques dans la base de données de l'ANR⁵².

Un rôle prépondérant, par le nombre de publications et de collaborations, est tenu par le LabEx IBEID⁵³. Un des 4 programmes de IBEID, « Explorer la diversité/complexité microbienne, détecter les émergences », traite en particulier de l'antibiorésistance. Deux autres LabEx présentaient un axe de recherche sur les résistances aux traitements médicamenteux et ont, de ce fait, conduit plusieurs projets de recherche sur l'antibiorésistance : LERMIT⁵⁴, dont les

thématiques sont maintenant incluses dans le projet scientifique de l'IDEX PSL et ECOFECT⁵⁵, dont le programme de recherche se perpétue en partie sous la forme du projet INFECTIOTRON financé en 2021 par France 2030⁵⁶. Deux tiers des publications sur l'antibiorésistance faisant référence à l'action LabEx émanent d'IBEID, LERMIT ou ECOFECT (figure 19). Il faut également noter l'implication d'IBEID et d'ECOFECT dans le développement, en France, de l'approche « One Health », avec l'idée sous-jacente développée par le LabEx ECOFECT qu'appliquer les concepts et la méthodologie de l'écologie communautaire aux problèmes de résistance aux antimicrobiens permet de mieux prendre en compte la complexité de ce phénomène.

Figure 19 : Répartition des publications sur la thématique « antibiorésistance » faisant référence à un projet LabEx



52 La base de données des publications faisant état d'un financement France 2030 qui a été établie par l'ANR comptabilise 61 432 articles de 2011 à 2020. La sélection des publications ayant trait à la résistance aux antibiotiques a été réalisée à l'aide des mots-clés suivants : « antibiorésistant, antibiorésistance, antibiotic resistance, cephalosporin resistance, penicillin resistance, fluoroquinolone resistance, aminoglycoside resistance, methicillin resistance, colistin resistance, monobactam resistance, trimethoprim resistance, sulfamethoxazole resistance ».

53 https://research.pasteur.fr/fr/program_project/integrative-biology-of-emerging-infectious-diseases/

54 <http://labex-lermit.fr/fr/recherche/thematiques>

55 <https://ecofect.universite-lyon.fr/>

56 Dans le cadre de l'action Equipements Structurants pour la Recherche (ESR/EquipEx+).



Les autres actions de France 2030 impliquées dans la recherche sur l'antibiorésistance

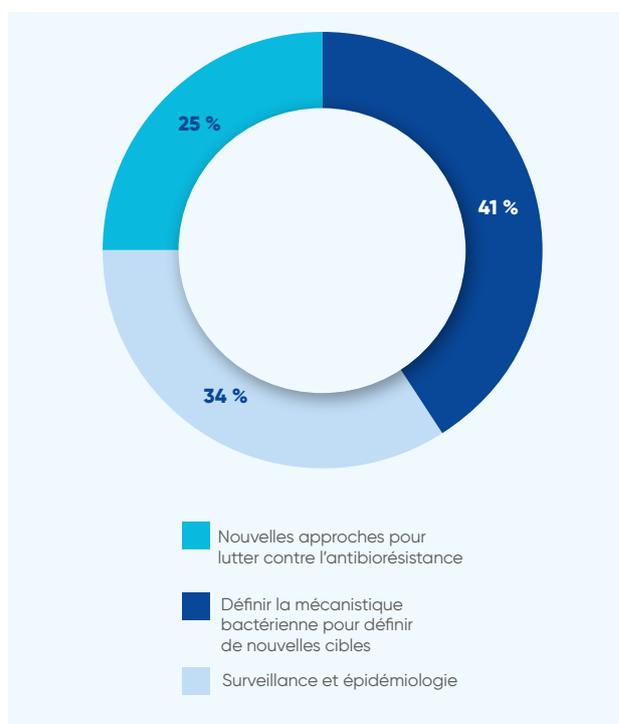
• **Les instituts de recherche technologique (IRT)**, au travers de partenariats stratégiques public-privé en matière de recherche, de formation et d'innovation, ont pour objectif de renforcer les écosystèmes constitués par les pôles de compétitivité, permettant ainsi à la France d'atteindre l'excellence dans des secteurs clés d'avenir et de se doter de filières économiques parmi les plus compétitives au niveau mondial, afin de créer de la valeur et de l'emploi. En Biologie-Santé, l'IRT BIOASTER, principalement localisé à Lyon, concerne la microbiologie et les maladies infectieuses. Il est doté d'un financement France 2030 de 128,1 M€ sur une durée de treize ans (2012-2025). Prenant en compte dans sa démarche scientifique, comme ECOFECT ou IBEID, l'approche « One Health », BIOASTER a participé depuis sa création à la recherche sur l'antibiorésistance^{57 58}.

• **IHU et RHU** : La mission des IHU (instituts hospitalo-universitaires) est de développer, dans leur domaine thématique, des compétences et une capacité de recherche de niveau mondial, incluant une infrastructure de recherche clinique et une infrastructure de recherche translationnelle ouvertes aux projets émanant de partenaires publics ou privés, d'origine nationale ou internationale. Parmi les IHU, Méditerranée Infection répond aux thématiques de microbiologie et d'infectiologie. À ce titre, cet institut est un contributeur important dans le domaine de l'antibiorésistance, le nombre des publications de l'IHU sur ce thème représentant 1/6^e du total des publications sur l'antibiorésistance colligées dans la base de données ANR (figure 20). En complément du rôle structurant des IHU, l'action RHU (Recherche hospitalo-universitaire en santé) vise à soutenir des projets de recherche translationnelle en santé ou de recherche clinique de grande envergure. L'un des projets sélectionnés, IdBIORIV⁵⁹, est fortement impliqué dans l'étude de l'antibiorésistance. Son objectif est de développer

un outil de diagnostic du sepsis permettant, en moins de 60 minutes, l'identification du pathogène, la caractérisation de son profil de résistance aux antibiotiques et de son niveau de virulence.

• **Plusieurs autres projets⁶⁰ France 2030** ont publié dans le domaine de l'antibiorésistance sans que cette thématique soit au cœur de la stratégie et/ou de la valorisation de ces projets (figure 20).

Figure 20 : Répartition des publications faisant état d'une subvention France 2030 et issues des projets listés dans l'annexe 14



57 <https://www.bioaster.org/fields-of-applications/antimicrobials/>

58 L'annexe 13 résume les projets ayant trait à cette thématique, portés par BIOASTER avec un partenariat industriel ou académique.

59 <https://idbioriv.com/>

60 L'ensemble des actions distinctes des LabEx, IDEX et des IRT qui ont contribué à l'étude de la résistance aux antibiotiques sont présentées dans l'annexe 14.

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

Au cours de cette étude, 835 articles et revues portant sur l'antibiorésistance et ayant mentionné l'ANR⁶¹ (figure 21) ont été identifiés pour la période 2011-2021. Sur ces 835 publications, 421 ont pu être formellement rattachées aux projets retenus dans ce *cahier* grâce à la présence du code de financement ANR. La recherche a été effectuée sur *HAL* et sur *Web of Science* via les codes de financement ANR des projets retenus d'une part, et par l'utilisation de

mots-clés d'autre part (tableau 4). Les mots-clés ont permis d'identifier les projets sur la thématique, puis un filtre a été appliqué pour ne conserver que les publications mentionnant l'ANR comme financeur. Les données ont ensuite été combinées.

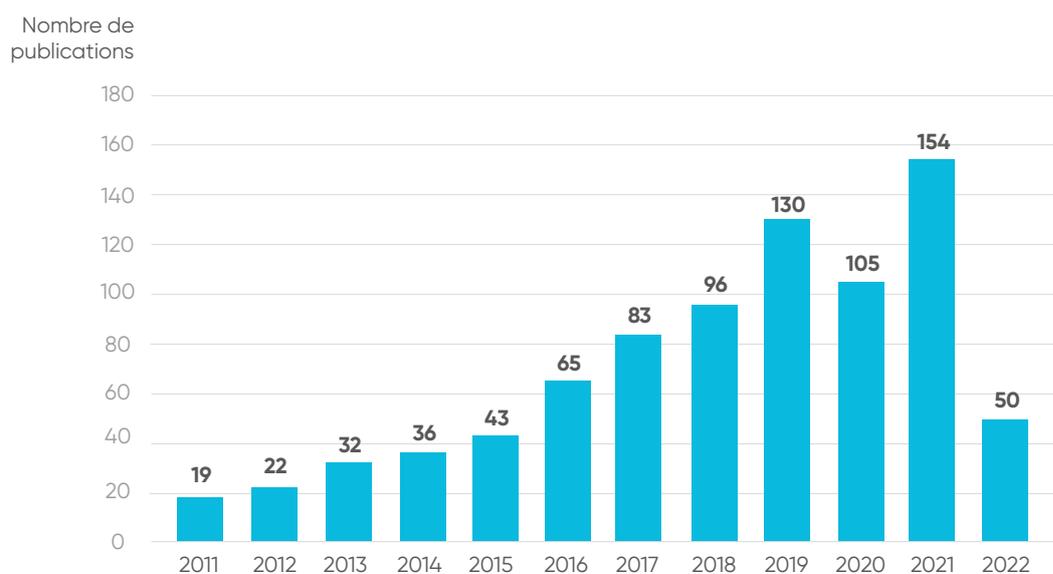
Les analyses ci-après ont été réalisées sur la base de ces 835 publications.

Tableau 4 : Mots-clés utilisés pour identifier les publications ayant trait à l'antibiorésistance

Mots-clés en français	Mots-clés en anglais
Antibioresistant	Antibioresistant
Resistance aux antibiotiques	Antibiotic resistance
Resistance	Resistance
Cephalosporine*	Cephalosporin
Penicilline*	Penicillin
Fluoroquinolone*	Fluoroquinolone
Aminoglycoside*	Aminoglycoside
Methicilline*	Methicillin
Colistine*	Colistin
Monobactame*	Monobactam
Trimethoprim*	Trimethoprim
Sulfamethoxazole*	Sulfamethoxazole

* Ces mots-clés ont été systématiquement combinés au mot-clé « résistance ».

Figure 21 : Répartition annuelle des publications identifiées dans cette étude



Sur la période étudiée, le nombre de publications progresse parallèlement à l'augmentation du nombre de projets financés par l'ANR sur la résistance aux antibiotiques. La baisse observée du

nombre de publications relevant de l'antibiorésistance en 2020 s'explique probablement par la crise du Covid-19 (figure 21).

⁶¹ Soit juste avec « ANR » ou « Agence nationale de la recherche » ou bien le code projet dans les sources de financement ou dans les remerciements.

Tableau 5 : L'analyse des journaux dans lesquels ont été publiés les articles et revues relevant de l'antibiorésistance montre que la plupart des publications proviennent à la fois de journaux spécialisés dans la microbiologie/agents antimicrobiens et de journaux plus généralistes

Journal	Nombre de publications
FRONTIERS IN MICROBIOLOGY	48
ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY	32
SCIENTIFIC REPORTS	29
NATURE COMMUNICATIONS	26
PLOS ONE	25
MBIO	21
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY	18
MOLECULAR MICROBIOLOGY	18
NUCLEIC ACIDS RESEARCH	18
ANTIBIOTICS-BASEL	16

L'analyse des publications issues des projets financés montre que celles-ci concernent d'abord la microbiologie, puis la biochimie, la biologie moléculaire ainsi que la pharmacologie (tableau 5). Cette répartition s'explique par le profil des projets financés par l'ANR (notamment par l'AAPG), qui sont en général fondamentaux. Peu de publications sont orientées

vers la médecine ou les essais cliniques, ces domaines étant généralement couverts par d'autres types de financement en France. Un nombre non négligeable de publications s'intéresse à l'aspect environnemental de la résistance aux antibiotiques, une thématique de plus en plus répandue parmi les projets financés (figure 22).

Figure 22 : Principaux domaines scientifiques décrits par le *Web of Science*, associés aux publications de l'étude. Une même publication peut se trouver dans plusieurs catégories



Même si l'ANR offre un soutien financier aux seules équipes françaises, les scientifiques français travaillant sur la résistance aux antibiotiques collaborent de manière importante avec leurs homologues étrangers, comme l'indique l'origine géographique des signataires des publications. Chercheurs et chercheuses français ont ainsi collaboré avec des scientifiques travaillant dans 90 pays, au premier rang desquels figurent les États-Unis, l'Allemagne et

le Royaume-Uni (figure 23), pays considérés comme premiers partenaires des chercheurs français et où le financement de la recherche est généralement bien doté. La collaboration avec l'Allemagne a par ailleurs été stimulée par la mise en place d'un appel bilatéral spécifique sur l'antibiorésistance en 2019 et 2020, et par l'accord bilatéral récurrent entre les deux pays lors de l'AAPG. En dehors de ces trois pays, les collaborations avec d'autres pays européens restent

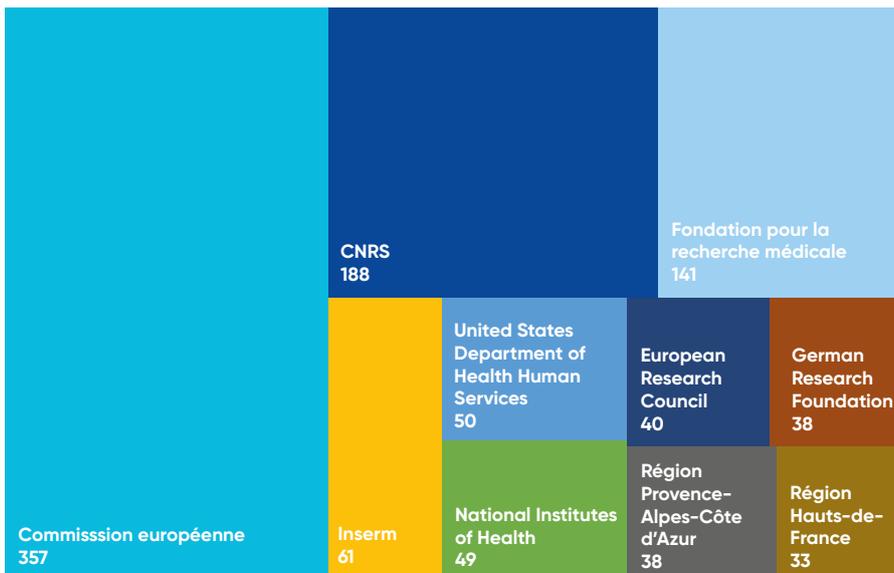
importantes et sont également facilitées par la mise en place d'accords bilatéraux (notamment avec le FNS Suisse) ou de programmes internationaux comme la JPIAMR, coordonnée par la Suède (voir les sections précédentes pour plus d'informations sur ces programmes). Il est également intéressant de noter que les scientifiques français travaillent également avec des pays aux ressources limitées,

notamment ceux où les échanges et les coopérations scientifiques sont facilités (Algérie, Tunisie, Liban) et ceux pour lesquels le taux d'incidence de la résistance aux antibiotiques est élevé (Inde, Chine). Enfin, le réseau international des Instituts Pasteur, présent dans 25 pays et sur tous les continents, favorise également les collaborations internationales dans cette thématique.

Figure 23 : Principaux pays associés aux chercheurs français financés dans les publications de l'étude



Figure 24 : Principaux cofinanceurs (hors ANR) des projets cités dans les publications de l'étude



En plus de l'ANR, la Commission européenne apparaît comme le principal cofinancier des projets financés par l'ANR, suivi par le CNRS, la FRM et l'Inserm (figure 24). On retrouve également des agences américaines ou allemandes parmi les cofinanceurs,

ce qui s'explique par la forte synergie avec les États-Unis ou l'Allemagne. On observe également une bonne implication des régions françaises (Provence-Alpes-Côte d'Azur et Hauts-de-France) parmi les cofinanceurs.

PANORAMA DES PROJETS SCIENTIFIQUES FINANCÉS

Diagnostic et surveillance	42
Mécanismes de résistance et de transmission	51
Molécules thérapeutiques et nouvelles approches	64
France 2030	78

L'Agence nationale de la recherche (ANR) remercie les coordinateurs et les coordinatrices de projets qui ont fourni les informations pour la réalisation des fiches projets illustrant ce panorama.

Le choix des projets proposés repose sur l'évaluation de leur impact tant sur la production scientifique ou l'obtention de brevets que sur les politiques de santé publique ou la carrière des scientifiques financés. Cette sélection témoigne également de la diversité des instruments de financement mobilisés pour la recherche sur la résistance aux antibiotiques.

Diagnostic et surveillance

BEAM Alliance	43
LUMINT	44
NETESE	45
PathoTOP	46
PrediRes	47
ReSynPlex	48
SpARK	49
VetCAST	50

BEAM Alliance

Biotech companies from Europe innovating in Anti-Microbial resistance research

Rappel des objectifs

L'émergence de bactéries multirésistantes représente un risque croissant pour la santé publique mondiale. Ce risque, qui pourrait conduire à une nouvelle pandémie, est reconnu par de nombreux gouvernements. Le développement de nouveaux antibiotiques et de thérapies alternatives est urgent pour faire face à cette menace, mais l'innovation est freinée par une importante défaillance de marché.

C'est pourquoi les grandes entreprises pharmaceutiques désertent peu à peu le secteur, laissant les petites et moyennes entreprises (PME) globalement seules à la manœuvre. Et ces dernières peinent à lever les fonds nécessaires auprès de leurs investisseurs habituels, qui ne voient pas de perspectives économiques suffisantes au vu des risques techniques encourus.

De nouvelles politiques d'incitations à la recherche et développement (R&D) sont donc nécessaires pour redynamiser le développement d'un portefeuille de produits antimicrobiens innovants.

Le groupe de travail BEAM Alliance, qui réunit 49 PME issues de 12 pays européens et impliquées dans le développement de produits innovants pour combattre la résistance antimicrobienne chez l'humain et au-delà, a ainsi été créé. Son objectif est de produire un document de synthèse détaillant des pistes de mécanismes incitatifs efficaces pour soutenir les PME.

BEAM Alliance permet d'analyser et de soutenir les politiques et les incitations en matière de R&D antimicrobienne qui ont été recommandées par des groupes d'experts tels que l'AMR Review et DRIVE-AB. Pour cela, le groupe de travail collabore avec les organisations à l'origine de ces recommandations et celles en charge de les appliquer, comme la DG SANTÉ de la Commission européenne.

Résultats majeurs

La méthodologie mise en place consiste à réunir, au sein des PME du groupe de travail, les principaux cadres ayant une expérience remarquable dans la R&D, l'entrepreneuriat, le développement pharmaceutique et l'accès au marché. Cette communauté a fourni un travail d'intelligence collective qui a permis de faire émerger les questions et les recommandations des PME en matière d'innovation en antibiorésistance. Trois réunions plénières ont notamment permis de structurer les grandes lignes de notre réflexion commune.

Le groupe de travail a également interagi avec les principales parties prenantes (DRIVE AB, EMA, EUCAST, DG SANTÉ et DG RTD, OMS, IACG, Wellcome Trust) et soutenu des initiatives nationales en fournissant du contenu et en participant à des réunions en Suisse, en France ou aux Pays-Bas.

Afin de fournir un cadre juridique pérenne à ce groupe de travail, la BEAM Alliance a été structurée en une association (loi 1901). Près de six ans après sa création, la BEAM Alliance est plus que jamais active, avec 67 membres issus de 16 pays d'Europe, démontrant la pertinence d'un tel rassemblement. Le cœur du travail de BEAM Alliance reste principalement les mesures d'incitations réglementaires et économiques pour favoriser le développement des produits innovants en antibiorésistance.

BEAM Alliance a également établi la liste des produits développés par ses membres, y compris les produits au stade du développement préclinique. Ce portefeuille est depuis régulièrement mis à jour et disponible sur le site web de l'association (<https://beam-alliance.eu/pipeline/>). Il permet de démontrer la richesse de l'innovation soutenue par les PME et apporte des données tangibles aux décideurs politiques pour leur permettre de mieux appréhender la taille et la valeur de l'écosystème d'innovation européen.

Production scientifique et valorisation

BEAM Alliance a produit et publié un document de synthèse qui résume les problèmes des PME et leurs besoins, en termes de critères d'évaluation de la R&D (des stades précoces aux phases cliniques sans oublier les voies réglementaires) et de conception des modèles d'affaires (qui sont imprévisibles, tant sur les aspects de R&D que de marché). Le document fournit ainsi dix recommandations à destination des décideurs politiques, qui sont autant de pistes pour stimuler l'innovation en antibiorésistance.

Le projet BEAM Alliance est un projet de recherche collaborative – international. Le projet a commencé en janvier 2017 et a duré 12 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 49 998 euros.

PARTENAIRES

Holger Schmoll, AiCuris
 Nicholas Benedict, Allegra
 Marc Lemonnier, Antabio
 Eszter Nagy, Arsanis Biosciences
 Deborah O'Neil, Novabiotics
 Neil Murray, Redx Pharma

COORDINATRICE

Florence Séjourné
florence.sejourné@davolterra.com
 BEAM ALLIANCE

Biotech companies from Europe innovating
 in Anti-Microbial resistance.
 © BEAM Alliance



LUMINT

Lutte contre les Maladies Infectieuses Nouvelles Technologies

Rappel des objectifs

Dans un contexte d'augmentation de la mortalité due au développement de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, il est critique de développer des systèmes d'identification de pathogènes rapides et fiables. Ces systèmes d'identification rapide sont au cœur de la lutte contre l'antibiorésistance, un fléau en continuelle hausse à d'ici 2050, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime que l'antibiorésistance sera la première cause de mortalité dans le monde, avec 10 millions de morts chaque année. La technique de référence actuelle pour l'identification des pathogènes est la spectrométrie de masse complétée par des tests de susceptibilité aux antibiotiques. La principale limite de la spectrométrie de masse est son caractère destructeur : la colonie analysée ne peut pas être réutilisée pour le test de susceptibilité aux antibiotiques.

Le projet ANR LabCom LUMINT a pour objectif de développer un nouveau système d'identification des bactéries fondé sur la technologie de diffusion élastique de la lumière et associé à de l'intelligence artificielle. Le projet a nécessité le développement d'un automate, l'acquisition d'une base de données sur des souches de laboratoire, le développement des méthodes et d'algorithmes de classification des images pour l'identification des espèces de pathogènes. L'ambition du projet était de révolutionner les pratiques des laboratoires de microbiologie en permettant une analyse plus rapide

Résultats majeurs

Le projet LUMINT a permis :

- d'identifier une architecture système innovante qui a été protégée par deux brevets. Cette architecture est compatible avec tout type de milieux (opaques ou transparents) et permet une identification des pathogènes sur des colonies ayant 24 heures d'incubation (colonies dont la taille peut varier entre 500 microns et 4 mm) ;
- de démontrer la faisabilité de l'approche en concevant un premier banc optique V1 fonctionnel et en développant un ensemble d'algorithmes de classification et de calcul de descripteurs spécifiquement adaptés et optimisés pour le traitement des images de diffraction générées par le banc optique. Ce banc a été éprouvé sur une première base de données sur échantillons biologiques standardisés incluant dix espèces bactériennes ;
- de concevoir et de tester un instrument V2 semi-automatisé, sur la base du prototype V1. L'automatisation permet l'utilisation du prototype par des personnels non spécialistes de l'instrument et permet ainsi de préfigurer un prototype fonctionnel installable en laboratoire clinique. Ce second prototype a également été validé sur une base de données de référence incluant dix espèces

bactériennes standards - plus ou moins éloignées d'un point de vue phylogénique, avec optimisation du couple descripteurs-classifieurs permettant l'analyse des images acquises.

Nous avons donc répondu aux objectifs initiaux du projet, qui étaient de développer une nouvelle solution d'identification par diffraction pour tout type de milieux nutritifs (opaques ou transparents).

Production scientifique et valorisation

Le projet ANR LUMINT a permis de déposer deux brevets :

- Procédé d'observation d'un objet, FR1663396
- Procédé d'observation d'un objet, FR1663397

Le projet ANR LUMINT a été poursuivi dans le cadre d'un projet européen EIT-HEALTH Lumint@clinics, associant le CEA, i2A et deux partenaires hospitaliers : AP-HP (Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris), UZGENT (Laboratoire de microbiologie de l'hôpital universitaire de Gent, Belgique). Le projet a permis l'acquisition de deux bases de données cliniques sur les vingt espèces bactériennes les plus fréquemment rencontrées dans ces deux laboratoires de microbiologie hospitaliers. Ce projet Lumint@Clinics a été essentiel pour se confronter à des échantillons réels de patients présentant une variabilité biologique bien plus grande que des souches bactériennes de référence de laboratoire.

Pour des raisons de confidentialité et de stratégie pour i2A, aucune communication n'a été réalisée pendant le laboratoire commun et nous avons attendu la fin du projet Lumint@Clinics pour communiquer conjointement à l'oral lors de la conférence ECCMID 2021 : Nondestructive optical identification of pathogens on agar through laser backscattering, 29^e European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2021), Vienne, Autriche.

La société i2a souhaite amener le produit à un niveau industriel.

Le projet LUMINT est un LabCom.

Le projet a commencé en février 2016 et a duré 36 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 300 000 euros.

PARTENAIRES

Alexandre Thermet (Coordinateur), CEA - LETI

Société i2a

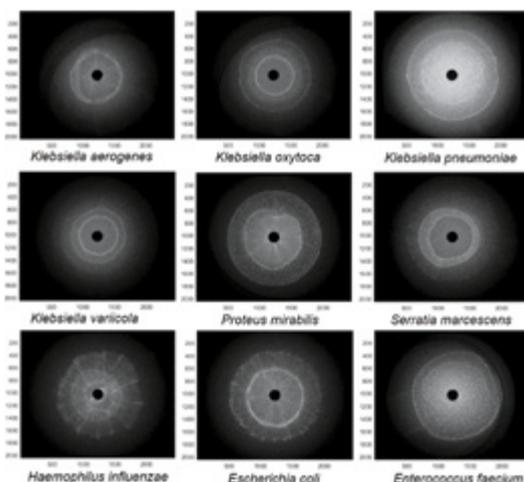
CONTACT

Olivier Fuchs

olivier.fuchs@cea.fr

CEA - LETI

À gauche : Exemples d'images de diffraction générées par le banc V2 en semi-automatique obtenues sur différentes colonies bactériennes.
À droite : Banc V2 semi-automatisé.
© CEA



NETESE

Network for Enhancing Tricycle ESBL Surveillance Efficiency

Rappel des objectifs

La résistance aux antibiotiques est un problème de santé publique majeur, qui touche particulièrement les pays à faibles et moyens revenus. Il est important de mesurer cette résistance de manière homogène entre les pays, afin de disposer d'indicateurs qui pourront permettre de juger de l'efficacité d'une intervention. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a ainsi proposé un protocole simple appelé « Tricycle », qui permet de mesurer la prévalence d'une bactérie résistante (*Escherichia coli* producteur de β -lactamases à spectre étendu BLSE) dans les secteurs humain, animal et environnemental. L'objectif du réseau NETESE était de mettre en relation des équipes qui avaient effectué une première campagne Tricycle et d'autres qui souhaitaient le faire.

Résultats majeurs

Nous avons tenu notre réunion de démarrage les 3 et 4 juillet 2019 à Paris, et notre réunion de clôture à Bruxelles les 29 et 30 mars 2022. Entretemps, nous avons tenu sept téléconférences.

Les résultats majeurs obtenus sont :

- le « service après-vente » sur le protocole, en cela que le réseau incluait les personnes directement impliquées dans sa conception, ainsi que les responsables du programme à l'OMS ;
- la tenue de réunions régulières permettait un point d'avancement pour chaque pays ;
- nouvelles opportunités : le réseau était un lieu d'échanges incluant des bailleurs (comme le Fleming Fund et la fondation Mérieux) qui finançaient ces programmes. Des équipes de NETESE ont également intégré des *consortia* d'autres projets de recherche (comme le projet TRIUMPH, financé par la JPIAMR, et qui accueille différents membres de NETESE) ;
- l'identification de leaders dans les pays à faibles et moyens revenus, qui pourront être sollicités pour d'autres projets liés à l'antibiorésistance.

Les difficultés mises en évidence concernent :

- la nécessité de faire communiquer les acteurs des trois secteurs (humain, vétérinaire, environnement) ;

- la pérennisation des fonds ;

- l'accès aux réactifs ;

- l'inclusion des femmes enceintes dans certains pays.

Ce réseau a permis de faciliter la mise en place et l'application du protocole de surveillance de la résistance aux antibiotiques dans les pays à faibles et moyens revenus.

Production scientifique et valorisation

Deux comptes-rendus de réunions ont été produits.

Un article est en cours de rédaction.

Le projet NETESE est un projet de recherche collaborative international.

Le projet a commencé en avril 2019 et a duré 36 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 100 000 euros.

PARTENAIRES

Antoine Andremont et Laurence Armand, Université de Paris

Suraya bt Amir Husin, Ministry of Health, Malaisie

Valérie Gbonon M Bengue, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

Jan Jacobs, Institute of Tropical Medicine Antwerp, Belgique

Berthe-Noëlle Miwanda, Institut National de Recherche Biomédicale,

République démocratique du Congo

Abdoul-Salam Ouedraogo, CHU Souro Sanou, Burkina Faso

Nelly Pusparidari, National Institute of Health Research and Development,

Indonésie

Bissoume Samba, Pasteur Institute Dakar, Sénégal

Luc Samison, University of Antananarivo, Madagascar

Heike Schmitt, National Institute for Public Health and the Environment,

Pays-Bas

Olivier Vandenberg, Université Libre de Bruxelles, Belgique

Jaap Wagenaar, University of Utrecht, Pays-Bas

Francois Xavier Mbopi Keou, University of Yaounde, Cameroun

COORDINATEUR

Étienne Ruppé

etienne.ruppe@Inserm.fr

Centre de recherche Infection, Antimicrobiens, Modélisation, Évolution

Photo de la réunion de lancement du projet, Paris, jeudi 4 juillet 2019.

© IAME



PathoTOP

Identification rapide de pathogènes bactériens par protéomique top-down en contexte clinique

Rappel des objectifs

Ces dix dernières années, la spectrométrie de masse (MS) a révolutionné la microbiologie clinique par son utilisation en routine dans les hôpitaux pour l'identification rapide des bactéries.

L'approche classique utilisée est basée sur de simples mesures de masse des protéines issues des colonies bactériennes par MALDI-TOF MS, et la comparaison des profils expérimentaux obtenus avec des profils de référence. Bien que très utile dans un grand nombre de cas, cette approche présente cependant des limitations importantes. Certaines bactéries restent difficiles à identifier, d'autres, qui sont très proches, sont difficilement différenciables et, enfin, la résistance et la virulence de certaines souches ne peuvent être caractérisées, ce qui limite la prise en charge thérapeutique des patients à l'hôpital. Dans ce contexte, l'objectif du projet PathoTOP était de montrer que la protéomique top-down, basée sur l'analyse de protéines intactes par spectrométrie de masse à très haute résolution (LC-MS/MS) est une alternative intéressante permettant d'aller au-delà de certaines de ces limitations. L'objectif, à plus long terme, est que cette approche innovante puisse venir en complément des approches plus classiques et permettre une meilleure prise en charge des patients à l'hôpital, notamment en cas d'infection grave.

Résultats majeurs

Nous avons tout d'abord optimisé toutes les étapes de notre pipeline d'analyse protéomique top-down, de la préparation des échantillons (lysats bactériens) à l'analyse bioinformatique des données de spectrométrie de masse. Nous avons utilisé *E. coli* comme modèle, mais avons veillé à ce que notre protocole de préparation d'échantillon soit utilisable pour un grand nombre de bactéries différentes, à Gram négatif comme positif. Nous l'avons ensuite appliqué à l'analyse de trois familles d'entérobactéries (*E. coli*, *Shigella* et *Salmonella*). Les résultats obtenus montrent que notre approche permet d'identifier un très grand nombre de protéoformes différentes pour chaque famille d'entérobactéries. En effet, plusieurs milliers sont obtenus pour chaque bactérie, ce qui représente l'analyse la plus exhaustive réalisée à ce jour. Certaines protéoformes sont très proches les unes des autres et seule l'approche top-down permet de les différencier. Pour analyser nos données, nous avons mis au point un logiciel qui permet de traiter les fichiers bruts de spectres MS et MS/MS top-down à haut débit sans utiliser de banque de données (DiagnoTop). De manière importante, la comparaison des protéoformes obtenues pour les différentes familles d'entérobactéries montre clairement qu'elles peuvent être différenciées, alors que les approches classiques par MALDI-TOF ne le permettent pas. Ces résultats sont très encourageants et sont actuellement étendus à d'autres bactéries, notamment des souches virulentes/résistantes de *Staphylococcus aureus*.

Production scientifique et valorisation

Publications

Le pipeline d'analyse top-down a été publié dans *Journal of Proteome Research*, qui fait référence dans le domaine de l'analyse protéomique.

Dupré M. et al., (2021) Optimization of a Top-Down Proteomics Platform for Closely Related Pathogenic Bacterial Discrimination, *J. Proteome Res.* 20(1): 202-211.

Pour l'analyse des données, un logiciel appelé DiagnoTOP a été mis au point, basé sur deux étapes : la première vise à créer une base de connaissance (*Knowledge Base*) comprenant des clusters de spectres MS/MS représentatifs de chacune des souches étudiées. Lors de la seconde étape, toutes les KBs obtenus pour les différentes souches sont comparées et une visualisation par *Multi Dimension Scaling* (MDS) est réalisée.

En savoir plus :

Borges Lima D. et al. (2021) DiagnoTop: A Computational Pipeline for Discriminating Bacterial Pathogens without Database Search, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*.

Communications

Ces résultats ont également été présentés au cours de congrès nationaux et internationaux, dans le cadre de conférences orales ou invitées.

ASMS Top-down proteomics virtual workshop, 2020

Brazilian Conference of Mass Spectrometry, 2018, Rio de Janeiro (Brésil)

Isolated Biomolecules Biomolecular Interactions, 2018, Texel (Pays-Bas)

Annual meeting of the Swiss Group of Mass Spectrometry Beatenberg, 2017 (Suisse)

Le projet PathoTOP est un projet de recherche collaborative.

Le projet a commencé en octobre 2015 et a duré 48 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 697 581 euros.

PARTENAIRES

Isabelle Podglajen, Hôpital européen Georges-Pompidou

Claire Poyart, Institut Cochin

Dominique Clermont, Institut Pasteur

Patrick Trieu-Cuot, Institut Pasteur

Marie-Cécile Ploy, Hôpital Dupuytren, Limoges

COORDINATRICE

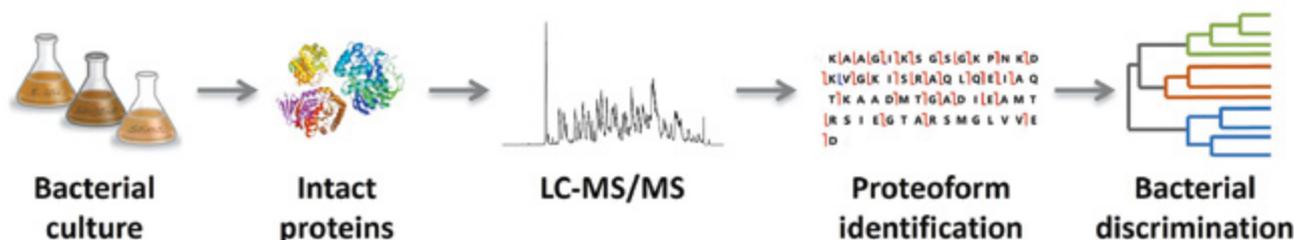
Julia Chamot-Rooke

julia.chamot-rooke@pasteur.fr

Institut Pasteur

Pipeline d'analyse top-down mis au point pour le projet PathoTOP.

© Figure issue de Dupré et al., (2021) *J. Proteome Res.*



PrediRes

Prédiction de l'émergence de la Résistance bactérienne dans le microbiote intestinal humain lors d'un traitement antibiotique

Rappel des objectifs

Le microbiote intestinal humain est composé d'une grande variété de bactéries, de virus et de champignons qui vivent en symbiose avec leur hôte et influencent la santé tout au long de la vie. Les antibiotiques sont connus pour perturber la structure du microbiote bactérien, qui n'est qu'en partie résilient, ce qui entraîne un retour incomplet à l'état antérieur au traitement et peut favoriser l'acquisition et la dissémination de résistance bactérienne. L'utilisation d'antibiotiques, par voie orale ou intraveineuse, peut donc affecter le bon fonctionnement de l'intestin. Mais l'intestin est un système complexe et la compréhension de cette perturbation nécessite l'étude de variables biotiques telles que la population de bactéries spécifiques (par exemple, les entérobactéries qui comprennent de nombreux agents pathogènes et sont à l'origine de maladies nosocomiales), les prédateurs bactériens (les bactériophages) et les micro-organismes concurrents (champignons). D'autres variables clés aident à comprendre les perturbations induites, comme la composition chimique du microbiote (métabolome), qui évalue la capacité fonctionnelle de la communauté microbienne à assurer les fonctions essentielles au maintien en santé de l'hôte. Le projet PrediRes visait à comprendre les conséquences de l'exposition intestinale aux antibiotiques, en étudiant l'ensemble des composants du microbiote intestinal.

Résultats majeurs

Nous avons analysé des échantillons recueillis auprès de 22 volontaires sains traités par antibiotiques à une dose usuelle en pratique clinique, et étudié la composition taxonomique des populations bactérienne, phagique et fongique, ainsi que l'ensemble des métabolites présents dans les fèces. Une analyse spécifique de la population d'*Escherichia coli*, une entérobactérie, a été réalisée. Des méthodes ciblées ont été utilisées pour dénombrer les populations bactérienne et fongique, et étudier plus spécifiquement certaines fonctions du microbiote intestinal.

Nous avons pu mesurer l'effet des antibiotiques sur chaque composante et le lien entre les niveaux de perturbation et de résilience maximales de chaque composante. Nous avons également étudié dans quelle mesure la composition du microbiote intestinal avant traitement le protège.

Rapidement après le début du traitement antibiotique, les différentes composantes du microbiote intestinal sont perturbées, à l'exception de la structure taxonomique de la composante fongique.

La perturbation de la structure taxonomique de la population bactérienne était associée à celle des phages, du contenu en gènes codant pour la résistance aux antibiotiques et de la composition chimique du microbiote. La richesse en gènes codant pour la résistance aux antibiotiques n'était pas associée à un moindre impact des antibiotiques.

Nous avons par ailleurs modélisé la dynamique bactérienne après perturbation antibiotique, et mis en évidence que la prise en compte des interactions bactériennes et l'exposition individuelle aux antibiotiques améliorent l'analyse de la dysbiose induite par les antibiotiques.

Production scientifique et valorisation

Humières C. et *al.*, (2019) A simple, reproducible and cost-effective procedure to analyse gut phageome: from phage isolation to bioinformatic approach, *Sci. Rep.* Aug 5;9(1):11331.

Guk J. et *al.*, (2022) Modeling the bacterial dynamics in the gut microbiota following an antibiotic-induced perturbation.

Un article sur le mycobiome est en cours de revue :

Delavy M. et *al.* How and why β -lactams antibiotics affect the healthy human gut mycobiota 2 and promote *Candida albicans* overgrowth?

Deux articles sont en cours de finalisation, l'un sur le phageome, l'autre sur l'intégration de toutes les données. Un article sur la structure de population d'*E. coli* est en préparation.

Le projet PrediRes est un projet de recherche collaborative. Le projet a commencé en janvier 2017 et a duré 51 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 478 034 euros.

PARTENAIRES

Stanislav Dusko Ehrlich, MetaGenoPolis

Eduardo Rocha, Institut Pasteur

Marie-Elisabeth Bougnoux Andremont, Institut Pasteur

Philippe Lesnik, Unité de recherche sur les maladies cardiovasculaires et métaboliques

COORDINATRICE

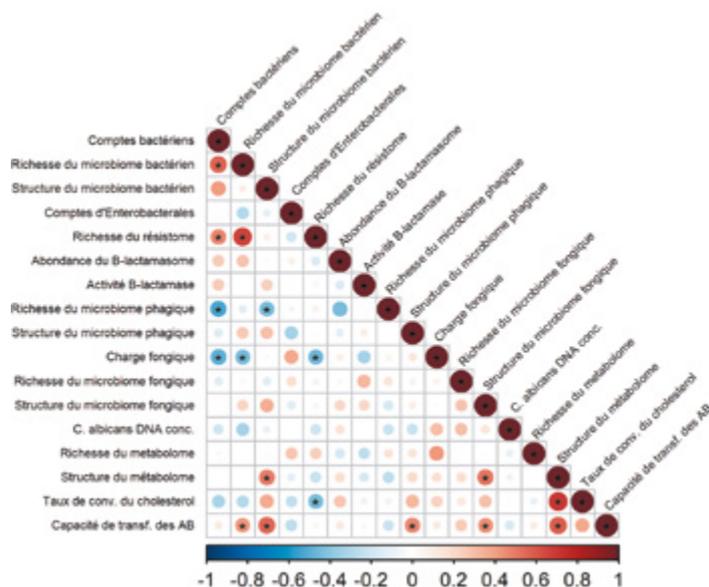
France Mentre

france.mentre@inserm.fr

Centre de recherche Infection, Antimicrobiens, Modélisation, Évolution

Corrélation de Spearman entre les perturbations maximales observées des composantes du microbiote intestinal. Les étoiles indiquent les corrélations statistiquement significatives. BGN, bacilles à Gram négatif ; conv, conversion ; AB, acides biliaires.

© France Mentre



ReSynPlex

Détection et caractérisation multiplexée des pathogènes associés aux syndromes respiratoires

Rappel des objectifs

Les infections respiratoires sont une menace majeure pour la santé humaine. Elles représentent une des causes principales de décès dans le monde (près de 4 millions de morts) et peuvent avoir pour origine de nombreux pathogènes (bactéries, virus et champignons), présents seuls ou en nombre dans le cas d'infection polymicrobienne. En raison de la sévérité potentielle de l'infection, un diagnostic précis, sensible et rapide est nécessaire afin de prendre les décisions appropriées pour la santé du patient. Cependant, la caractérisation de la maladie peut s'avérer un processus compliqué, du fait notamment de la multiplicité des pathogènes.

Le projet ReSynPlex avait pour objectif de développer une plateforme haut débit et automatisée permettant l'identification des pathogènes responsables des pneumonies (*hospital-acquired pneumonia* et *ventilator-associated pneumonia*) dans des échantillons respiratoires (lavage broncho-alvéolaire et aspiration bronchique) et en un temps d'analyse inférieur à quatre heures. Ce test est basé sur la technologie des PCR multiplexe et des biopuces à ADN et permet l'identification, au sein d'un même test, de cibles bactériennes et de cibles virales. Dans un contexte d'apparition d'organismes multirésistants et de propagation des antibiotésistances, le test développé permet l'identification de gènes de résistance potentiellement présents chez les bactéries ciblées, comme les gènes de résistance aux carbapénèmes (β -lactamines).

Résultats majeurs

ReSynPlex a débuté par l'identification des pathogènes et gènes de résistance d'intérêt à inclure dans le test, puis les gènes à cibler pour l'identification de chacune de ces cibles. Deux PCR multiplexes (panel) ont ainsi été définies. Le panel A permet l'identification de : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Herpes Simplex Virus (HSV)*, *Cytomegalovirus (CMV)*, *mecA*, *mecC*, *blaOXA-48*, *blaOXA-23*, *blaNDM*, *blaKPC*, *blaVIM* et *blaIMP*, tandis que le panel B permet l'identification des virus Influenza A et B et des RSV A et B.

Les performances du test (sensibilité et spécificité) ont été démontrées à l'aide de pathogènes *in vitro* puis sur des échantillons de patients. La sensibilité obtenue est variable selon les cibles, de 102 UFC/ml pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Streptococcus pneumoniae* à 107 UFC/ml pour les gènes de résistance *blaIMP* et *blaNDM*. Le test a permis également d'identifier des cas de double contamination entre virus et bactéries (par exemple HSV et *Pseudomonas aeruginosa*) ou deux bactéries (*Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*).

Un logiciel d'analyse d'image, AXOware, a été développé. Il permet, à partir des images des biopuces, d'analyser automatiquement les résultats et de déterminer les cibles qui sont caractérisées dans chacun des échantillons testés. En instaurant des seuils de détection, il permet de distinguer la flore commensale d'un pathogène à l'origine de l'infection.

Production scientifique et valorisation

Les résultats obtenus au cours de ce projet ont permis de poser les jalons d'un test multiplexé à spectre large, reposant sur une approche syndromique. L'ensemble de ces travaux a fait l'objet d'une publication, de plusieurs présentations au sein de conférences, et d'une thèse soutenue dans le cadre de l'École Doctorale Interdisciplinaire Science Santé en décembre 2015.

Les avancées réalisées au sein de ReSynPlex ont été valorisées au sein d'un projet d'envergure internationale « FAPIC : *Fast Assay for Pathogen Identification and Characterisation* », parmi un consortium européen regroupant des centres hospitaliers, ainsi que des industriels. Ce projet a débuté en mai 2015, pour une durée de cinq ans, et a bénéficié d'un financement H2020 de 6 millions d'euros.

Actuellement, les technologies IVD reposant sur les bases établies dans ReSynPlex sont mises à profit pour la détection et la surveillance des virus respiratoires émergents et de leurs variants. Des kits de diagnostic *in vitro* sont actuellement dans le processus de transfert vers l'industrialisation.

Villiers L. et al., (2018) ReSynPlex: Respiratory Syndrome Linked Pathogens Multiplex Detection and Characterization, *IRBM*. 39(5): 368-375.

Le projet ReSynPlex est un projet de recherche collaborative.
Le projet a commencé en juillet 2013 et a duré 36 mois.
Il a bénéficié d'une aide ANR de 622 514 euros.

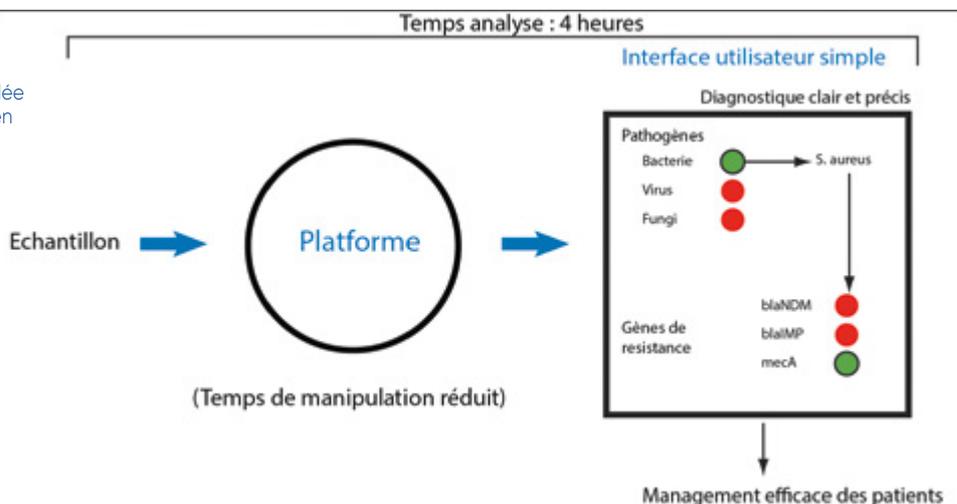
PARTENAIRES

Patrice Morand, UVHCI (UMI 3265)
Patrice Marche, IAB (U823)
Christophe Marquette, ICBMS (UMR5246)
Max Maurin, LAPM (UMR5163)

COORDINATEUR

Othello Chartier
ochartier@axoscience.com
AXO Science SA

Principe du test développé au sein du projet ReSynPlex. Un unique test IVD pour une caractérisation rapide et détaillée des pathogènes et résistance en présence.
© AXO science



SpARK

The rates and routes of transmission of multidrug resistant *Klebsiella* clones and genes into the clinic from environmental sources

Rappel des objectifs

Des stratégies de gestion efficaces des antibiotiques doivent intégrer leur usage dans l'agriculture et considérer leur libération et celle des bactéries résistantes dans l'environnement. Le projet SpARK s'inscrit dans ce cadre « One Health, Une seule santé » en étudiant à quelle fréquence les bactéries résistantes aux antibiotiques se déplacent entre les humains, les animaux et différents milieux de l'environnement tels que l'eau et le sol des rivières. Le projet se concentre sur un groupe d'espèces bactériennes appelées *Klebsiella* qui ont un mode de vie généraliste, étant présentes dans l'environnement et chez les animaux, mais qui provoquent également des infections chez les humains et le bétail. Une espèce en particulier, *Klebsiella pneumoniae*, est une cause très fréquente d'infections résistantes aux antibiotiques dans les hôpitaux et est reconnue par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme pathogène de priorité élevée. Le nord de l'Italie est un « point chaud » pour ces infections résistantes. Savoir si ces bactéries sont confinées dans les hôpitaux ou sont également présentes ailleurs est important en termes de mise en place de mesures de contrôle de leur dissémination.

Résultats majeurs

Dans ce projet, nous avons prélevé 6 000 échantillons et isolé 3500 souches de *Klebsiella* provenant de patients hospitalisés, d'animaux sauvages et domestiqués et de multiples sources environnementales. Il est important de noter que toutes les souches ont été prélevées dans une seule ville, Pavie, en Lombardie, une position idéale pour découvrir des événements de transmission récente. En séquençant les génomes de ces bactéries, et en combinant ces données à une modélisation mathématique, nous avons pu dire quels gènes de résistance étaient présents, et comment les souches se déplaçaient. Nous avons constaté que la résistance est rare en dehors des hôpitaux, et que la grande majorité (environ 75 %) de *Klebsiella* chez l'humain provient d'autres individus plutôt que d'autres sources. Cependant, nous avons trouvé un certain risque de transmission par les animaux de compagnie (chiens et chats) et l'eau. Ce projet a aussi permis de découvrir une diversité importante du groupe *Klebsiella*, et a apporté de nouvelles informations fondamentales sur sa systématique (description de nouvelles espèces) et sa diversité écologique.

Production scientifique et valorisation

Le projet a débouché sur plusieurs publications et un preprint qui reprend les résultats principaux :

Argimón S. et al., (2021) Rapid Genomic Characterization and Global Surveillance of *Klebsiella* Using Pathogenwatch, *Clin. Infect. Dis.* 73(Suppl_4):S325-S335.

Batisti Biffignandi G. et al., (2019) Genome of *Superficieibacter maynardsmithii*, a novel, antibiotic susceptible representative of *Enterobacteriaceae*, G3 (Bethesda). 11(2):jkab019.

Merla C. et al., (2019) Description of *Klebsiella spallanzanii* sp. nov. and of *Klebsiella pasteurii* sp. nov., *Front Microbiol.* 10:2360.

Comandatore F. et al., (2019) Gene Composition as a Potential Barrier to Large Recombinations in the Bacterial Pathogen *Klebsiella pneumoniae*, *Genome Biol. Evol.* 11(11):3240-3251.

Thorpe H. et al., (2021) One Health or Three? Transmission modelling of *Klebsiella* isolates reveals ecological barriers to transmission between humans, animals and the environment. *bioRxiv. (Preprint)*

Un projet de suivi, KlebNET, est né de SpARK et d'autres réseaux travaillant sur la perspective « One Health » de *Klebsiella*. Ce réseau a également reçu un financement de la JPIAMR (coordonné par Sylvain Brisse). Les dynamiques collaboratives lancées par KlebNET sont désormais concrétisées par un projet de plateforme de surveillance génomique (<https://klebnet.org>) financé par la fondation BMGF. Ce réseau de réseaux contribuera à construire une communauté internationale autour de *Klebsiella*, et à renforcer sa surveillance et l'étude de son épidémiologie dans les contextes One Health et Global Health.

Le projet SpARK est un projet de recherche collaborative international.
Le projet a commencé en avril 2017 et a duré 36 mois.
Il a bénéficié d'une aide de l'ANR de 249 588 euros.

PARTENAIRES

Sylvain Brisse, Institut Pasteur
Piero Marone, Davide Sassera, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Italie
Louise Matthews, University of Glasgow, Royaume-Uni
Jukka Corander, University of Oslo, Norvège
David Aanensen, Big Data Institute, Oxford, Royaume-Uni
Alan McNally, University of Birmingham, Royaume-Uni

COORDINATEUR

Edward Feil
bssef@bath.ac.uk
University of Bath, Royaume-Uni

Logo « One Health, Une seule santé »
© Adobe Stock



VetCAST

Veterinary Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, a subcommittee of EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)

State of the art and scientific aims

In 2015, VetCAST (Veterinary Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) was established as a subcommittee of EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). VetCAST aims to advise on all aspects of Antimicrobial Susceptibility Testing (AST) for bacterial pathogens of animal origin. AST is also a major source of epidemiological information for surveillance of antimicrobial susceptibility of bacteria over time.

Interpretation of AST requires Clinical Breakpoints (CBP). CBP are Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values used by diagnostic laboratories to categorize results of AST as susceptible, intermediate or resistant. In veterinary diagnostics, CBP should be defined for each target pathogenic bacteria in each animal species. Until recently, there was no European organization establishing scientifically based interpretation criteria for veterinary AST. The absence of specific and harmonized CBP for animals at European Union (EU) level was an Achilles'heel which hinders not only the rational choice of drugs from "One Health" perspectives, but also the passive surveillance of antimicrobial resistance arising from the lack of comparability of data currently generated by different EU member states. Objectives, procedures and scientific challenges of VetCAST for the determination of specific CBP for animal species were outlined in a position paper (1).

Main results

The first task of VetCAST was to select the best PK/PD index predictive of clinical efficacy and its cut-off or breakpoint value. VetCAST considered that the historical approaches using in vivo dose fractionation in rodents was not ethically acceptable. Accordingly, VetCAST thought about the need to respect the rules of the 3 Rs for animal welfare (Replacement, Reduction and Refinement). VetCAST explored and implemented an innovative in silico approach consisting in modelling, with a semi-mechanistic PK/PD model, available time-kill curves assays to determine the nature of the best PK/PD index and its target value for predicting clinical efficacy. This approach has been previously shown to be retrospectively predictive in human medicine but was not yet used prospectively as we have done for florfenicol, a major antibiotics for cattle (2).

The second step in the development of PK/PD breakpoints was the determination of the percentage of animals, able to achieve the target value of the selected PK/PD index. This required retrospective meta-analysis of available information. At VetCAST, it was considered that the classical study-level meta-analysis where results are weighted by quality criteria was neither robust, nor accurate or fair. Rather, it was decided to perform a data-level meta-analysis by obtaining raw data from numerous pharmacokinetic studies and estimating a single population model from the combined data. This totally new approach in the context of veterinary medicine allowed to generate so-called "second-generation"

pharmacokinetic models. It was used for various antibiotics in dogs (3),(4), cattle (5) and horses (6) and recent advances of VetCAST methodologies were summarized in (7).

Scientific outcomes

Toutain P. L. et al., (2017) En Route towards European Clinical Breakpoints for Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing: A Position Paper Explaining the VetCAST Approach, *Front Microbiol.* 8:2344.

Pelligand L. et al., (2019) Semi-Mechanistic Modeling of Florfenicol Time-Kill Curves and in silico Dose Fractionation for Calf Respiratory Pathogens, *Front Microbiol.* 10:1237.

Cagnardi P. et al., (2018) Population Pharmacokinetic Study of Cefazolin Used Prophylactically in Canine Surgery for Susceptibility Testing Breakpoint Determination, *Front Pharmacol.* 9:1137.

Vegas C. et al., (2021) Population Pharmacokinetics of Intravenous Amoxicillin Combined With Clavulanic Acid in Healthy and Critically Ill Dogs, *Front Vet. Sci.* 8:770202.

Toutain P. L. et al., (2019) VetCAST Method for Determination of the Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Cut-Off Values of a Long-Acting Formulation of Florfenicol to Support Clinical Breakpoints for Florfenicol Antimicrobial Susceptibility Testing in Cattle, *Front Microbiol.* 10:1310.

Bousquet-Mélou A. et al., (2021) Determination of the pharmacokinetic-pharmacodynamic cut-off values of marbofloxacin in horses to support the establishment of a clinical breakpoint for antimicrobial susceptibility testing, *Equine Vet. J.* 53(5):1047-55.

Toutain P. L. et al., (2021) The pharmacokinetic/pharmacodynamic paradigm for antimicrobial drugs in veterinary medicine: Recent advances and critical appraisal, *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 44(2):172-200.

Le projet VetCAST est un projet de recherche collaborative international. Le projet a commencé en janvier 2017 et a duré 12 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 50 000 euros.

PARTENAIRES

Peter Damborg, University of Copenhagen, Denmark
Kees Veldman, Central Veterinary Institute part of Wageningen, Pays-Bas
Dik Mevius, Central Veterinary Institute part of Wageningen, Pays-Bas
Ludovic Pelligand, Royal Veterinary College, Royaume-Uni
Chantal Britt, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Suisse

COORDINATEUR

Alain Bousquet-Melou
alain.bousquet-melou@envt.fr
Innovations Thérapeutiques et Résistances

Started in 2019, the European Network for Optimization of Veterinary Antimicrobial Treatment (ENOVAT) is a EU-COST Action proposal with a budget of 520,000 euros (Network building activity, including 29 countries; Co-investigator and UK Management Committee Substitute [P: Peter Damborg]). VetCAST is WG 3 of ENOVAT and now fully integrated in a sustainable workflow.
© Innovations Thérapeutiques et Résistances



Mécanismes de résistance et de transmission

ASSEMBLY	52
BACTOPRENYL	53
BioSupramol	54
DIMYVIR	55
DynamINT	56
inVIVE	57
MimictRNA et SyntRNA	58
MOBISING	59
PiBaKi	60
RIBOSTAPH	61
SpABC-TCS	62
sRNA-FIT	63

ASSEMBLY

Nouvelle approche dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques : reconstruction d'une pompe d'efflux à trois composants

Rappel des objectifs

L'antibiorésistance est un phénomène préoccupant, certaines souches bactériennes devenant résistantes à la plupart des familles d'antibiotiques existant à l'heure actuelle. Cette capacité de résistance est due à un ensemble de mécanismes développés par les bactéries, dont l'efflux actif via des transporteurs, qui leur permettent d'expulser les antibiotiques en dehors de la cellule avant même qu'ils n'atteignent leur cible biologique. Les pompes à efflux auxquelles nous nous sommes intéressés sont spécifiques des bactéries à Gram négatif. Elles sont constituées de trois protéines formant un assemblage capable de traverser l'ensemble de leur paroi cellulaire. Dans ce projet nous voulions comprendre le mécanisme d'assemblage et d'ouverture de ces pompes, afin de pouvoir développer des molécules capables d'empêcher cet assemblage et/ou ces mouvements, nécessaires à l'efflux. Cette approche permettrait de contraindre l'efflux actif bactérien sans cibler directement une fonction vitale des bactéries, afin de ralentir leur capacité à trouver une riposte. Ceci nécessite en prérequis de caractériser cet assemblage, sa dynamique, l'ordre dans lequel les protéines interagissent, et de décrire les interfaces d'interaction. Nous nous sommes intéressés à la pompe constitutive MexAB-OprM impliquée dans la résistance aux antibiotiques chez la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*, pathogène opportuniste particulièrement préoccupant en milieu hospitalier.

Résultats majeurs

Nous avons résolu trois nouvelles structures 3D par cristallographie de la protéine OprM, (1 sauvage et 2 mutées sur son extrémité périplasmique pour forcer son ouverture). En combinaison avec des mesures de résistance en bactérie (CMI), cela nous a permis d'évaluer les forces nécessaires à l'ouverture de la protéine de la membrane externe, et de montrer que la présence des partenaires protéiques est indispensable à l'ouverture complète de la pompe, OprM devant rester fermée lorsqu'elle est isolée afin de ne pas être utilisée comme porte d'entrée à des molécules toxiques et ainsi protéger la bactérie.

Nous avons pu insérer nos protéines dans différentes membranes artificielles, permettant de construire des outils utilisables par la communauté travaillant sur les protéines membranaires pour réaliser des mesures d'interaction, ou de transport :

- par électrophorèse sur BN-PAGE, nous avons pu montrer que MexA devait être modifiée sur sa cystéine N-terminale (palmitoylée) pour interagir avec OprM ;
- par une approche associant la technique de récupération de fluorescence après photo-blanchiment (FRAPP) et l'utilisation d'une « phase éponge » comme membrane artificielle, nous avons pu mettre en évidence la distance optimale entre les deux bi-

couches (200Å), et avons montré que cette interaction était pH dépendante ;

- nous avons réussi à reconstituer une pompe fonctionnelle *in vitro* en protéoliposomes et à mesurer le passage d'un substrat de façon concomitante au passage de proton(s), ce qui représente un outil original pour analyser l'effet inhibiteur de nouvelles molécules chimiques (Verchère, *Nat. Commun.*, 2015) ;
- nous avons reconstitué la pompe entière MexAB-OprM en insérant les protéines natives en nanodisques, et obtenu la structure 2D de l'ensemble en coloration négative par microscopie électronique, répondant à la question de la stoechiométrie et des zones d'interaction pour un des états fonctionnels de la pompe (Daury, *Nat. Commun.*, 2016). Nous avons ainsi montré que l'assemblage n'impliquait pas de contact direct entre les protéines OprM et MexB, contrairement aux modèles proposés à cette époque.

Production scientifique et valorisation

Les résultats des recherches effectuées dans le cadre de ce projet ont été présentés lors de quarante-cinq conférences et séminaires nationaux et internationaux. Elles ont mené à neuf publications dont deux dans *Nature Communications*, à deux chapitres d'ouvrages, à deux articles de vulgarisation et au dépôt de trois structures à la *Protein Data Bank* (PDB). Quatre événements scientifiques ont également été organisés en lien avec ce projet. Trois étudiants ont réalisé leur travail de thèse sur ce sujet dans la durée du financement.

Nous avons depuis obtenu un deuxième financement auprès de l'ANR, basé sur la collaboration entre deux équipes de ce projet (Broutin, Lambert) et une troisième équipe créée par un membre de l'équipe Broutin (Picard) spécialisée dans le développement d'outils en protéoliposomes, ce qui nous a permis, depuis, de résoudre la structure 3D de la pompe entière par cryo-microscopie électronique (Glavier, *Nat. Commun.*, 2020).

Le projet ASSEMBLY est un projet de recherche collaborative.
Le projet a commencé en décembre 2012 et a duré 59 mois.
Il a bénéficié d'une aide ANR de 500 000 euros.

PARTENAIRES

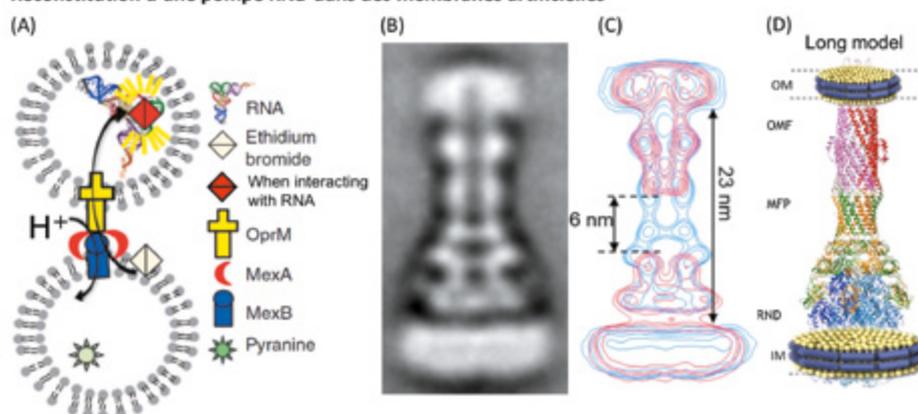
Olivier Lambert, Institut de Chimie & Biologie des Membranes & des Nano-objets
Catherine Etchebest, Dynamique des Structures et des Interactions des Macromolécules Biologiques
Wladimir Urbach, Laboratoire de Physique Statistique de l'École Normale Supérieure

COORDINATRICE

Isabelle Broutin
isabelle.broutin@parisdescartes.fr
Cibles Thérapeutiques et Conception de Médicaments

Reconstitution d'une pompe RND fonctionnelle en liposomes (A) ; images TEM en coloration négative et isocontours des protéines insérées en nanodisques (B,C,D) ; modèle construit sur la base de ces isocontours (Daury, *Nat. Commun.*, 2016) © À gauche, images dérivées de Daury, *Nat. Commun.*, 2016 et Verchère et al., *Nat. Commun.*, 2014 ; à droite, figure réalisée par Isabelle Broutin.

Reconstitution d'une pompe RND dans des membranes artificielles



BACTOPRENYL

Élucidation du métabolisme de l'undécaprényl phosphate, un lipide essentiel pour la biosynthèse des polymères de la paroi bactérienne

Rappel des objectifs

La paroi des bactéries est constituée de polymères, notamment le peptidoglycane qui forme un exosquelette indispensable à la survie des bactéries. C'est un véritable talon d'Achille, puisqu'il est la proie d'un grand nombre d'agents antibactériens qui entravent son intégrité structurale ou son métabolisme. Les différentes étapes de sa biosynthèse sont donc des cibles privilégiées pour concevoir de nouvelles stratégies thérapeutiques. Or cette biosynthèse, comme celle de tous les polymères de surface, repose sur un lipide, l'undécaprényl-phosphate (C_{55} -P), qui permet d'exporter les sous-unités de paroi du côté externe de la membrane. À chaque transfert d'une sous-unité, le lipide est libéré sous forme d'undécaprényl-pyrophosphate (C_{55} -PP) qui doit être recyclé. Le projet BACTOPRENYL visait à mieux comprendre le mécanisme de recyclage en identifiant les enzymes, de type phosphatase ou flippase, impliquées dans ce processus, d'étudier les effets d'une altération de ces enzymes par délétion de gènes et d'étudier leurs relations structure-fonction.

Résultats majeurs

Nous avons identifié les protéines impliquées dans le recyclage du C_{55} -P chez *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Helicobacter pylori*. Nous avons montré l'existence d'une pluralité d'enzymes catalysant la déphosphorylation du C_{55} -PP chez une même bactérie, et donc la nécessité d'inactiver plusieurs gènes pour obtenir un phénotype létal. Nous avons mis en évidence deux types de phosphatases transmembranaires : PAP2 et BacA. Nous avons caractérisé leurs rôles montrant que certaines présentaient une double fonction en assurant la biosynthèse de glycérophospholipides en plus du recyclage du C_{55} -P. D'autres enzymes, de type PAP2, sont également impliquées dans la biosynthèse des lipopolysaccharides en garantissant soit un transfert de phosphate du C_{55} -PP au lipide A chez *E. coli* ou la déphosphorylation du lipide A chez *H. pylori*. Bien qu'isolément, ces protéines ne sont pas essentielles, l'inactivation de certaines d'entre elles chez *H. pylori* entraîne l'incapacité de ce pathogène à coloniser l'estomac de son hôte. Chez *E. coli*, l'absence de phosphorylation du lipide A est néfaste pour la croissance en présence d'acides biliaires et, par conséquent, pour la colonisation de l'intestin de l'hôte. Ces données démontrent l'importance de ces protéines dans le modelage de l'enveloppe bactérienne et

leur intérêt en tant que cible antibactérienne. Nous avons montré des mécanismes catalytiques bien distincts pour les deux types de phosphatase. Enfin, grâce à une collaboration avec Martin Caffrey et son équipe, grand spécialiste de cristallogénèse des protéines membranaires en phases lipidiques cubiques, nous avons résolu les structures d'une phosphatase de chaque catégorie permettant de préciser leurs mécanismes. En outre, la structure de BacA suggère fortement qu'elle permette le retour du C_{55} -P du côté cytoplasmique de la membrane en plus de la déphosphorylation du C_{55} -PP, mettant en lumière l'ultime étape du recyclage qu'il convient à présent de mieux caractériser, notamment par le biais d'un nouveau projet ANR nommé BacWall.

Production scientifique et valorisation

Jukič M. et al., (2022) *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 20, 2360-2371.
 Tian X. et al., (2021) *Front. Microbiol.* May 4;12:676596.
 Tian X. et al., (2020) *Sci. Rep.* 10, 13209.
 Gasiorowski E. et al., (2019) *PLOS Pathog.* Sep 5;15(9):e1007972.
 El Ghachi M. et al., (2018) *Nat. Commun.* Mar 14;9(1):1078.
 El Ghachi M. et al., (2017) *Cell. Mol. Life Sci.* 74(12):2319-2332.
 Barreteau H. et al., (2016) In Geiger, O. (ed.), *Biogenesis of Fatty Acids, Lipids and Membranes. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology.* Springer International Publishing.
 Manat G. et al., (2015) *PLOS One.* 10(11):e0142870.
 Manat G. et al., (2014) *Microb. Drug Resist.* 20(3):199-214.

Le projet BACTOPRENYL est un projet de recherche collaborative. Le projet a commencé en janvier 2012 et a duré 42 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 400 000 euros.

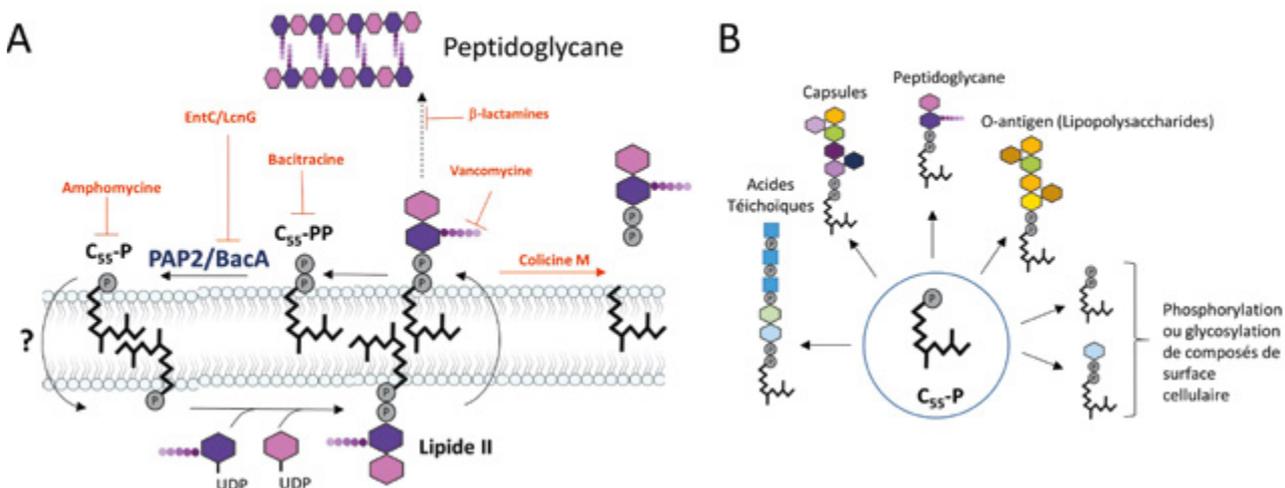
PARTENAIRES

Dominique Mengin-Lecreux, Université Paris-Saclay (coordinateur)
 Maryline Foglino, Centre National de la Recherche Scientifique
 Ivo Gomperts Boneca, Institut Pasteur

CONTACT

Thierry Touzé
 thierry.touze@universite-paris-saclay.fr
 Enveloppes Bactériennes et Antibiotiques

Biosynthèse du peptidoglycane et cycle du C_{55} -P (A). En rouge sont indiqués des antibiotiques et bactériocines ciblant ce métabolisme. Composants des enveloppes dont la synthèse repose sur le C_{55} -P et leurs précurseurs membranaires correspondants (B).
 © Thierry Touzé



BioSupramol

L'assemblage supramoléculaire de peptides détermine leur fonction biologique

Rappel des objectifs

Parmi les approches pour combattre la multirésistance des bactéries, il y a l'utilisation de peptides antimicrobiens (AMP). De nombreux AMPs ont été rapportés et caractérisés dans la littérature. Parmi eux, des peptides de séquences artificielles tels que LAH4 qui ont des propriétés antibactériennes intéressantes. De manière remarquable, selon la séquence d'assemblage des acides aminés qui composent LAH4, les peptides peuvent être soit antibactériens, soit capables de délivrer des gènes dans des cellules ou encore d'améliorer l'efficacité de virus utilisés en thérapie génique, et notamment des vecteurs lentiviraux (voir figure). La question qui était au centre du projet BioSupramol était : est-il possible que la nature de l'activité biologique de ces peptides – qui sont très proches – repose davantage sur la manière dont ils s'auto-assemblent que sur leur séquence primaire ? En effet, des résultats préliminaires semblaient indiquer que les peptides antibactériens étaient sous forme monomérique en solution tandis que les peptides efficaces pour délivrer de l'ADN formaient des assemblages sphériques de plusieurs centaines de nanomètres et les peptides améliorant l'efficacité de virus formaient des fibres. Un autre objectif du projet était de déterminer par des méthodes biophysiques quels types d'interactions contrôlent ces associations au niveau moléculaire. Ces études sont essentielles afin de pouvoir optimiser de manière rationnelle l'activité biologique des peptides, y compris celle des AMPs.

Résultats majeurs

Pour répondre à ces questions, des études biologiques (antibactériennes, transfection d'ADN, transduction de cellules par des virus) ont été combinées avec des méthodes biophysiques avancées. Pour cela, de nouveaux protocoles pour des investigations détaillées par résonance magnétique nucléaire (RMN) à l'état solide ont été développés. En effet, parce qu'il est important d'effectuer l'analyse structurale des complexes supramoléculaires dans des conditions proches de celles des essais biologiques, beaucoup d'efforts ont été investis pour ajuster nos outils biophysiques afin de donner de bons résultats. De nouvelles technologies spectroscopiques de RMN à l'état solide telles que la RMN à l'état solide ultrarapide à rotation à angle magique ont été mises en œuvre avec succès pour les fibres peptidiques et les échantillons de membrane peptidique. Des peptides antimicrobiens portant différents types de marqueurs et capables de pénétrer dans les cellules ont été préparés. Ceci nous a permis d'étudier leurs interactions avec les lipides et avec d'autres peptides dans leur environnement actif. Nos résultats ont montré que plusieurs facteurs intervenaient dans les interactions des peptides avec des membranes : outre la nature du peptide,

la composition du groupe de tête lipidique et de la chaîne grasse s'est avérée importante pour l'efficacité de telles interactions. De plus, nous avons observé que la formation de fibres dépendait de la présence d'anions bien spécifiques dans la solution. Ces éléments de compréhension nous permettront à l'avenir de concevoir des peptides ayant une activité biologique améliorée.

Production scientifique et valorisation

L'ensemble de ce travail a à la fois fait l'objet de présentations orales y compris à l'*EBSA Conference* (2021), à l'*Indian NMR Meeting* (2020), à la *Canadian Chemistry Conference* (2019), au *Int. Peptide Symposium Kyoto* (2018), que de posters affichés dans plusieurs colloques internationaux. Ce projet a permis la publication de vingt-deux articles dont trois multipartenaires de l'ANR et quinze multi-équipes, ainsi que plusieurs thèses. Un colloque a été organisé les 12 et 13 mai 2022 sur le développement préclinique de peptides antimicrobiens.

Lointier M. et al., (2021) Different biological activities of histidine-rich peptides are favored by variations in their design, *Toxins*. 13:363.

Lointier M. et al., (2020) Membrane pore-formation correlates with the hydrophilic angle of histidine-rich amphipathic peptides with multiple biological activities, *BBA*, 1862:183212.

Aisenbrey C. et al., (2020) Characterization of the DNA and membrane interactions of a bio-reducible cell penetrating foldamer in its monomeric and dimeric form, *J. Phys. Chem. B* 124:4476.

Lakshmaiah N. J. et al., (2020) Two distinct amphipathic peptide antibiotics with systemic efficacy, *PNAS*. 117:19446.

Juhl D. et al., (2020) The reversible non-covalent aggregation into fibers of PGLa and magainin 2 preserves their antimicrobial activity and synergism, *Front Cell. Infect. Microbiol.* 10, 526459.

Le projet Biosupramol est un projet de recherche collaborative.

Le projet a commencé en juillet 2018 et a duré 54 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 500 083 euros.

PARTENAIRES

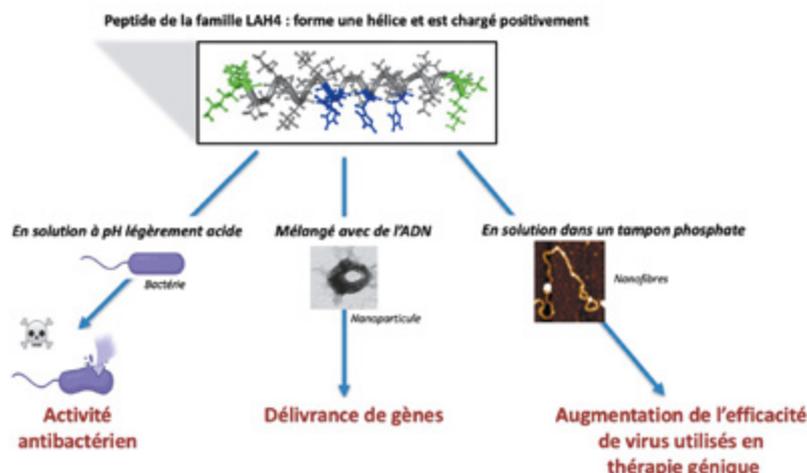
Antoine Kichler, Laboratoire de Conception et Application de Molécules Bioactives
Anne Galy, Intégrare, Généthron

COORDINATEUR

Burkhard Bechinger
bechinger@unistra.fr

Biophysique des membranes et RMN, Institut de Chimie de Strasbourg

En utilisant des séquences d'acides aminés antimicrobiens naturels comme matrice, des peptides LAH4, riches en histidine, ont été conçus. Ils présentent d'intéressantes activités antimicrobiennes, de pénétration cellulaire et de « facilitateur » de transduction lentivirale. Selon leur séquence, les peptides se présentent en solution, forment des nanoparticules ou des fibres et selon leur état d'agrégation l'activité biologique est différente. © Antoine Kichler, Burkhard Bechinger



DIMYVIR

Identification et Visualisation des Mécanismes Permettant l'Acquisition d'un Phénotype Invasif chez les Mycobactéries Pathogènes à Croissance Rapide

Rappel des objectifs

Mycobacterium abscessus est l'espèce mycobactérienne à croissance rapide la plus fréquemment associée aux infections pulmonaires, caractérisée par des formes graves, très inflammatoires, à l'issue d'un processus infectieux lent et chronique. Les patients atteints de mucoviscidose sont particulièrement vulnérables à cette bactérie. *Mycobacterium abscessus* peut exister sous une forme lisse (S) ou rugueuse (R), selon la présence ou l'absence respective des glycopeptidolipides (GPL) à la paroi du bacille. Les GPL participent à la motilité et à la formation des biofilms, caractéristiques importantes de la colonisation bactérienne. De plus, il existe une corrélation entre le morphotype R capable de produire des structures morphologiques visibles en microscopie dites en corde et la virulence. La commutation naturelle d'un phénotype S vers un R assurerait la transition d'un statut colonisant vers une forme invasive et pathogène, dont les mécanismes moléculaires restent peu connus. DIMYVIR est centré sur le décryptage de ces mécanismes spécifiques du *cording* et l'analyse des avantages conférés par la transition S vers R dans un contexte infectieux. Grâce à l'élaboration de nouveaux outils génétiques et de modèles cellulaires et animaux, DIMYVIR avait pour but de décrire les interactions hôte/pathogène ainsi que la chronologie de l'infection dans des organismes vivants. Un autre objectif consistait au développement de nouvelles molécules capables d'interférer avec la commutation S/R, la formation des cordes et/ou le métabolisme lipidique de la bactérie. Ce dernier point est justifié dans le contexte de résistance extrême de *M. abscessus* aux antibiotiques pour proposer de nouvelles alternatives aux traitements classiques aboutissant souvent à des échecs thérapeutiques.

Résultats majeurs

Nos résultats ont permis de décrire et de caractériser plusieurs déterminants impliqués dans la formation des cordes (dont une déshydratase), dans la commutation S/R (MmpL4a, un transporteur des GPL), ainsi qu'un locus génétique codant le système de sécrétion de type VII (ESX4) jouant un rôle important dans la virulence. Le rôle de ces différents gènes dans la virulence a été démontré et validé dans des modèles cellulaires (amibes, macrophages) et embryonnaires de zebrafish. Ce dernier a également permis de rendre compte de l'importance de la réponse inflammatoire dans le contrôle des infections à *M. abscessus* et du rôle crucial du macrophage dans l'activité bactéricide et la mobilisation des neutrophiles et la formation des granulomes. Par ailleurs, le développement de zebrafish déficients en CFTR a permis de rendre compte, pour la première fois dans un modèle animal, du lien entre un dysfonctionnement de CFTR est une susceptibilité accrue à l'infection par *M. abscessus*. La détermination de la structure cristallographique de la

déshydratase et la mise en place d'un test enzymatique seront mis à profit pour le développement d'un nouveau concept thérapeutique. Ces résultats très prometteurs ouvrent sur le développement potentiel de nouvelles molécules innovantes capables d'interférer avec la commutation S/R et le *cording*, pour pallier l'extrême résistance de *M. abscessus* à la plupart des antibiotiques. De plus nous avons identifié un composé phare très actif contre *M. abscessus*. Ce dernier agit en inhibant la protéine MmpL3, un transporteur de lipides essentiels (les acides mycoliques) à la surface du bacille et qui s'avère être le talon d'Achille de *M. abscessus*. Les résultats obtenus et les outils générés par DIMYVIR nous ont déjà permis d'initier de nouveaux programmes collaboratifs avec des partenaires extérieurs à ce consortium en France et à l'étranger.

Production scientifique et valorisation

Bernut A. et al., (2014) *Antimicrobial Agents Chemother.* 58: 4054-4063.
 Bernut A. et al., (2016) *Mol. Microbiol.* 99: 866-883.
 Dupont C. et al., (2016) *Mol. Microbiol.* 101: 515-529.
 Le Moigne V. et al., (2016) *Infect. Immun.* 84: 2895-2903.
 Halloum I. et al., (2016) *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 113: E4228-4237.
 Bernut A. et al., (2016) *PLoS Pathog.* 12: e1005986.
 Roux A.-L. et al., (2016) *Open Biol.* 6: 160185.
 Viljoen A. et al., (2016) *Mol. Microbiol.* 102: 611-627.
 Laencina L. et al., (2017) *Proc. Natl. Acad. Sci USA.*
 Viljoen A. et al., (2017) *Mol. Microbiol.* 104: 889-904.
 Lefebvre A.-L. et al., (2017) *Antimicrobial. Agents Chemother.* 61: e02440-16.
 Bernut A. et al., (2019) *Cell. Rep.* 26: 1828-1840.

Le projet DIMYVIR est un projet de recherche collaborative.
 Le projet a commencé en novembre 2013 et a duré 48 mois.
 Il a bénéficié d'une aide ANR de 340 000 euros.

PARTENAIRE

Jean-Louis Hermann, Laboratoire infection et inflammation

COORDINATEUR

Laurent KREMER

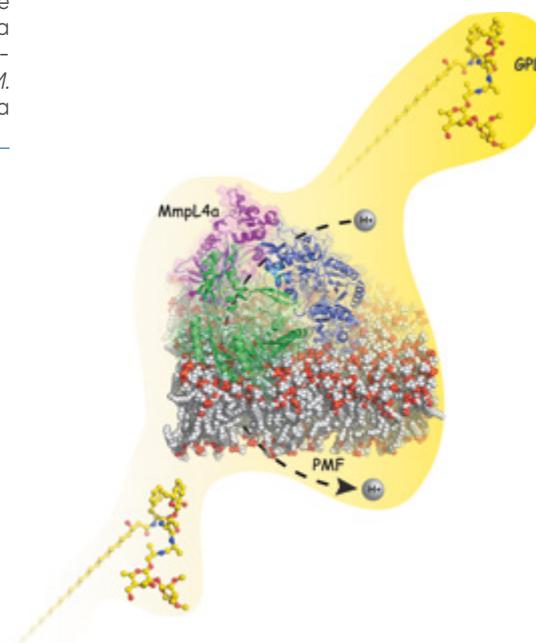
laurent.kremer@irim.cnrs.fr

Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier

Les glycopeptidolipides (GPL) de la souche lisse (S) de *M. abscessus* sont transportés grâce à MmpL4a. L'inactivation de *mmpL4a* empêche le transport des GPL, provoque la transition vers un morphotype rugueux (R) et un phénotype virulent et invasif.

Illustration ayant fait la couverture de *Mol. Microbiol.* (2016), 99 (5).

© Mickael Blaise



DynamINT

Recombinaison des cassettes d'intégron : dynamique *in vivo* et *in vitro*

Rappel des objectifs

La multirésistance des bactéries aux antibiotiques est un problème majeur de santé publique causant de très nombreux décès. Les intégrons sont des éléments génétiques permettant aux bactéries de s'adapter rapidement aux changements de leur environnement. Ils jouent un rôle majeur dans la multirésistance des bactéries grâce à leur capacité à capturer des cassettes de gène de résistance via des réactions de recombinaisons catalysées par l'intégrase de l'intégron, IntI. La mécanistique de recombinaison de l'intégron est très spécialisée et spécifique, et implique à la fois recombinaison et réplication. En conditions de laboratoire, l'expression de l'intégrase est régulée par la réponse SOS bactérienne (réponse aux stress provoquant des cassures de l'ADN) qui peut être induite par certains antibiotiques.

L'étude DynamINT visait à mieux comprendre les régulations et mécanismes d'acquisition de résistance aux antibiotiques par les intégrons, afin d'identifier de nouvelles approches de lutte contre les bactéries multirésistantes. Pour cela, nous avons : 1) développé des modèles expérimentaux plus proches des conditions de vie naturelle des bactéries (biofilm et modèle souris) pour mieux comprendre l'impact de la réponse SOS et des antibiotiques sur ce système ; 2) étudié plus finement les différentes étapes de la recombinaison afin de pouvoir envisager de les bloquer, et donc empêcher l'acquisition de résistance.

Résultats majeurs

Biofilm et tractus intestinal sont des environnements favorisant l'émergence de bactéries multirésistantes via les intégrons. Nos résultats ont révélé que le biofilm et l'intestin de la souris sont des environnements naturels induisant la réponse SOS et donc l'activité intégrase et ce même en l'absence de stress. Nous avons montré que de très faibles concentrations d'antibiotique ciprofloxacine sont suffisantes pour induire rapidement une augmentation de l'activité de l'intégrase dans l'intestin de la souris. Ces observations soulèvent à nouveau des questions quant aux effets des antibiotiques sur l'adaptation des bactéries et sur la dissémination des résistances *in vivo*. Nous avons aussi découvert l'existence d'une régulation spécifique au biofilm de l'expression de l'intégrase, soulignant l'importance de développer de nouveaux modèles d'étude, et indiquant que les mécanismes de régulation de l'intégrase des intégrons sont plus complexes qu'anticipé, faisant intervenir la réponse stringente de la bactérie.

Caractérisation fine des réactions de recombinaisons

Nous avons pu montrer que l'intégrase d'intégron, bien qu'ayant évolué avec une spécificité propre par rapport aux intégrases ancestrales de la même famille, a conservé la capacité de réaliser l'échange du second brin d'ADN dans des réactions de recombinaison symétrique entre ADN double brin. Les recherches menées au cours du projet ont aussi mis en évidence que l'excision des cassettes est fortement régulée par la réplication et par les propriétés intrinsèques des sites de recombinaison des cassettes. De plus, des protéines impliquées dans la réplication interagissent avec IntI, et pourraient jouer un rôle dans l'étape de résolution. La meilleure compréhension des étapes de recombinaison a ainsi permis de développer un système de recombinaison utilisant des sites synthétiques de recombinaison des cassettes comme outils de bio-ingénierie.

Connexions entre intégrons et physiologie cellulaire.

Représentation schématique des liens entre activité d'intégrons et physiologie bactérienne.

Source : Figure réalisée par Sandra Da Re, adaptée de Escudero J. A. et al., (2015) The Integron: Adaptation On Demand, *Microbiol. Spectr.* 3:MDNA3-0019-2014.

Production scientifique et valorisation

Loot C. et al., (2014) The Integron Integrase Efficiently Prevents the Melting Effect of *Escherichia coli* Single-Stranded DNA-Binding Protein on Folded *attC* Sites, *J. Bacteriol.* 196(4):762-71.

Strugeon E. et al., (2016) The stringent response promotes antibiotic resistance dissemination by regulating integron integrase expression in biofilms, *MBio.* 7(4). pii: e00868-16.

Nivina A. et al., (2016) Efficiency of integron cassette insertion in correct orientation is ensured by the interplay of the three unpaired features of *attC* recombination sites, *NAR.* 44(16): 7792-7803.

Escudero J. A. et al., (2016). Unmasking the ancestral activity of integron integrases reveals a smooth evolutionary transition during functional innovation, *Nature. Commun.* 7:10937.

Loot C. et al., (2017) Differences in integron cassette excision dynamics shape a trade-off between evolvability and genetic capacitance, *MBio.* 8(2) pii: e02296-16.

Nivina A. et al., (2020) Structure-specific DNA recombination sites: design, validation and machine learning based refinement, *Science advances.* 6(30):eaay2922.

Baltazar M. et al., (2022) Activation of class 1 integron integrase is promoted in the intestinal environment, *PLOS Genet.* 18(4): e1010177.

Le projet DynamINT est un projet de recherche collaborative.

Le projet a commencé en janvier 2013 et a duré 48 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 389 907 euros

PARTENAIRES

Didier Mazel, Institut Pasteur

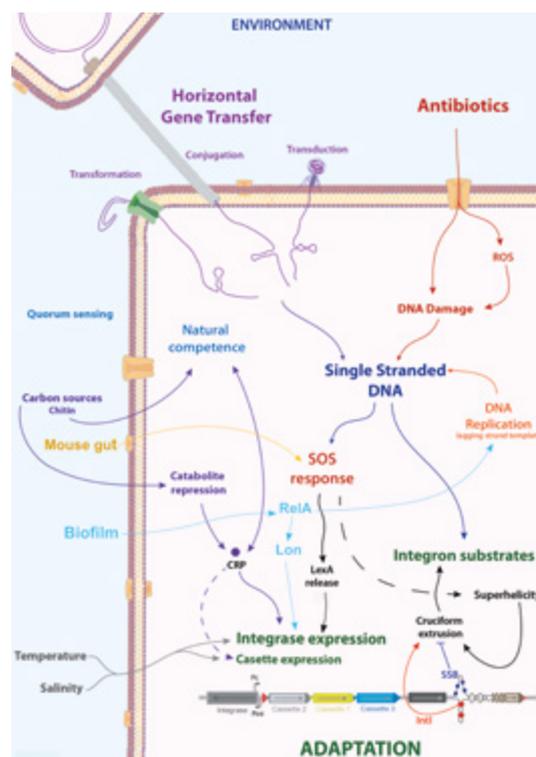
Florence Doucet-Populaire, Institut de Biologie Intégrative de la Cellule

COORDINATRICE

Marie-Cécile Ploy

marie-cecile.ploy@unilim.fr

RESINFIT – Anti-Infectieux : supports moléculaires des résistances et innovations thérapeutiques



inVIVE

Bases moléculaires du transport actif d'antibiotiques par la pompe d'efflux MexA-MexB-OprM de *Pseudomonas aeruginosa*. *in vitro veritas*

Rappel des objectifs

La résistance aux antibiotiques chez les agents pathogènes est un problème majeur de santé publique. L'évolution accélérée de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries et la rareté de nouvelles familles d'antibiotiques imposent le développement de solutions originales. En première ligne, parmi les divers mécanismes de résistance, des moteurs moléculaires appelés « pompes d'efflux » vont expulser les antibiotiques avant qu'ils n'atteignent leurs cibles. Chez les bactéries à Gram négatif, protégées par une double membrane, les pompes d'efflux sont organisées au sein d'un complexe macromoléculaire dans lequel trois protéines s'assemblent transitoirement pour former une pompe efficace, spécifique et dynamique. Nous étudions le fonctionnement d'une pompe d'efflux appelée MexA MexB OprM chez la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*, particulièrement nocive chez les malades atteints de mucoviscidose, chez les patients immunodéprimés ou les grands brûlés. Nous avons développé une méthodologie permettant de mimer les pompes d'efflux *in vitro*, dans un environnement biomimétique composé de vésicules lipidiques artificielles reconstituant la paroi de la bactérie. L'activité de transport d'antibiotique est mesurée en utilisant des sondes fluorescentes.

Résultats majeurs

Grâce à un appareillage permettant de mesurer des réactions avec une résolution de l'ordre de la milliseconde, nous avons montré que la protéine MexB fonctionne avec une activité basale (« bridée ») et que cette inhibition est levée si et seulement si ses deux partenaires (MexA et OprM) sont présents. En combinant ces observations fonctionnelles à des informations structurales obtenues par cryomicroscopie électronique à haute résolution, nous proposons une description inédite du fonctionnement de la pompe, avec une résolution atomique. Par ailleurs, nous avons aussi développé une méthodologie toujours basée sur l'utilisation de molécules fluorescentes, permettant de mesurer l'activité de transport au sein même de la bactérie.

Nos résultats ouvrent la voie à de nouvelles pistes thérapeutiques, car nous savons maintenant que la pompe entière doit être la cible des antimicrobiens et non, comme communément admis aujourd'hui, chacun de ces composants pris isolément.

Production scientifique et valorisation

À la suite du projet InVIVE, nous avons aujourd'hui démarré un nouveau projet, SPICE Up, financé par l'ANR (AAPG 2019) et consistant à identifier et à caractériser des inhibiteurs de pompes d'efflux. Ces inhibiteurs n'auront pas d'activité antimicrobienne propre, mais ils pourront jouer le rôle d'adjuvants en ravivant l'arsenal thérapeutique existant, sans redondance avec ce dernier.

Publications

Souabni, H. et al., (2021) Quantitative real-time analysis of the efflux by the MacAB-TolC tripartite efflux pump clarifies the role of ATP hydrolysis within mechanotransmission mechanism, *Communications Biology*. 4, 493.

Glavier, M. et al., (2020) Antibiotic export by MexB multidrug efflux transporter is allosterically controlled by a MexA-OprM chaperone-like complex, *Nat. Commun.* 11, 4948.

Picard, M. et al., (2018) Biochemical Reconstitution and Characterization of Multicomponent Drug Efflux Transporters, *Methods in Molecular Biology*. 1700:113-145.

Puvanendran, D. et al., (2017) Reconstitution of the activity of RND efflux pumps: a "bottom-up" approach, *Research in Microbiology*. 169 (7-8).

Communications orales

Efflux pumps from Gram-negative bacteria: from *in vitro* minimal systems to the complexity of the bacterial membrane, *Gordon Conference Multi-Drug Efflux Systems 2019*, Lucca, Italie.

Structural and functional studies of *in vitro* fully assembled *Pseudomonas aeruginosa* efflux pumps, *European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2019)*, Amsterdam, Pays-Bas.

Symposium IMI - Translocation 2017, Brunswick, Allemagne.

Le projet inVIVE est un projet jeunes chercheuses et jeunes chercheurs.

Le projet a commencé en octobre 2016 et a duré 54 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 263 190 euros.

COORDINATEUR

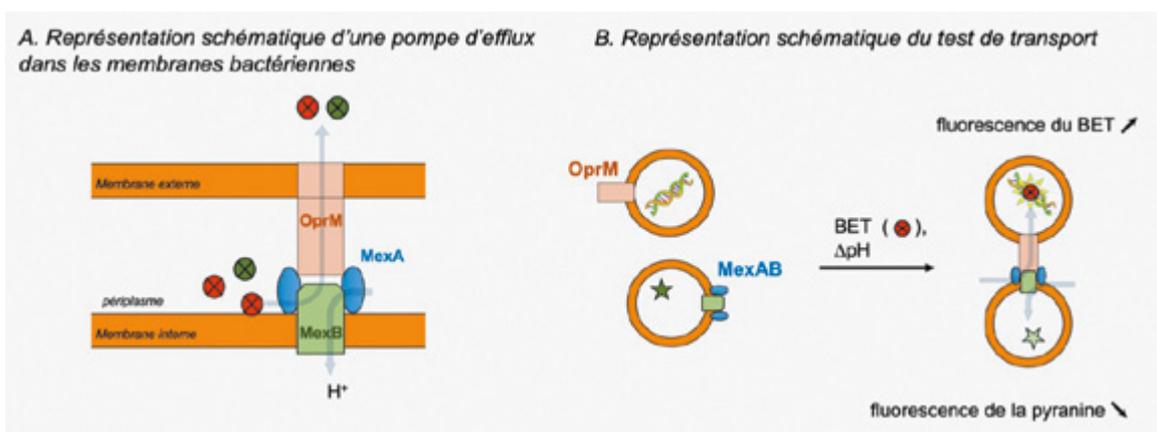
Martin Picard
martin.picard@ibpc.fr

Laboratoire de Biologie Physico-chimique des Protéines Membranaires

Reconstitution de la pompe d'efflux *in vitro*.

La paroi de la bactérie à Gram négatif (A) est reconstituée au sein de vésicules lipidiques artificielles (B) et l'activité de transport est mesurée en utilisant des sondes fluorescentes.

© Préparation par Martin Picard



MimictRNA

Synthèse d'analogues d'aminocyl-tRNA pour explorer la synthèse peptidique nonribosomale chez les bactéries

Rappel des objectifs

En plus de ses fonctions clés dans la synthèse des protéines et dans la régulation des gènes, de nouvelles propriétés des ARN sont constamment découvertes. Pour comprendre la biologie des ARN et utiliser cette molécule à des fins thérapeutiques ou diagnostiques, il est nécessaire de développer de nouvelles méthodologies de synthèse afin de modifier leurs structures. L'objectif spécifique de notre projet a été de mettre au point de nouvelles réactions pour inclure des modifications chimiques à des positions spécifiques de molécules d'ARN complexes. Ces ARN synthétiques ont été conçus pour étudier une famille d'enzymes impliquées dans une étape essentielle de la biosynthèse du peptidoglycane de la paroi des bactéries. Ces enzymes (Fem) sont des cibles potentielles pour développer de nouveaux antibiotiques actifs sur des bactéries résistantes aux β -lactamines, en particulier, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. Nos travaux ont permis de caractériser sur le plan structural et fonctionnel l'interaction de ces enzymes avec les ARN de transfert.

Résultats majeurs

Au cours de ces projets, nous avons développé de nouvelles méthodes de synthèse performantes pour introduire des groupements chimiques variés à des positions définies des molécules d'ARN. Ces ARN synthétiques ont permis de caractériser une cible potentielle pour le développement de nouveaux antibiotiques actifs sur des bactéries résistantes : les transférases de la famille Fem.

Dans le projet MimictRNA, des analogues synthétiques d'ARNt de type conjugués « peptidyl-ARN » ont permis d'obtenir les premières données structurales du complexe Fem/ARN. (trois articles ont été publiés).

Le projet SyntRNA a permis d'aller plus loin dans la complexité des conjugués synthétisés. Nous avons en particulier synthétisé des conjugués lipide-glucide-peptidyl-ARN contenant une partie mimant les Gly-ARNt^{Gly} et une partie mimant un précurseur de

SyntRNA

Chemo-biologie pour la caractérisation structurale et fonctionnelle de complexes ARN-protéines

peptidoglycane, l'intermédiaire lipidique II. Cet analogue de type « bisubstrat » est le premier inhibiteur rapporté pour la transférase FmhB de *S. aureus* ($IC_{50} = 56$ nM). Une partie du peptide de ce conjugué a ensuite été modifié en remplaçant la D-Ala localisée à l'extrémité C-terminale de la partie peptidique par un résidu d'acide D-lactique. Cette modification est responsable de la résistance acquise à la vancomycine chez les entérocoques et chez *S. aureus*. La substitution a altéré la reconnaissance de notre conjugué par l'enzyme FmhB. Ce résultat peut expliquer la diffusion limitée des gènes de résistance à la vancomycine chez *S. aureus*.

Production scientifique et valorisation

Ces deux projets ont donné lieu à huit publications.

Le projet MimictRNA est un projet de recherche collaborative. Il a commencé en octobre 2013 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 444 974 euros.

Le projet SyntRNA un projet de recherche collaborative. Il a commencé en octobre 2017 et a duré 53 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 470 267 euros.

PARTENAIRES

Herman Van Tilbeurgh, Structural Biology - Institut de Biologie Intégrative de la Cellule
Michel Arthur, Centre de Recherche des Cordeliers
Dominique Mengin-Lecreux, Institut de Biologie Intégrative de la Cellule

COORDINATRICE

Mélanie Etheve-Quellejeu
melanie.etheve-quelquejeu@u-paris.fr
Laboratoire de Chimie et de Biochimie pharmacologiques et toxicologiques

Représentation des méthodologies de synthèse et des molécules utilisées pour l'étude d'une cible bactérienne.

© Mélanie Etheve-Quellejeu

Post-synthétique stratégie pour la fonctionnalisation d'ARNt

Couplage de Suzuki-Miyaura

Ligation de Staudinger Traceless

Conjugués peptidyl-ARN

Etude d'une cible bactérienne

MOBISING

Impact des Recombinases et Transposases à simple brin sur la Dynamique des Génomes

Rappel des objectifs

Les éléments transposables (ET) jouent un rôle primordial dans la plasticité des génomes et dans la transmission des résistances aux antibiotiques. Ce projet a pour objectif d'étudier les mécanismes moléculaires utilisés par un groupe des ET de type « HuH » et leur impact sur l'évolution des génomes bactériens. La transposition de la famille IS200/IS605 est très différente des ET classiques : pour leur mobilité, ces ET utilisent uniquement de l'ADN monocaténaire retrouvé essentiellement au niveau des fourches de réplication. Le premier objectif est d'approfondir la connaissance du mécanisme de transposition de la famille IS200/IS605, en particulier comment ces éléments sont ciblés vers les fourches de réplication. Nous allons explorer la transposition des ISCR - fréquents porteurs des gènes de résistance aux antibiotiques. D'autres objectifs sont d'analyser le rôle des protéines TnpA_{REP} dans la dissémination des séquences REP dans des génomes et d'assurer le développement de la base de données ISfinder pour améliorer l'annotation de ces éléments HuH.

Résultats majeurs

La transposition monocaténaire de la famille IS200/IS605 se déroule selon le mécanisme peler et coller en deux étapes : l'excision précise d'éléments sous forme circulaire puis l'intégration dans un site cible. Nous avons tout d'abord étudié des facteurs impliqués dans le ciblage de ces éléments vers la fourche de réplication. Nous avons identifié l'interaction directe de la transposase d'IS200/IS605 avec le réplisome, ainsi qu'avec des structures mimant des fourches de réplication. Par la suite, nous avons développé un système d'analyse des activités *in vitro* de la transposase purifiée d'ISCR et détecté, pour la première fois, le clivage du substrat par ces enzymes. Ces propriétés permettent de proposer un modèle d'action des ISCR pour capturer des gènes. Les séquences REP sont présentes en grand nombre et jouent des rôles importants dans la physiologie des bactéries. Malgré leur découverte et les multiples études de leurs rôles dans la physiologie des cellules, la manière dont elles se sont multipliées et par quel mécanisme restent à démontrer. TnpA_{REP}, protéine associée aux REP est capable de cliver et recombiner ces séquences *in vitro*. Nous avons effectué une analyse comparative de deux groupes de TnpA_{REP} associées aux deux groupes différents de REP. Nous avons montré que les deux groupes utilisent des stratégies différentes pour reconnaître leurs substrats

respectifs. Nous avons aussi développé un essai pour détecter et cartographier les sites de clivages de TnpA_{REP} *in vitro* et dans les cellules. Nos résultats confortent l'hypothèse d'un rôle actif de TnpA_{REP} dans la mobilité de ces séquences. Enfin, nous avons renforcé la database ISfinder pendant la période de financement pour une meilleure annotation de ces éléments HuH.

Production scientifique et valorisation

L'ensemble de ce travail fait l'objet de plusieurs publications et présentations dans des colloques internationaux. Une thèse a été soutenue à l'École Doctorale Biologie, Santé et Biotechnologie de Toulouse.

Lavatine L. et al., (2016) Single strand transposition at the host replication fork, *Nucl. Acids Res.* 44: 7866-7883.

He S. et al., (2015) The IS200/IS605 Family and «Peel and Paste» Single-strand Transposition Mechanism, *Microbiol. Spectr.* Aug;3(4).

Quentin Y. et al., (2018) Single-strand DNA processing: phylogenomics and sequence diversity of a superfamily of potential prokaryotic HuH endonucleases, *BMC Genomics.* Jun 19;19(1):475.

Guyenet C. et al., (2020) Detection and Characterization of Transposons in Bacteria, *Methods Mol. Biol.* 2075:81-90.

Guyenet C. et al., (2020) First Biochemical Steps on Bacterial Transposition Pathways, *Methods Mol. Biol.* 2075:157-177.

Corneloup A. et al., (2021) TnpAREP and REP sequences dissemination in bacterial genomes: REP recognition determinants, *Nucleic Acids Res.* Jul 9;49(12):6982-6995.

Le projet MOBISING est un projet de recherche collaborative.
Le projet a commencé en janvier 2013 et a duré 60 mois.
Il a bénéficié d'une aide ANR de 449 295 euros.

PARTENAIRE

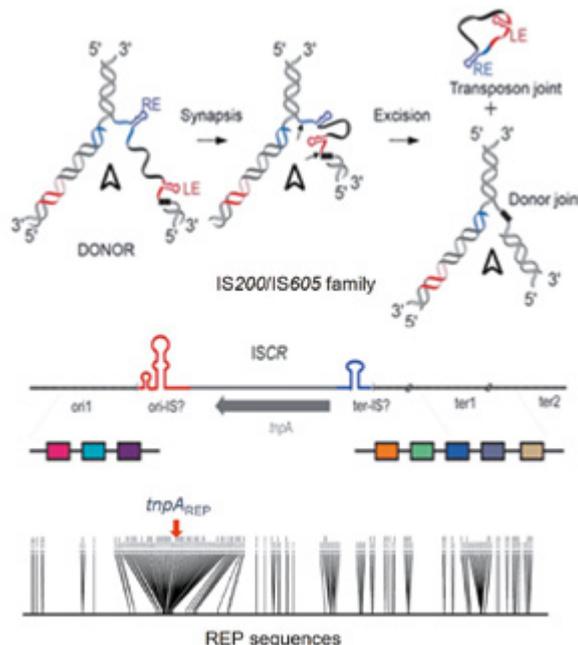
Yves Quentin, Laboratoire de Microbiologie et Génétique Moléculaire

COORDINATEUR

Bao Ton-Hoang
tonhoang@ibcg.biotoul.fr

Laboratoire de Microbiologie et Génétique Moléculaire

Haut : Identification des facteurs permettant le ciblage de la famille IS200/IS605 vers les fourches de réplication. Milieu : Développement d'un système *in vitro* pour décortiquer le mécanisme de capture de gènes par les ISCR. Bas : Analyse et comparaison des stratégies mises en place par deux groupes de TnpA_{REP} pour reconnaître leurs substrats REP.
© Adapté de He S. et al., (2015) The IS200/IS605 Family and «Peel and Paste» Single-strand Transposition Mechanism, *Microbiol. Spectr.* Aug;3(4).



PiBaKi

Rôle cellulaire et mode d'action de deux protéine-kinases centrales chez les bactéries

Rappel des objectifs

La résistance des bactéries aux antibiotiques représente un sérieux problème de santé publique et la recherche de nouveaux antibiotiques est un défi majeur en recherche médicale. Nos travaux visaient à mettre en évidence de nouveaux mécanismes de régulation de la physiologie bactérienne pour apporter les connaissances fondamentales qui permettront, à terme, de développer une recherche plus appliquée pour générer de nouveaux antibiotiques. Pour cela, nous nous sommes focalisés sur l'étude d'une serine/thréonine-kinase connue pour influencer la division cellulaire et la morphogénèse de la cellule bactérienne, et capable de phosphoryler différentes protéines. Néanmoins, le rôle exact et le mécanisme d'action de cette protéine-kinase restaient complètement inconnus. Nous avons donc étudié le rôle de cette protéine-kinase chez deux espèces bactériennes modèles, la bactérie pathogène *Streptococcus pneumoniae* et la bactérie du sol *Bacillus subtilis* qui produisent respectivement les serine/thréonine-kinases homologues StkP et PrkC. Ces deux bactéries à Gram positif ont été choisies car elles diffèrent de par leur forme cellulaire, leur comportement développemental et leur mode de vie. Il était donc extrêmement intéressant de déterminer si le rôle de ces protéine-kinases était conservé chez les deux bactéries et si elles influençaient différemment la biologie de ces bactéries pour identifier et cibler, à terme, des processus spécifiques d'une bactérie pathogène.

Résultats majeurs

Au cours de ce projet, nous avons montré toute une série de mécanismes de régulation par phosphorylation de la division et morphogénèse qui diffèrent entre *S. pneumoniae* et *B. subtilis*. Par exemple, nous avons démontré que StkP ou PrkC forment avec les protéines GpsB et DivIVA un complexe qui régule la morphogénèse de ces deux bactéries mais via un mécanisme de régulation différent, impliquant soit la phosphorylation de DivIVA soit celle de GpsB (Pompéo et al., (2015) *Mol. Microbiol.* ; Fleurie et al., (2014) *PLOS Genet.*). De la même manière, nous avons mis en évidence des réactions de phosphorylation spécifiques à chacune de ces deux bactéries. Ainsi, la phosphorylation de la protéine YvcK influence uniquement la morphogénèse de chez *B. subtilis* (Foulquier et al., (2014) *J. Biol. Chem.*). Chez *S. pneumoniae*, nous avons identifié plusieurs mécanismes spécifiques de régulation de la division cellulaire. Ainsi StkP régule la fonction des protéines LytB (Zucchini et al., (2018) *Nat. Microbiol.*) et PBP2X (Morlot et al., (2013) *Mol. Microbiol.*).

De manière très intéressante, nos travaux ont permis de caractériser un nouveau facteur (MapZ) et de décrire un mécanisme complètement nouveau de positionnement du site de division cellulaire

et de régulation par phosphorylation de la constriction de la cellule propre à *S. pneumoniae* (Fleurie et al., (2014) *Nature* ; Manuse et al., (2016) *Nat. Commun.*). Enfin, nous avons identifié une nouvelle protéine-kinase (Ubk) qui influence la morphogénèse de *S. pneumoniae* et de *B. subtilis* et dont le rôle précis reste entièrement à découvrir (Nguyen et al., (2017) *J. Mol. Biol.* ; Pelletier et al., (2019) *Front Microbiol.*). Sur la base de ces découvertes, de nouvelles collaborations avec des équipes françaises et étrangères ont été initiées pour comprendre plus en détail les rôles respectifs de PrkC, StkP et Ubk. Ces collaborations font ou ont fait l'objet de nouvelles demandes de financement et ont conduit à de nouvelles publications.

Production scientifique et valorisation

Le projet a généré au total quatorze publications dans les revues internationales (*Nature*, *Nature Communications*, *Nature Microbiology*, *PLOS Genetics*, *Trends in Microbiology*...). Les résultats ont également été présentés à vingt-quatre conférences internationales (*Gordon Research Conference*, *EMBO Conference*...). Ce projet a fourni les nouvelles connaissances fondamentales recherchées au démarrage du projet. Ces connaissances permettent aujourd'hui d'envisager de développer de nouvelles stratégies pour limiter la croissance et le développement d'une bactérie pathogène telle que *S. pneumoniae*. À titre d'exemple, nous développons un projet ciblant la protéine MapZ. En effet, si nous arrivons à générer des composés interférant avec sa fonction, et donc la capacité de *S. pneumoniae* à se diviser et à se multiplier, nous impacterons drastiquement la capacité de cette bactérie à infecter son hôte et à provoquer des maladies. Cet objectif est d'autant plus intéressant que l'Organisation mondiale de la santé a classé cette bactérie dans la liste des pathogènes bactériens prioritaires contre lesquels il est urgent de développer de nouveaux antibiotiques.

Le projet PiBaKi est un projet de recherche collaborative.
Le projet a commencé en janvier 2013 et a duré 54 mois.
Il a bénéficié d'une aide ANR de 403 295 euros.

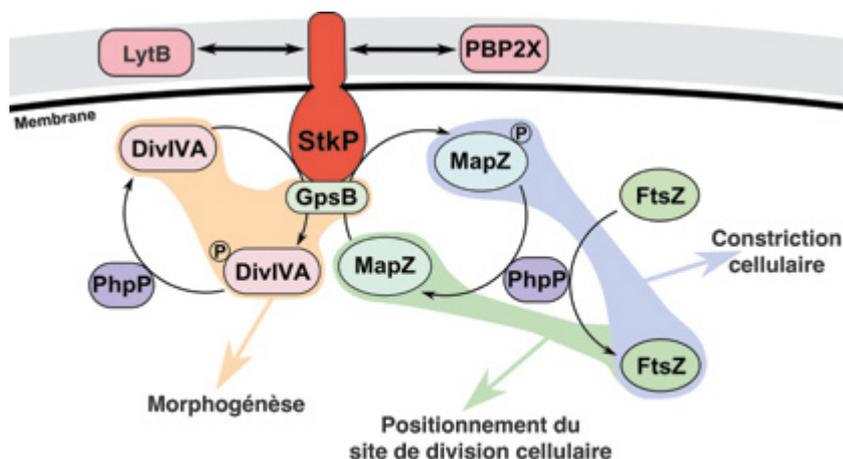
PARTENAIRES

Anne Galinier, Laboratoire de Chimie Bactérienne
Anne Marie Di Guilmi, Institut de Biologie Structurale
Jean-Michel Jault, Laboratoire de Microbiologie Moléculaire et Biochimie Structurale

COORDINATEUR

Christophe Grangeasse
christophe.grangeasse@ibcp.fr
Laboratoire de Microbiologie Moléculaire et Biochimie Structurale

Ensemble des mécanismes de régulation de la division cellulaire et de la morphogénèse contrôlés par StkP et mis en évidence dans le cadre de ce projet chez la bactérie *S. pneumoniae*.
© Christophe Grangeasse



RIBOSTAPH

La traduction et son contrôle chez *Staphylococcus aureus* : conséquences sur la virulence et la réponse aux stress

Rappel des objectifs

Le contrôle de la biosynthèse des protéines (traduction) et la biologie des acides ribonucléiques (ARN) chez les bactéries ont été fortement étudiés ces dernières décennies. Le ribosome, machinerie de la synthèse des protéines, est souvent la cible de nombreux régulateurs (ARN, protéines), qui permettent d'adapter rapidement la réponse des bactéries à des changements de leur environnement. La plupart des études ont cependant été menées sur la bactérie modèle *Escherichia coli*, alors que moins d'informations existaient pour les bactéries éloignées dans l'évolution telles que *Staphylococcus aureus*, pathogène opportuniste majeur chez l'humain, responsable d'infections nosocomiales et communautaires sévères. RIBOSTAPH avait pour objectifs de définir le rôle du contrôle traductionnel sur la physiopathologie de *S. aureus*, de caractériser les perturbations de ces régulations en réponse aux changements de l'environnement (réponse au stress, traitement antibiotique) et les interconnexions entre les différentes voies métaboliques et la virulence, ainsi que d'élucider la structure de la machinerie de traduction (ribosome) à haute résolution. L'un des défis est d'acquies des connaissances sur les mécanismes de régulation qui bloquent le ribosome en action (voir figure).

Résultats majeurs

RIBOSTAPH a reposé sur une synergie entre les trois partenaires afin de suivre le ribosome en action et d'identifier les événements qui régulent son activité. Une grande quantité de données est maintenant disponible pour la communauté.

1. Nous avons tout d'abord montré que les ARN non codants (ARNs) corégulent la traduction de nombreux ARN messagers (ARNm) en réponse à une carence nutritionnelle, à l'homéostasie des ions (mécanismes de défense de l'hôte lors d'une infection), et lors d'un traitement aux antibiotiques. Ces ARN interconnectent le métabolisme bactérien, les réponses aux stress et la virulence.
2. Nous avons identifié un nouveau facteur de virulence, il s'agit d'une protéine fixant l'ARN, qui facilite le recrutement des ribosomes sur les ARNm codants pour des exotoxines majeures pour initier leur synthèse.
3. Les structures à haute résolution du ribosome actif ou bloqués par des protéines régulatrices ont révélé de nouvelles stratégies spécifiques à *S. aureus* pour réprimer la traduction lors de stress. RIBOSTAPH a élucidé une étonnante variété de mécanismes qui régulent soit l'activité du ribosome, soit son recrutement sur les ARNm. Il a aussi mis en exergue l'importance des bases modifiées des ARN lors de la traduction, ouvrant un nouveau champ d'exploration qui est l'étude de leur dynamique et la reprogrammation de la synthèse protéique lors d'une infection. Ces recherches fondamentales sont essentielles pour mieux comprendre la

physiopathologie de *S. aureus* et, à plus long terme, pour identifier de nouvelles drogues capables de bloquer spécifiquement le ribosome de manière spécifique et durable.

Production scientifique et valorisation

L'ensemble de ce travail a fait l'objet de seize publications et de six revues, a conduit à deux thèses soutenues à l'Université de Strasbourg et à plusieurs communications orales lors de congrès internationaux.

Georg J. et al., (2020) The power of cooperation: Experimental and computational approaches in the functional characterization of bacterial sRNAs, *Mol. Microbiol.* 113:603.

Golubev A. et al., (2020) Cryo-EM structure of the ribosome functional complex of the human pathogen *Staphylococcus aureus* at 3.2 Å resolution, *FEBS Lett.* 594:3551.

Khusainov I. et al., (2020) Mechanism of ribosome shutdown by RsfS in *Staphylococcus aureus* revealed by integrative structural biology approach, *Nature Commun.* 11:1656.

Bronsky D. et al., (2019) A multifaceted small RNA modulates gene expression upon glucose limitation in *Staphylococcus aureus*, *EMBO J.* 38:e99363.

Lalaouna D. et al., (2019) RsaC sRNA modulates the oxidative stress response of *Staphylococcus aureus* during manganese starvation, *Nucleic Acids Res.* 47:9871.

Khusainov I. et al., (2017) Structures and dynamics of hibernating ribosomes from *S. aureus* mediated by intermolecular interactions of HPF, *EMBO J.* 6:2073.

Tomasini A. et al., (2017) The RNA targetome of *Staphylococcus aureus* non-coding RNA RsaA: impact on cell surface properties and defense mechanisms, *Nucleic Acids Res.* 2017 45:6746.

Khusainov I. et al., (2016) Structure of the 70S ribosome from human pathogen *Staphylococcus aureus*, *Nucleic Acids Res.* 44:10491.

Le projet RIBOSTAPH est un projet de recherche collaborative. Le projet a commencé en octobre 2016 et a duré 54 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 576 183 euros.

PARTENAIRES

François Vandenesch, Centre International de Recherche en Infectiologie
Marat Yusupov, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire

COORDINATRICE

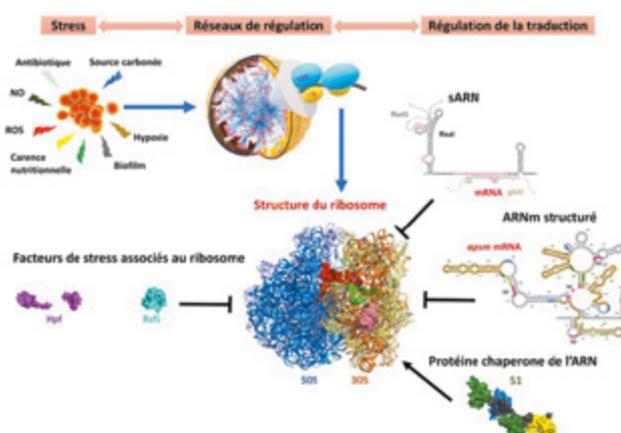
Pascale Romby

p.romby@ibmc-cnrs.unistra.fr

Architecture et Réactivité de l'ARN

De multiples facteurs (ARN ou protéines) agissent comme inhibiteurs (barre noire) ou activateurs (flèche noire) du fonctionnement du ribosome en réponse à divers stress chez *Staphylococcus aureus*.

© Stefano Marzi



SpABC-TCS

Mécanisme de résistance aux peptides antimicrobiens par un transporteur ABC couplé à un système de régulation à deux composants chez *Streptococcus pneumoniae*

Rappel des objectifs

La résistance aux antibiotiques est une menace de santé publique qui concerne tous les pathogènes bactériens, ainsi que tous les médicaments thérapeutiques. Les peptides antimicrobiens constituent un élément majeur de défense de la plupart des organismes vivants contre les bactéries qui les infectent et sont considérés comme une alternative prometteuse pour lutter contre les pathogènes. Toutefois, les bactéries disposent de quelques mécanismes pour résister à ces peptides antimicrobiens, et l'un des mécanismes majeurs implique l'utilisation de transporteurs ABC dédiés à cette fonction. Une propriété unique de ces transporteurs est qu'ils coopèrent avec des systèmes de régulation à deux composants (TCS) pour détecter la présence de ces peptides antimicrobiens et induire l'expression des gènes du transporteur pour augmenter les niveaux de résistance cellulaire. Le mécanisme moléculaire de ces systèmes de détection/transport est peu connu et nous avons ici identifié et étudié le mécanisme moléculaire d'un de ces modules de résistance chez *Streptococcus pneumoniae*. Cette bactérie pathogène, plus communément appelée pneumocoque, cause différentes maladies (otites, pneumonies, méningites, voire septicémies), et est responsable de près d'un million de morts par an dans le monde.

Résultats majeurs

Streptococcus pneumoniae est une bactérie commensale du nasopharynx humain qui peut, dans certaines circonstances, devenir un pathogène virulent et invasif. Les stratégies qui permettent à *S. pneumoniae* de survivre dans divers environnements du corps humain sont encore mal comprises. L'un des mécanismes les plus répandus permettant aux bactéries de détecter les changements environnementaux et de promouvoir des réponses adaptatives en modulant l'expression des gènes sont les systèmes de régulation à deux composants (TCS). Parmi les 13 TCS présents chez cette bactérie, il avait été démontré que TCS01 était fortement impliqué dans la virulence de la bactérie, mais sa fonction biologique était inconnue. Nous avons démontré que TCS01 et un transporteur ABC de la sous-famille BceAB coopèrent en effet pour induire une résistance à un certain nombre de peptides antimicrobiens de structures non-apparentées, qui ciblent tous des précurseurs essentiels à la synthèse de la paroi bactérienne. Nous avons déterminé que TCS01 permettait de surexprimer le transporteur ABC, tandis que ce dernier permet d'établir la résistance du système. Nous avons réussi la surexpression, la purification et la reconstitution du transporteur ABC, révélant ainsi les premières propriétés fonctionnelles de ce type de transporteur.

Un module de résistance aux peptides antimicrobiens chez *S. pneumoniae*. Le transporteur ABC (vert) reconnaît les peptides antimicrobiens (bleu). Cela induit une cascade de phosphorylation sur l'histidine kinase (rose) et le régulateur de réponse (gris) ainsi que sur la surexpression du transporteur ABC.

© Cédric Orelle

Production scientifique et valorisation

Ce travail a fait l'objet de six publications et de cinq présentations dans des congrès internationaux ou nationaux. Ce projet a aussi permis d'initier une collaboration avec des partenaires industriels (Calixar et Biotem). Le consortium a obtenu un financement en recherche et développement (R&D) Booster à la région Rhône-Alpes, dans lequel le transporteur ABC d'intérêt sera l'une des protéines membranaires cibles utilisées comme preuve de concept pour la génération de nanobodies. Ce projet, IMABGEN, a pour objectif de créer une nouvelle plateforme de sélection d'anticorps dirigés contre des protéines membranaires pour la recherche analytique, le diagnostic ou l'utilisation thérapeutique.

Mathieu K. et al., (2019) Functionality of membrane proteins overexpressed and purified from *E. coli* is highly dependent upon the strain, *Sci. Rep.* 9(1), 2654.

Orelle C. et al., (2019) Multidrug ABC transporters in bacteria, *Res. Microbiol.* 170(8):381-391.

Mächtel R. et al., (2019) An integrated transport mechanism of the maltose ABC importer, *Res. Microbiol.* 170(8):321-337.

Lewinson O. et al., (2020) Structures of ABC transporters: Handle with care, *FEBS Lett.* 594(23):3799-814.

Diagne A. M. et al., (2022) Identification of a two-component regulatory system involved in antimicrobial peptide resistance in *Streptococcus pneumoniae*, *PLOS Pathogens*. 18(4):e1010458.

Di Cesare M. et al., (2022) Functional overexpression of membrane proteins in *E. coli*: the good, the bad and the ugly, *Methods Mol. Biol.* (sous presse)

Le projet SpABC-TCS est un projet de recherche collaborative. Le projet a commencé en février 2018 et a duré 42 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 334 260 euros.

PARTENAIRES

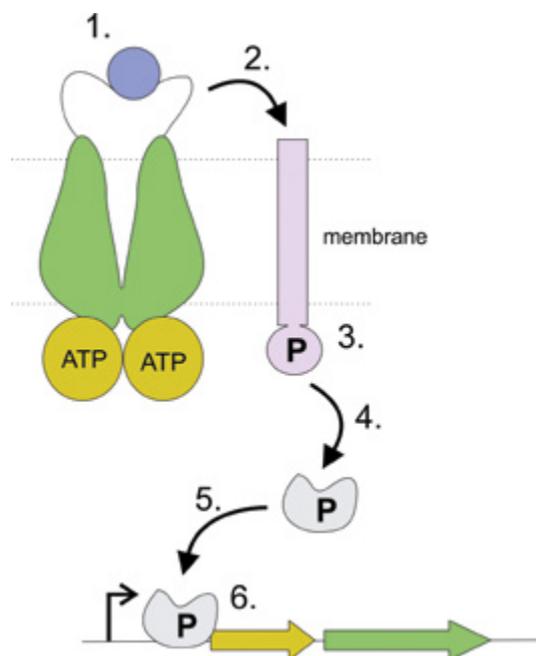
Jérôme Lemoine, Institut des Sciences Analytiques

COORDINATEUR

Cédric Orelle

cedric.orelle@ibcp.fr

Molecular Microbiology and Structural Biology



sRNA-FIT

Adaptation par ARN régulateurs chez *Staphylococcus aureus*

Rappel des objectifs

Si les infections bactériennes ont décimé une grande partie de l'humanité, la découverte des antibiotiques au siècle dernier a laissé espérer que ce spectre mortel n'était qu'une relique du passé. Cependant, l'émergence de bactéries multirésistantes aux antibiotiques nous rappelle que la lutte contre ces infections est permanente et qu'il faudra toujours trouver de nouvelles molécules antimicrobiennes. Le staphylocoque doré (*S. aureus*) est une bactérie commensale de l'humain et d'autres animaux. Cependant, elle peut être responsable de nombreuses pathologies tant bénignes que mortelles. C'est aussi l'un des premiers agents responsables des infections contractées dans les hôpitaux. Les bactéries perçoivent des signaux environnementaux et adaptent en temps réel leur composition pour optimiser leur survie et leur prolifération. Le « succès » de *S. aureus* en tant que pathogène est dû à un arsenal de gènes de virulence, une grande adaptabilité et sa possibilité de devenir résistant à de nombreux antibiotiques.

Les deux équipes impliquées dans ce projet étudient la fonction des ARN régulateurs chez les bactéries pathogènes. Ces ARN sont des séquences d'acides ribonucléiques, fréquemment courtes et non codantes, qui ajustent le niveau d'expression des gènes aux conditions environnementales pour maximiser la survie des bactéries. Le projet visait à identifier et caractériser les ARN régulateurs de *S. aureus* ayant un impact sur la virulence et la résistance aux antibiotiques.

Résultats majeurs

Nous avons construit une collection de mutants de *S. aureus* où les gènes des ARN régulateurs sont remplacés par des étiquettes d'ADN. Des expériences de compétition de croissance sont réalisées avec l'ensemble des mutants dans différentes conditions de culture. Chaque mutant est quantifié grâce à son étiquette. Cette stratégie a permis d'identifier des ARN régulateurs requis pour une adaptation de la bactérie aux antibiotiques ou à des carences nutritionnelles. Ainsi, nous avons caractérisé un ARN régulateur requis pour l'adaptation à l'absence de fer, une condition rencontrée par les bactéries infectant l'humain. Nous avons montré que cet ARN était responsable de la réduction de la synthèse de protéines contenant du fer et qu'il est activé lors d'une carence en fer. Nous observons, via cet exemple, l'ingéniosité des bactéries pour s'adapter aux conditions nutritionnelles imposées par l'hôte infecté.

En absence de ce système, les bactéries sont moins virulentes. Une application envisageable pour contrer les infections staphylococciques serait de trouver un antagoniste de ce système. Un exemple d'ARN régulateur associé avec une résistance antibiotique est présenté sur l'illustration. Un deuxième volet de ce travail a porté sur la caractérisation de petites séquences ARN responsables de la synthèse de petits peptides toxiques pour les bactéries. Ces observations ont permis la génération d'un brevet sur l'utilisation de pseudopeptides cycliques comme agents antimicrobiens. Des recherches visant à utiliser ces molécules pour des applications thérapeutiques sont en cours.

Production scientifique et valorisation

Le Huyen K. B. et al. (2021) *Nucleic Acids Res.* 49(18): 10644–10656.
 Chlebicka K. et al., (2021) *Genes (Basel)*. 12(5): 770.
 Dejoies L. et al., (2021) *Sci. Rep.* 11: 6892.
 Liu W. et al., (2020) *BMC Res. Notes*. 13: 63.
 Felden F. et al., (2019) *Genes (Basel)*. 10(1): 22.
 Riffaud C. et al., (2019) *Nucleic Acids Res.* 47(4): 1740–1758.
 Germain-Amiot N. et al. (2019) *Nucleic Acids Res.* 47(4): 1759–1773.
 Rochat T. et al., (2018) *Nucleic Acids Res.* 46(17): 8803–8816.
 Felden B. et al., (2018) *Antimicrob. Agents Chemother.* 62(5): e02503–17.
 Liu W. et al., (2018) *Front Microbiol.* 9: 228.
 Sinel C. et al., (2017) *Sci. Rep.* 7: 11067.
 Bronsard J. et al., (2017) *Sci. Rep.* 7: 4565.
 Ivain L. et al., (2017) *Nucleic Acids Res.* 45(8): 4994–5007.

Le projet sRNA-FIT est un projet de recherche collaborative.
 Le projet a commencé en octobre 2015 et a duré 61 mois.
 Il a bénéficié d'une aide ANR de 450 000 euros.

PARTENAIRE

Brice Felden, ARN régulateurs bactériens et médecine

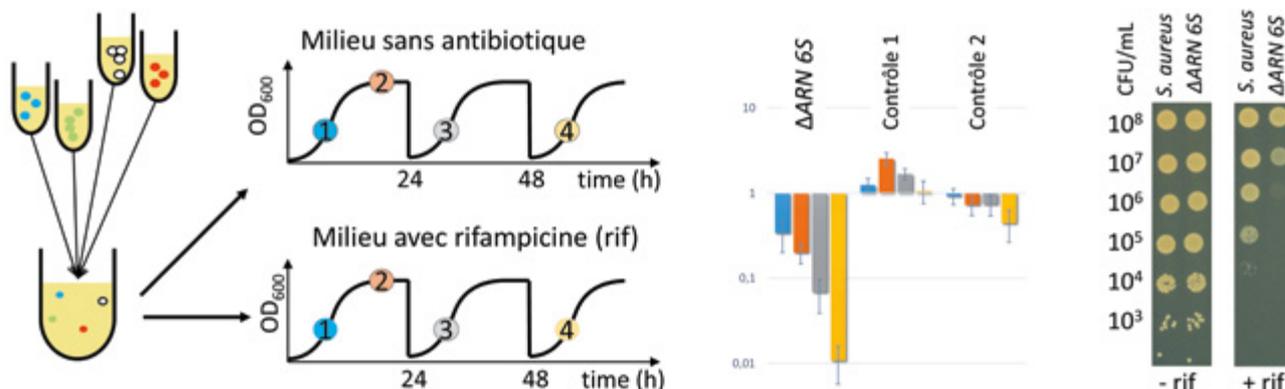
COORDINATEUR

Philippe Bouloc

philippe.bouloc@i2bc.paris-saclay.fr
 Institut de Biologie Intégrative de la Cellule

Une collection de mutants de *S. aureus* est cocultivée dans des milieux sans ou avec antibiotiques. Dans cet exemple, l'absence de l'ARN δS génère une hypersensibilité à un antibiotique (fitness altéré) confirmée par croissance sur boîte de Pétri.

© Philippe Bouloc



Molécules thérapeutiques et nouvelles approches

2FightTb	65
ANTITUB	66
Combinatorials	67
DesInMBL	68
EFFORT	69
FAREWEL	70
GLYCOMIME	71
Imperio	72
PerfoBac	73
PPTases	74
RUMBA	75
sSPECTRAL	76
Tea-4-Two	77

2FightTb

De l'identification de fragments à la découverte d'inhibiteurs de MabA (FabG1) un nouveau challenge pour traiter la tuberculose

Rappel des objectifs

La tuberculose, une maladie causée par la bactérie *Mycobacterium tuberculosis*, est l'une des principales causes de décès par un agent infectieux unique. Selon l'Organisation mondiale de la santé, cette maladie conduit chaque année à 1,5 million de décès et 10 millions de nouveaux cas dans le monde. Le traitement de la maladie implique une chimiothérapie longue qui provoque de nombreux effets secondaires et le nombre de bactéries résistantes aux médicaments antituberculeux est en constante augmentation. Il est donc nécessaire de trouver de nouvelles solutions thérapeutiques. Les acides mycoliques sont des acides gras jouant un rôle essentiel dans l'architecture et la perméabilité de la paroi de *M. tuberculosis*. La machinerie de biosynthèse des acides mycoliques, qui est la cible de plusieurs anti-tuberculeux, représente un réservoir important de cibles attrayantes. La protéine MabA (FabG1), impliquée dans la biosynthèse des acides mycoliques, a génétiquement été montrée comme essentielle pour la survie de *M. tuberculosis*. L'objectif du projet était d'identifier les premiers inhibiteurs de MabA de type petites molécules et d'optimiser leurs propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et pharmacodynamiques dans l'optique de concevoir de nouvelles thérapies contre la tuberculose et de surmonter la résistance aux médicaments.

Résultats majeurs

Afin d'identifier des molécules capables d'inhiber l'enzyme MabA, un nouveau test enzymatique à haut débit, robuste et robotisable, basé sur la spectrométrie de masse, a été développé et optimisé pour une utilisation en criblage au format 384 puits. Ce test consiste à quantifier par LC-MS/MS le produit de la réaction enzymatique en présence d'un inhibiteur potentiel. Deux criblages de 1280 et 2985 composés ont été réalisés sur la plateforme Equipex ImagineX-Biomed à l'Institut Pasteur de Lille, en utilisant ce nouveau test enzymatique. Les meilleurs inhibiteurs de MabA ont été sélectionnés et validés par des expériences de dose-réponse. Ceci a permis l'identification des premiers inhibiteurs de MabA de type petites molécules. Des analogues de ces inhibiteurs possédant un motif acide anthranilique ont ensuite été synthétisés puis testés sur l'enzyme afin d'établir des relations structure-activité. Une chimiothèque de 240 composés a été synthétisée en phase solide afin d'augmenter rapidement la diversité structurale des composés et d'améliorer leur solubilité et leur stabilité en milieu biologique. Une nouvelle collaboration a été initiée avec Xavier Hanouille (RID-AGE Lille, France) afin de confirmer la liaison des composés à MabA par des expériences de RMN du fluor 19. Les meilleurs inhibiteurs ont été

testés sur *M. tuberculosis* afin de mesurer leur capacité à inhiber la croissance bactérienne. L'absence de corrélation entre l'inhibition de MabA *in vitro* et l'inhibition de la croissance bactérienne nous a conduit à investiguer le mécanisme d'action des composés *in bacterio*. Ceci nous a permis de conclure que la fonction acide carboxylique présente dans la structure des inhibiteurs était responsable de l'activité antibactérienne.

Production scientifique et valorisation

Ce projet a donné lieu à quatre publications ainsi qu'à de nombreuses présentations orales et affiches dans des congrès nationaux et internationaux, et une thèse soutenue en 2020 à l'Université de Lille.

Faïon L. et al., (2020) Discovery of the first *Mycobacterium tuberculosis* MabA (FabG1) inhibitors through a fragment-based screening, *Eur. J. Med. Chem.* 200, 112440.

Kussau T. et al., (2018) Structural rearrangements occurring upon cofactor binding in the *Mycobacterium smegmatis* beta-ketoacyl-acyl carrier protein reductase MabA, *Acta crystallographica, Section D, Structural biology.* 74, 383.

Prevet H. et al., (2016) Microwave-assisted synthesis of functionalized spirohydantoins as 3-D privileged fragments for scouting the chemical space, *Tetrahedron Lett.* 57, 2888.

Tran, N. C. et al., (2015) Synthesis of functionalized 2-isoxazolines as three-dimensional fragments for fragment-based drug discovery, *Tetrahedron Lett.* 56, 4119.

Le projet 2FightTb est un projet jeunes chercheuses et jeunes chercheurs.

Le projet a commencé en février 2014 et a duré 42 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 255 000 euros.

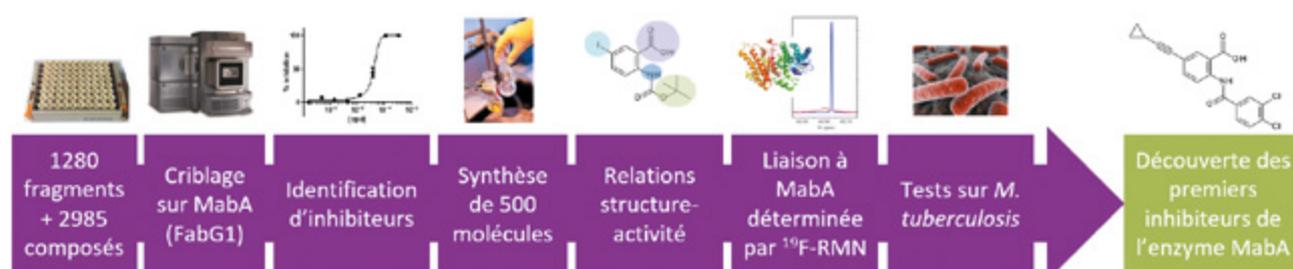
COORDINATRICE

Marion Flipo
marion.flipo@univ-lille.fr

Médicaments et Molécules pour agir sur les systèmes vivants

Cheminement scientifique ayant conduit à la découverte des premiers inhibiteurs de l'enzyme MabA (FabG1).

© Ruben C. Hartkoorn



ANTITUB

Approches bisubstrat et prodrogue pour la conception d'inhibiteurs inédits de la DXR : nouveaux antimicrobiens et antituberculeux

Rappel des objectifs

La multirésistance des bactéries aux antimicrobiens est devenue un problème majeur de santé publique. De nombreux micro-organismes sont désormais considérés comme des pathogènes prioritaires, en particulier ceux regroupés sous l'acronyme ESKAPE : *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter spp.* ou encore *Mycobacterium tuberculosis*, responsable de la tuberculose. Ainsi, il est urgent d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques afin de développer de nouveaux antimicrobiens. Les isoprénoides sont des molécules présentes chez tous les êtres vivants qui assurent des fonctions cellulaires essentielles, par exemple, le cholestérol ou les hopanoïdes stabilisant les membranes et les ubiquinones intervenant dans les chaînes respiratoires (figure 1). Ces molécules sont biosynthétisées à partir de deux précurseurs, l'isopentényl-pyrophosphate (IPP) et le diméthylallyl-pyrophosphate (DMAPP). Chez l'humain, ces précurseurs sont synthétisés par la voie de biosynthèse du mévalonate. Cependant, la plupart des bactéries pathogènes, les ESKAPE et également *Mycobacterium tuberculosis*, synthétisent l'IPP et le DMAPP en utilisant une voie de biosynthèse alternative, la voie du méthylérythritol phosphate (MEP) [figure 1]. Cette voie de biosynthèse étant absente chez l'humain, toutes les enzymes intervenant dans cette voie de biosynthèse sont des cibles potentielles pour le développement de nouveaux antimicrobiens. Un antibiotique naturel, la fosmidomycine, inhibe très efficacement *in vitro* la désoxyxylulose réductoisomérase (DXR), la deuxième enzyme de la voie du MEP (figure 2). Toutefois, certaines souches bactériennes sont devenues résistantes à ce composé. Afin d'obtenir des inhibiteurs plus spécifiques et plus efficaces, deux stratégies ont été envisagées. L'approche biligand consiste à synthétiser des ligands bio-orthogonaux appropriés et complémentaires qui réagiront par une « click » *in situ* de manière à former un inhibiteur irréversible. L'approche bisubstrat consiste en la synthèse d'une molécule unique ciblant simultanément le site actif de la DXR et celui du cofacteur, permettant ainsi d'augmenter la spécificité de l'inhibition (figure 2). La seconde problématique est liée à l'imperméabilité des inhibiteurs de la DXR vis-à-vis des mycobactéries. Celle-ci pourrait être surmontée en synthétisant les inhibiteurs sous forme de prodrogues et ainsi ouvrir la voie vers de nouveaux antituberculeux.

Résultats majeurs

Synthèse d'inhibiteurs bisubstrats et biligands de la DXR

- Approche biligand. En se basant sur les prédictions obtenues par bio-informatique, une série de composés portant un groupement azoture sur la fosmidomycine via un bras espaceur carboné de longueur variable, a été réalisée. Ces composés testés sur la DXR d'*E. coli* ont montré des résultats prometteurs, puisqu'ils inhibent l'enzyme avec des IC_{50} de l'ordre du nM.

- Approche bisubstrat. La synthèse de molécules uniques ciblant simultanément le site actif et une poche hydrophobe de la DXR a été réalisée. L'une d'entre elles inhibe la DXR d'*E. coli* avec des IC_{50} de l'ordre du nM.

Synthèse de prodrogues

Parmi la quarantaine de prodrogues synthétisées, quatorze d'entre elles inhibent la croissance d'une souche non pathogène de *M. smegmatis*. Parmi celles-ci, certaines inhibent efficacement le protozoaire responsable du paludisme.

Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives pour le développement de nouveaux antimicrobiens.

Production scientifique et valorisation

Publications

- Munier M. et al., (2017) *Bioorg. Med. Chem.* 25, 684–689.
Munier M. et al., (2019) *Bioorg. Chem.* 89, 103012.
Munier M. et al., (2021) *Molecules.* 26,16.

Communications orales

Grosdemange-Billiard C., *PharmaMed-2016, International Conference on Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, 5-7 Décembre, Dubai, UAE.

Grosdemange-Billiard C., 14 Septembre 2016, University of Adelaide, Chemistry Department, Adelaide, Australie.

Grosdemange-Billiard C., 20 Septembre 2016, University of Western Australia, Chemistry Department, Perth, Australie.

Communications

Dreneau A. et al., *53^e Semaine d'Étude en Chimie Organique*, 29 Mai-4 Juin 2016, Sulniac, France.

Allamand A. et al., *RECOB 18*, 20-24 Mars 2022, Aussois, France.

Ricciardi M. et al., *259th National ACS Meeting*, 22-26 Mars 2020, Philadelphie, PA, USA.

Manning I. et al., *255th National ACS Meeting*, 18-22 Mars 2018, New Orleans, LA, USA.

Le projet ANTITUB est un projet de recherche collaborative.

Le projet a commencé en octobre 2013 et a duré 42 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 369 466 euros.

PARTENAIRES

Roland Stote, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire
Burkhard Bechinger, Biophysique des membranes et RMN, Institut de Chimie de Strasbourg

COORDINATRICE

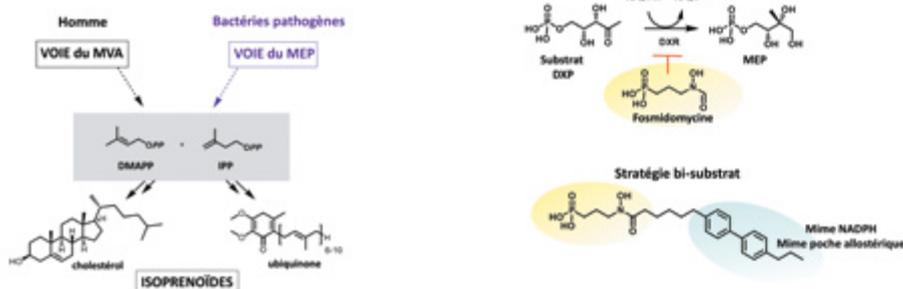
Catherine Grosdemange-Billiard

grosdemange@unistra.fr

Laboratoire de Chimie et Biochimie de Molécules Bioactives, Institut de Chimie de Strasbourg

Biosynthèse des isoprénoides selon les deux voies métaboliques (1). La DXR, deuxième enzyme de la voie du MEP, inhibiteur naturel et inhibiteur bisubstrat (2).

© Catherine Grosdemange-Billiard



Combinatorials

Novel drugs and drug combinations against bacterial growth, survival and persistence; from high-throughput screening to mechanism of action

State of the art and scientific aims

The effort required for developing new drugs and the limited profit margins for antibiotics has led most pharmaceuticals to close down their antibiotic R&D departments in the last 25 years. With infections by multi-resistant microbes rising alarmingly in the same timeframe, the stakes have become high for the situation to revert urgently. Combinatorial treatments and/or drug re-usage could fill the gap and address the urgent need for new therapies against life-threatening infections. We have put together a team with diverse expertise to screen tens of thousands of combinations of FDA-approved drugs for identifying strong synergistic pairs against major resistant pathogens. Synergies will be further dissected mechanistically, studied pharmacologically and validated in relevant animal models. Our specific aims were:

1. Identification of potent antimicrobial adjuvants.
2. Profiling ~5,000 pairwise drug combinations in each species *in vitro*
3. Mechanistic dissection of drug-drug interactions
4. Integrated *in vitro* PK/PD modeling
5. Animal model validation & *in vivo* PK/PD modeling

Main results

(1) we profiled 1000's of drug-drug interactions in 3 Gram-positive and 3 Gram-negative species and discovered a plethora of new synergies, a subset of which we showed retained activity against a panel of MDR clinical isolates. We also identified a number of unexpected antagonisms of common medication.

(2) we deduced a number of general principles that drive drug-drug interactions in bacteria : the outcome of interactions is largely species-specific and antagonisms are more common than synergies. We later used these concepts to identify antidotes for the collateral damage of antibiotics against commensal microbes.

(3) we identified non-antibiotic drugs that can be used to block natural competence of *S. pneumoniae*, and thereby antibiotic resistance development by HGT.

(4) we identified underlying mechanisms of drug mode-of-action and drug-drug interactions. We discovered that the food additive vanillin potentiates the activity of spectinomycin by promoting its uptake via a transporter (which is specific to *E. coli* and *Shigella* pathogens), and that of competence blockers in *S. pneumoniae*, which work by dissipating the proton motive force (pmf).

(5) we showed that several of these combinations (potentiating antibiotic action, blocking competence, mitigating collateral damage of antibiotics) work also in animal models.

(6) we developed frameworks to apply PK/PD models to very large amounts of drug combinations and demonstrated that they are very useful for inferring what drives the interaction.

Scientific outcomes

Brochado A.R. and *al.*, (2018) Species-specific activity of antibacterial drug combinations, *Nature*. 559: 259-263.

Gerstel A. and *al.*, (2020) Oxidative stress antagonizes fluoroquinolone drug sensitivity via the SoxR-SUF Fe-S cluster homeostatic axis, *PLOS Genet.* 16(11):e1009198.

Herrisse M. and *al.*, (2017) Silver potentiates aminoglycoside toxicity by enhancing their uptake, *Mol. Microbiol.* 105:115-126.

Le projet Combinatorials est un projet de recherche collaborative international.

Le projet a commencé en avril 2016 et a duré 3 années.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 206 496 euros.

PARTENAIRES

Frédéric Barras, Aix-Marseille Université, CNRS, Marseille
Athanasios Typas, European Molecular Biology Laboratory, Allemagne
(coordinateur)

Jan-Willem Veening, University of Groningen, Pays-Bas

Charlotte Kloft, Freie Universität Berlin, Allemagne

Bernt Eric Uhlén, Umeå University, Suède

Birgitta Henriques Normark, Karolinska Institute, Suède

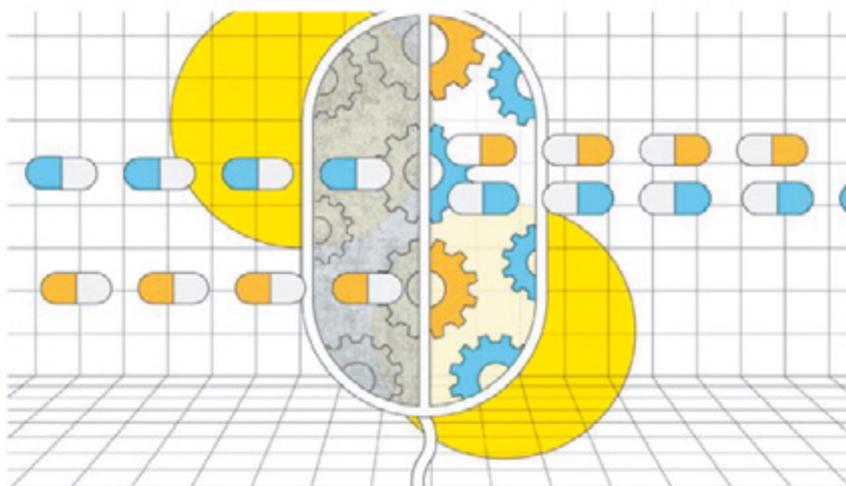
CONTACT

Frédéric Barras

fbarras@pasteur.fr

SAMe Unit, Institut Pasteur, Paris

Projet Combinatorials.
© A. Typas, EMBL Heidelberg



DesInMBL

Structure-guided design of pan inhibitors of metallo- β -lactamases

Rappel des objectifs

La résistance aux antibiotiques est aujourd'hui un enjeu majeur de santé publique. L'utilisation des β -lactamines, antibiotiques largement prescrits pour traiter les infections bactériennes, est menacée par la dissémination des β -lactamases capables de les désactiver. Ce phénomène est tout particulièrement bien illustré avec l'émergence d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC), enzymes capables d'inactiver les β -lactamines au spectre d'activité le plus large et considérés comme antibiotiques de derniers recours. Parmi les carbapénémases, les métallo- β -lactamases (MBL), et plus particulièrement NDM, sont inquiétantes car aucun des nouveaux traitements n'est actif sur ces enzymes. Les objectifs étaient de : 1) mieux comprendre la relation structure-fonction de plusieurs MBL cliniquement pertinentes (IMP, NDM et VIM) par mutagenèse dirigée, cristallographie aux rayons X et la modélisation moléculaire ; 2) de prédire l'impact des mutations sur le profil d'hydrolyse des MBL ; 3) d'utiliser les résultats expérimentaux pour concevoir des molécules chimiques capable d'inhiber les MBL ; 4) de construire une base de données biochimiques et structurales de toutes les β -lactamases.

Résultats majeurs

Au cours de ce projet, plusieurs nouvelles carbapénémases ont été décrites, qu'il s'agisse de MBL (VIM-28, -54, IMP-14, -58, TMB-1, LMB-1, NDM-4, -5, -6, -7, -19), mais aussi la classe A (KPC-5, -6, -7, -14, -18, -31, -33, -39 ; Sme-4 ; IMI-3, -17), et la classe D (de type OXA-48 [OXA-517, -519, -505, -484, -793] ; OXA-427 ; OXA-23 dans *P. mirabilis*). De plus, les performances de plusieurs nouveaux tests de diagnostic des carbapénémases ont été évaluées.

La mutagenèse dirigée basée sur NDM-1 dans la boucle 1 (M61A, V65A et G67A) a entraîné des profils hydrolytiques similaires à ceux de NDM-1. La mutation dans la boucle 3 (K224A) a entraîné une enzyme avec de très faibles propriétés hydrolytiques de β -lactame. De même, les 4 mutants au cœur du site actif (L4, L5 ; notamment D199A et S262A) présentent les phénotypes les plus altérés.

19 mono-mutants aléatoires/sur plus de 1000 analysés ont été caractérisés : (A) 11 étaient situés à proximité des différentes boucles formant le site actif avec 3 types de profils d'antibiogramme : 1) perte totale d'activité, 2) sensibilité intermédiaire par rapport à NDM-1, et 3) un mutant, E149V avec des CMI aux carbapénèmes légèrement augmentées par rapport à NDM-1 ; (B) 8 étaient situés en dehors des boucles connues, mais avec des profils similaires à ceux décrits ci-dessus. Les données cinétiques ont montré que le mutant E149V avait une affinité plus faible pour tous les

β -lactamines par rapport au NDM-1, et une vitesse d'hydrolyse des carbapénèmes deux fois plus élevée par rapport à NDM-1. Nous avons obtenu plusieurs petites molécules capables d'inhiber toutes les MBL, et notamment les NDM avec une IC50 de 100 nM. Le docking et la dynamique moléculaire ont confirmé le mode de liaison attendu de cette série.

Production scientifique et valorisation

Les résultats du projet ont été publiés dans plus de quarante-six articles évalués par des pairs, fait l'objet de trente-quatre présentations orales par de jeunes scientifiques et ont été présentés sous forme d'affiches lors de congrès internationaux et nationaux.

La β -Lactamase DataBase (BLDB, <http://blbd.eu>) a été développée, il s'agit d'une ressource exhaustive contenant toutes les β -lactamases décrites à ce jour dans la littérature, ainsi que les structures cristallographiques de ces enzymes qui ont été déposées dans la banque de données sur les protéines (PDB). Cette base de données sert de référence dans le domaine des β -lactamases

Les résultats de ce projet ont fait l'objet d'un brevet protégeant la série chimique développée : Dipeptides Cys-Trp vs carbapénémases : PCT WO2021/255156 (23/12/2021) [<https://data.inpi.fr/brevets/WO2021255156>].

Le projet DesInMBL est un projet de recherche collaborative international.

Le projet a commencé en décembre 2014 et a duré 48 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 356 824 euros.

PARTENAIRES

Laurent Salmon, Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay

Bogdan Iorga, Institut de Chimie des Substances Naturelles

Youri Glupczynski, CNR Résistance aux antibiotiques, Belgique

Mariusz Jaskolski, Center for Biocrystallographic Research, Pologne

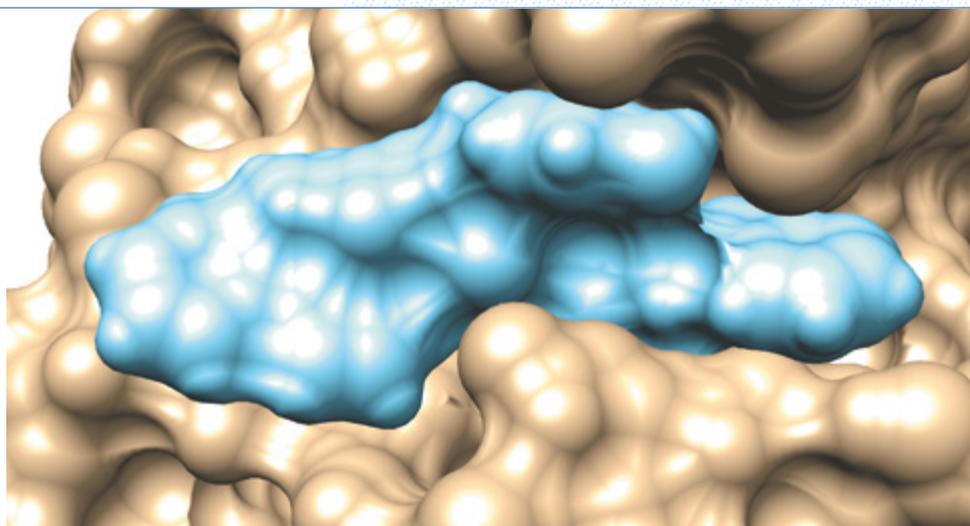
COORDINATEUR

Thierry Naas

thierry.naas@bct.aphp.fr

Immunologie des maladies virales, auto-immunes, hématologiques et bactériennes

Structure du site active de NDM-1 (marron) avec un inhibiteur fixé dans le site actif de l'enzyme (bleu).
© Bogdan Iorga



EFFORT

Développement d'inhibiteurs de pompes d'efflux pour contourner la résistance aux antibiotiques

Rappel des objectifs

Les infections par des bactéries à Gram négatif résistantes aux antibiotiques constituent un risque majeur pour la santé publique et la recherche de nouvelles solutions thérapeutiques dans ce domaine a été déclarée comme une priorité par l'Organisation mondiale de la santé. En plus des mécanismes de résistance spécifiques aux antibiotiques, les bactéries à Gram négatif expriment aussi des pompes d'efflux de la superfamille RND (*Resistance Nodulation Cell Division*) qui sont très efficaces pour expulser de nombreux antibiotiques, les rendant ainsi inactifs. Les niveaux d'expression basale de ces pompes d'efflux constituent le principal obstacle à la découverte et au développement de nouveaux antibiotiques contre les bactéries à Gram négatif, et des mutations conduisant à la surexpression de ces pompes sont responsables de la résistance acquise à certains antibiotiques.

Compte tenu du rôle critique des pompes d'efflux RND dans la résistance des bactéries à Gram négatif, plusieurs inhibiteurs de pompes d'efflux ont été découverts et optimisés, mais aucun n'a encore atteint le stade du développement clinique. À partir des résultats prometteurs obtenus à l'issue d'un criblage phénotypique, ce programme de recherche collaboratif pluridisciplinaire a pour but de développer et de valider une nouvelle structure chimique en tant qu'inhibiteur de pompe d'efflux efficace pour sensibiliser les bactéries à Gram négatif aux antibiotiques.

Résultats majeurs

Ce programme de recherche a réuni des experts européens en microbiologie, biologie moléculaire, chimie médicinale, biologie structurale et dynamique moléculaire, qui ont développé et caractérisé une famille de pyridylpipérazines comme nouveaux inhibiteurs de pompes d'efflux des bactéries à Gram négatif. Cette recherche collaborative a permis de réaliser des avancées majeures concernant ces composés, en améliorant leur puissance et leurs propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques, afin d'identifier des inhibiteurs capables de bloquer complètement l'activité des pompes d'efflux chez *E. coli* et en particulier la pompe d'efflux AcrAB-TolC. L'usage de ces composés permet la resensibilisation des bactéries aux antibiotiques, mimant ainsi les activités obtenues sur des bactéries dépourvues de ce système d'efflux.

Grâce à de nombreuses techniques développées au sein du consortium, le mécanisme d'inhibition de la pompe d'efflux AcrAB-TolC par les pyridylpipérazines a pu être élucidé, et s'est avéré unique par rapport aux inhibiteurs précédemment décrits. En effet, les pyridylpipérazines se lient à une poche allostérique dans la région transmembranaire d'AcrB, où elles interagissent avec des résidus clés impliqués dans le cycle catalytique de cette pompe d'efflux et empêchent la protéine de subir les changements de conformation nécessaires à l'expulsion des antibiotiques.

L'ensemble de ces recherches a donc conduit à l'identification d'une nouvelle classe de molécules qui empêche la résistance bactérienne aux antibiotiques due aux pompes d'efflux RND. Ces résultats ouvrent la perspective de développer les pyridylpipérazines en combinaison de l'antibiothérapie existante pour combattre la résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif et simplifier à l'avenir le développement de nouveaux antibiotiques. Les efforts se concentrent désormais sur la poursuite du développement des pyridylpipérazines comme candidats précliniques.

Production scientifique et valorisation

Plé C. et al., (2022). Pyridylpiperazine-based allosteric inhibitors of RND-type multidrug efflux pumps, *Nat. Commun.* 13, 115.

Flipo M. et al., (2021) Gram-negative bacteria efflux pump inhibitors, *Application number EP21306032.0.*

Le projet EFFORT est un projet de recherche collaborative international.

Le projet a commencé en janvier 2020 et a duré 42 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 498 960 euros.

PARTENAIRES

Marion Flipo, Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Klaas Pos, Goethe University Frankfurt, Allemagne

Achilleas Frangakis, Goethe University Frankfurt, Allemagne

Atillio Vargiu, University of Cagliari, Italie

COORDINATEUR

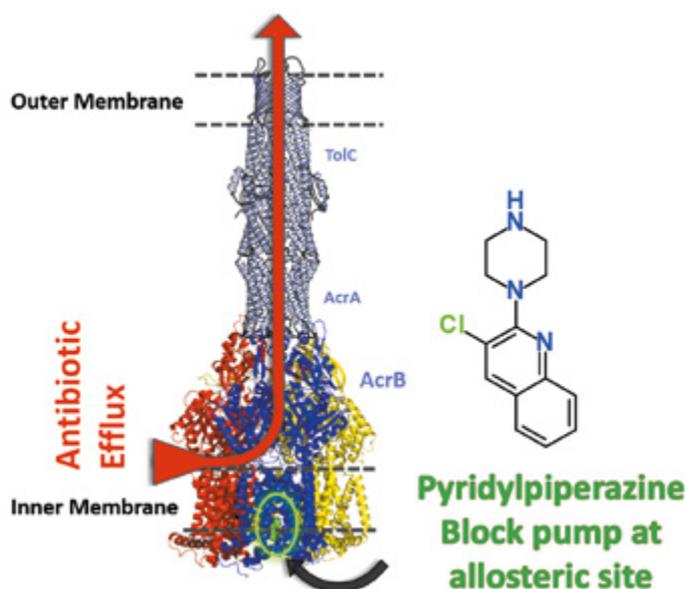
Ruben C. Hartkoorn

ruben.hartkoorn@inserm.fr

Centre d'Infection et d'Immunité de Lille

Image montrant le site de liaison allostérique des pyridylpipérazines dans AcrB, qui empêche l'efflux d'antibiotique médié par AcrAB-TolC et sensibilise les bactéries à de nombreux antibiotiques.

© Ruben C. Hartkoorn d'après Plé, C. et al., (2022). Pyridylpiperazine-based allosteric inhibitors of RND-type multidrug efflux pumps, *Nat. Commun.* 13, 115.



FAREWEL

Combattre la résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* grâce aux Eligobiotics®

Rappel des objectifs

Si les antibiotiques ont révolutionné la médecine moderne, des résistances bactériennes toujours plus nombreuses émergent à un rythme inquiétant, remettant en cause nos acquis médicaux. En Europe, on recense chaque année 670 000 infections à bactérie multirésistante, engendrant un coût de 1,5 milliard d'euros et environ 33 000 décès¹. Face à ce constat, le développement de nouveaux antibiotiques fait défaut.

L'espèce *Escherichia coli* préoccupe tout particulièrement la communauté scientifique. Bien que sa niche soit le tube digestif des vertébrés, où elle vit en commensale, elle agit en pathogène opportuniste et est incriminée dans 36 % des bactériémies, avec une mortalité d'environ 30 % des patients dans le cas d'une infection par une souche antibiorésistante. En particulier, les *E. coli* possédant une enzyme capable de neutraliser les antibiotiques de la famille des β -lactamines (appelées BLSE pour β -Lactamases à Spectre Élargi) sont un problème majeur.

Eligo Bioscience développe une technologie innovante, les Eligobiotics®, vecteurs dérivés de virus ciblant exclusivement les bactéries et capables d'introduire un système CRISPR-Cas dans la bactérie ciblée et de l'éliminer si celle-ci porte une séquence reconnue. Cette technologie peut ainsi être utilisée pour éliminer spécifiquement les *E. coli* du tube digestif, porteuses du gène BLSE, sans toucher aux autres bactéries bénéfiques du microbiote intestinal.

Ce projet ambitionne de concevoir des Eligobiotics® pour éliminer sélectivement les souches *E. coli* BLSE intestinales.

Résultats majeurs

La collaboration avec l'Inserm-Université Paris Cité-IAME a permis d'une part la sélection, parmi près de 30 000 souches, de 125 *E. coli* BLSE isolées de patients, représentant la diversité épidémiologique des souches antibiorésistantes circulantes et fréquemment retrouvées aujourd'hui en clinique, et d'autre part, la caractérisation - via différentes techniques - de cette collection.

En parallèle, Eligo Bioscience a développé des Eligobiotics® capables de transduire le plus grand nombre de souches parmi cette collection et l'Institut Pasteur a mis au point de nouvelles

méthodes d'ingénierie pour étendre la portée des Eligobiotics® à d'autres bactéries dans le futur. Ce travail a permis de générer des Eligobiotics® présentant une efficacité maximale *in vitro* et *in silico*, par itérations successives d'optimisation du vecteur et du système CRISPR-Cas incorporé dans ce vecteur. Enfin, les candidats les plus prometteurs ont été testés sur un modèle animal développé par l'Inserm-Université Paris Cité-IAME afin d'établir la preuve de concept *in vivo*.

Production scientifique et valorisation

Un article scientifique est en cours de préparation sur les résultats du projet.

En parallèle, deux demandes de brevet ont été déposées par Eligo Bioscience (demande WO/2021/250284, publiée en décembre 2021) et par l'Institut Pasteur demande provisoire US n° 63/150563).

¹"Knowledge, funding and action needed to keep antimicrobials working", OMS, Bureau Région Europe.

Le projet FAREWEL est un projet de recherche collaborative entreprises.
Le projet a commencé en novembre 2016 et a duré 54 mois.
Il a bénéficié d'une aide ANR de 534 576 euros.

PARTENAIRES

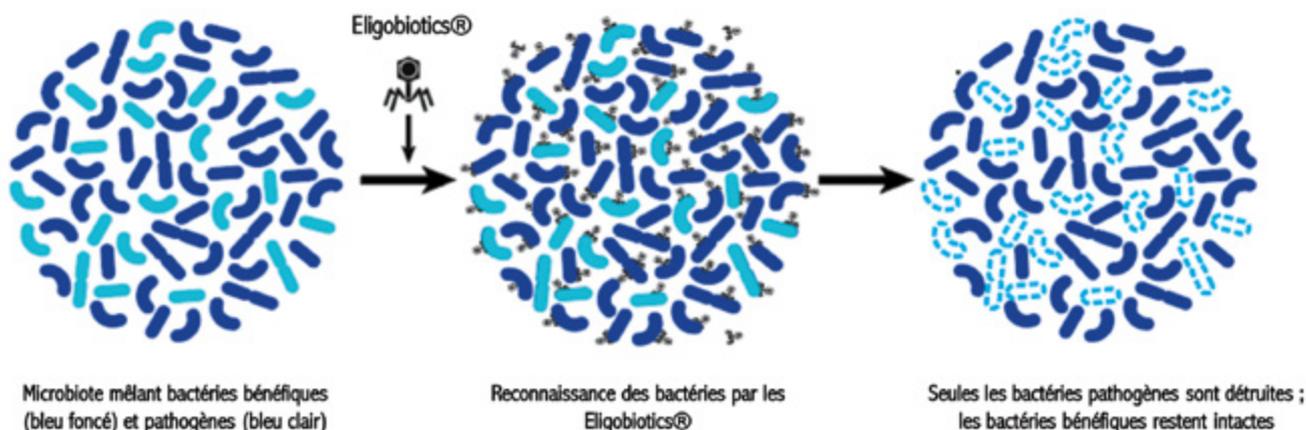
David Bikard, Institut Pasteur
Erick Denamur, Centre de recherche Infection, Antimicrobiens, Modélisation, Evolution

COORDINATEUR

Igor Stzpourginski
igor.stzpourginski@eligo-bioscience.com
Eligo Bioscience

Élimination sélective des bactéries cibles grâce aux Eligobiotics®.

© Eligo Bioscience



GLYCOMIME

Glycomimes ciblant *Pseudomonas aeruginosa* : synthèse, criblage par une technologie de micropuce à ADN et évaluation sur bactéries

Rappel des objectifs

Pseudomonas aeruginosa (PA) est une bactérie à Gram négatif opportuniste inoffensive pour les individus en bonne santé, mais pouvant s'avérer mortelle chez les individus immunodéprimés. Elle est impliquée dans 10 à 15 % des cas de maladies nosocomiales. Elle est aussi la principale cause de mortalité et morbidité des patients atteints de la mucoviscidose. L'émergence de souches multirésistantes aux antibiotiques pose un problème majeur de santé publique. Une alternative aux antibiotiques est l'inhibition des facteurs de virulence de PA impliqués dans l'adhésion aux tissus pulmonaires, l'internalisation cellulaire et la formation de biofilm. Ces phénomènes impliquent la reconnaissance de motifs sucres spécifiques à la surface du tissu cible par des protéines (lectines et adhésines) de la bactérie qui font de celles-ci des cibles thérapeutiques très attrayantes.

L'enjeu de ce programme a été de trouver les meilleurs ligands sucres de ces lectines et adhésines de PA, de concevoir les meilleures architectures moléculaires incorporant ces ligands de façon multivalente (glycoclusters) et de sélectionner les composés les plus actifs contre l'adhésion, l'internalisation et la formation du biofilm de PA.

Résultats majeurs

Plus de 250 glycoclusters dirigés contre les lectines de PA ont été préparés en utilisant une chimie de type LEGO qui permet, à partir d'unités simples, de concevoir des architectures complexes et variées. La synthèse supportée des acides nucléiques, établie depuis plus de trente ans, et la chimie de multiconjugaison de type « Click » donnent un accès rapide à ces nouveaux glycoclusters porteurs d'une étiquette ADN spécifique.

Ceux-ci sont ensuite immobilisés sur une puce à ADN donnant une biopuce à glycoclusters. Ce système miniaturisé permet de déterminer rapidement l'affinité pour une lectine de plusieurs glycoclusters en parallèle, en utilisant des quantités infimes de composés. La modélisation moléculaire a permis de comprendre les paramètres clés sous tendant les interactions. La microscopie de force atomique (AFM) a été utilisée pour mesurer les forces mises en jeu dans l'adhésion d'une bactérie à une cellule épithéliale en l'absence ou

en présence des glycomimes précédemment sélectionnés. L'évaluation anti-infectieuse des glycoclusters s'est faite par inhibition de la formation de biofilm et de l'infection de cellules pulmonaires humaines en culture.

Les six meilleurs composés ont montré une diminution du biofilm de 40 % à 10 μ M et une diminution de l'infection de 50 % à 100 μ M. De plus, des études par AFM ont confirmé que LecA est fortement impliquée dans l'étape d'adhésion.

Finalement, un glycocluster testé sur des souris a confirmé le pouvoir anti-infectieux avec une forte augmentation de leur survie après infection par PA et une diminution de la dissémination bactérienne des poumons vers la rate.

Production scientifique et valorisation

Nous avons démontré que cette stratégie était efficace pour accélérer la découverte de nouvelles molécules anti-infectieuses contre le *Pseudomonas aeruginosa*. Nous avons pu établir l'efficacité de ces molécules au niveau du petit animal. Leurs mécanismes d'action ont été décryptés depuis le niveau moléculaire, au niveau de la bactérie/cellule unique jusqu'aux essais *in vitro* et *in vivo*. Ces travaux ont donné lieu à onze publications dans des revues internationales, à un brevet et à plus de trente contributions scientifiques.

Le projet GLYCOMIME est un projet de recherche collaborative. Le projet a commencé en mars 2013 et a duré 45 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 520 000 euros.

PARTENAIRES

Sébastien Vidal, Institut de Chimie et Biochimie Moléculaires et Supramoléculaires

Eliane Souteyrand, Institut des Nanotechnologies de Lyon

Olivier Vidal, Unité de glycobiologie structurale et fonctionnelle

COORDINATEUR

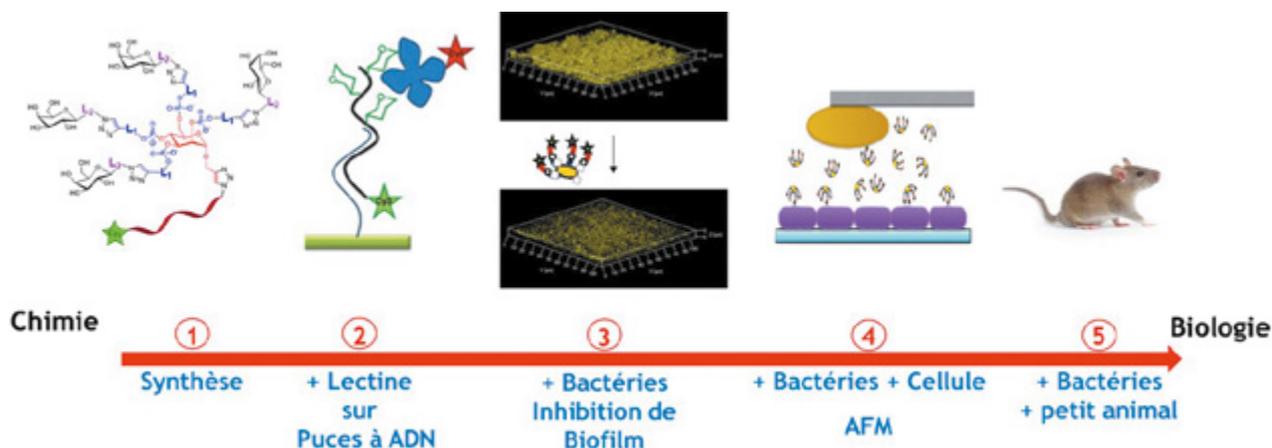
Jean-Jacques Vasseur

jean-jacques.vasseur@umontpellier.fr

Institut des biomolécules Max Mousseron

Synthèse (1), sélection sur puces à ADN des composés les plus affins pour les lectines bactériennes (2), détermination de l'effet antibiofilm (3) et anti-adhésif (4) et de l'effet anti-infectieux sur petit animal (5).

© Jean-Jacques Vasseur



Imperio

Implants se formant *in situ* pour le traitement des parodontites

Rappel des objectifs

La parodontite est une maladie inflammatoire chronique d'étiologie infectieuse à très forte prévalence, conduisant à la destruction des tissus de soutien de la dent et, finalement, à son déchaussement. Un adulte sur deux aux États-Unis présente une parodontite légère, modérée ou sévère. Le traitement de la parodontite est difficile car la répartition du principe actif vers les sites d'action (les poches parodontales) est limitée. Ainsi, de fortes concentrations en principe actif sont requises, exposant le patient à de graves effets secondaires. De plus, l'efficacité thérapeutique est limitée malgré l'existence de molécules très actives. Ces obstacles peuvent être surmontés en recourant aux formes galéniques à libération contrôlée locale. Différents systèmes ont été proposés, néanmoins la plupart contiennent des antibiotiques et souffrent d'un manque d'adhérence, combiné à des propriétés mécaniques inappropriées. Il en résulte un risque accru d'antibiorésistance et une expulsion incontrôlée du système au cours du traitement.

L'objectif de ce projet était d'adresser ces problèmes et de développer des implants innovants se formant *in situ*: (1) faciles à injecter, (2) se répandant au sein des poches et adaptant leur géométrie et taille aux besoins individuels, (3) avec des temps de résidence fiables, (4) contrôlant la libération d'actifs non-antibiotiques dans le temps.

Résultats majeurs

De nouveaux prototypes d'implants se formant *in situ*, chargés en chlorhexidine et ibuprofène ont été développés, permettant la libération simultanée des deux actifs à des vitesses préprogrammées. Différents types de principes actifs et un agent matriciel biodégradable et biocompatible ont été dissouts dans un solvant. Ces liquides ont été injectés dans un milieu aqueux simulant le contenu des poches parodontales. En présence d'eau, le solvant diffuse hors du système, induisant la précipitation de l'agent matriciel. Ce dernier emprisonne alors le principe actif : l'implant est ainsi formé *in situ* et libère les actifs de manière contrôlée dans le temps directement au site d'action. *In vivo*, cela conduit à des concentrations en principes actifs optimisées au sein des poches parodontales et, ainsi, à une efficacité thérapeutique optimale. De plus, l'exposition du reste du corps au principe actif est réduite et, ainsi, les effets secondaires indésirables sont minimisés. Les cinétiques de libération résultantes ont été suivies, ainsi que les temps de rétention et les cinétiques de dégradation au site d'action. Des techniques d'imagerie de pointe (basées sur la spectrométrie de masse) ont également été utilisées pour caractériser en détail les systèmes (par exemple, le suivi de la distribution des actifs dans l'environnement). Les formulations liquides sont plus faciles à injecter que les produits commerciaux existants et les implants résultants montrent

une adhésion supérieure. La libération des actifs est contrôlée sur plusieurs semaines. Les essais microbiologiques ont également démontré l'efficacité de ces implants dépourvus d'antibiotiques sur des souches issues de patients atteints de parodontites. De plus, un modèle murin de parodontite a permis de démontrer *in vivo* le bénéfice clinique de ces nouveaux systèmes innovants sur la régénération parodontale.

Ce projet a permis également à de nouvelles collaborations d'être initiées, notamment sur les relations entre la parodontite et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

Production scientifique et valorisation

Agossa K. et al. (2017) *International Journal of Pharmaceutics*. 521, 282-293.

Batool, F. et al. (2018) *Materials*. 11, 580.

Elisei E. et al. (2018) *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 107, 121-126.

Batool F. et al. (2018) *Nanomaterials*. 16, E337.

Petit C. et al. (2019) *Mediators of Inflammation*. 2019, 6367402.

Aguilar A. et al. (2019) *Molecules* 24, 3009.

Lizambard M. et al. (2019) *International Journal of Pharmaceutics*. 572, 118833.

Batool F. et al. (2019) *International Journal of Pharmaceutics* 569, 118564.

Agossa K. et al. (2020) *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 60, 101956.

De plus, le projet a donné lieu à trente-deux communications orales et par affiches lors de conférences scientifiques nationales et internationales, trois d'entre elles ont été récompensées par la Société Française de Parodontologie et d'Implantologie Orale (SFPIO) et l'IADR (International Association for Dental Research).

Le projet Imperio est un projet de recherche collaborative – entreprises.

Le projet a commencé en mars 2015 et a duré 48 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 796 993 euros.

PARTENAIRES

Jean-François Willart, Unité Matériaux et Transformations

Monique Capron, Institute for Translational Research in Inflammation

Jonathan Stauber, ImaBiotech

Olivier Huck, Regenrative NanoMedicine

COORDINATRICE

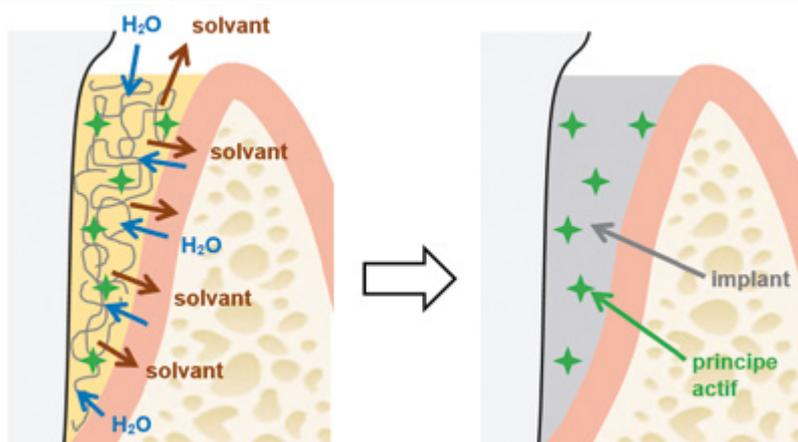
Florence Siepmann

florence.siepmann@univ-lille.fr

Inserm, Advanced Drug Delivery Systems

Après contact avec les fluides biologiques, un implant solide se forme *in situ* dans la poche parodontale du patient et contrôle localement la libération de principes actifs non antibiotiques pour traiter la parodontite.

© Florence Siepmann



PerfoBac

Comment les bactériophages perforent-ils la paroi des bactéries ?

Rappel des objectifs

Les bactériophages ou phages, les virus qui infectent les bactéries, sont les entités vivantes les plus abondantes sur Terre. Ils ont un impact profond sur les cycles biogéochimiques mondiaux et sur le climat, exercé par des effets sur l'écologie microbienne marine. Ils sont présents dans tous les biotopes, de l'atmosphère à la biosphère profonde et jusqu'à notre intestin. Les phages commencent à être utilisés dans une grande variété d'applications, la plus prometteuse étant leur utilisation comme agents antibactériens dans le traitement des infections humaines et animales liées à des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. Lors de l'infection de la bactérie, les phages perforent la paroi cellulaire bactérienne, permettant l'injection de leur ADN dans le cytoplasme de l'hôte. Cette première étape est suivie par la réplication virale et finalement la libération des nouveaux virions produits, tuant la cellule hôte. La perforation de la paroi cellulaire dans le cas des phages à longue queue contractile est bien décrite. Cependant, on en sait encore très peu sur 60 % des phages qui portent une longue queue flexible. L'objectif de ce projet a donc été de comprendre, via une approche structurale, comment ces phages, en particulier le phage T5, perforent la paroi bactérienne

Résultats majeurs

Afin de répondre à la question posée, nous avons eu recours à des technologies de pointe : biochimie des protéines membranaires et microscopie électronique. En effet, afin de reproduire l'interaction du phage avec la paroi bactérienne, nous avons inclus le récepteur bactérien dans un petit patch de membrane, mimant ainsi son environnement naturel et permettant sa manipulation aisée *in vitro*. Par ailleurs, la microscopie électronique a récemment connu des avancées technologiques incroyables, permettant aujourd'hui d'avoir accès à la structure de particules de grosses tailles, à des résolutions (quasi) atomiques. Un nouveau microscope a été installé à l'IBS (Glacios) à la mi-2018, précédé d'un autre plus puissant encore en 2017 à l'ESRF (Krios). Le projet a largement utilisé et bénéficié de ces instruments de pointe qui sont encore rares au niveau national.

Nous nous sommes, dans un premier temps, intéressés au tube de la queue du phage T5, un phage modèle, membre de la famille de la série T référencée par Delbrück et collègues dans les années 1940. Le tube caudal est formé par la polymérisation de la protéine majeure de queue, pb6, autour de la protéine vernier pb2 qui en détermine la longueur. Nous avons déterminé la structure pb6

par diffraction des rayons X sur des cristaux du monomère de la protéine. Nous avons ensuite déterminé la structure du tube de la queue par microscopie cryo-électronique, avant et après interaction du phage avec son récepteur bactérien (voir figure), et avons pu montrer que les deux structures étaient identiques : l'information de reconnaissance de l'hôte n'est pas transmise jusqu'à la capsid par le tube, mais plutôt par l'expulsion de pb2. Nous avons ensuite entrepris de déterminer la structure de l'organe qui reconnaît l'hôte dans deux conformations, avant et après interaction avec le récepteur bactérien.

Production scientifique et valorisation

Publications

Linares R. et al., (2020) Structure, function and assembly of the long, flexible tail of siphophages. *Curr. Opin. Virol.* 45:34-42. (review)

Arnaud C. -A. et al., (2017) Bacteriophage T5 tail tube structure suggests a trigger mechanism for *Siphoviridae* DNA ejection. *Nat. Commun.* 8, 1953.

Fraga H. et al., (2017) *Chem. Phys. Chem.*

Laumay F. et al., (2020) «French Phage Network» Annual Conference-Fifth Meeting Report, *Viruses*. Apr 14;12(4):446.

Froissart R. et al., (2019) «French Phage Network» Annual Conference 2018-Fourth Meeting Report, *Viruses*. May 23;11(5). pii: E470.

Neumann E. et al., (2017) The resolution revolution in cryo-electron microscopy, *Med. Sci. (Paris)*. 33, 1111-1117.

Communications

Vingt-et-un présentations au national et à l'international, dont vingt-et-unes conférences orales et invitées.

Cinq articles et quatorze conférences de vulgarisation.

Le projet PerfoBac est un projet de recherche collaborative.

Le projet a commencé en janvier 2017 et a duré 45 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 225 802 euros.

PARTENAIRE

Guy Schoehn, Institut de Biologie Structurale

COORDINATRICE

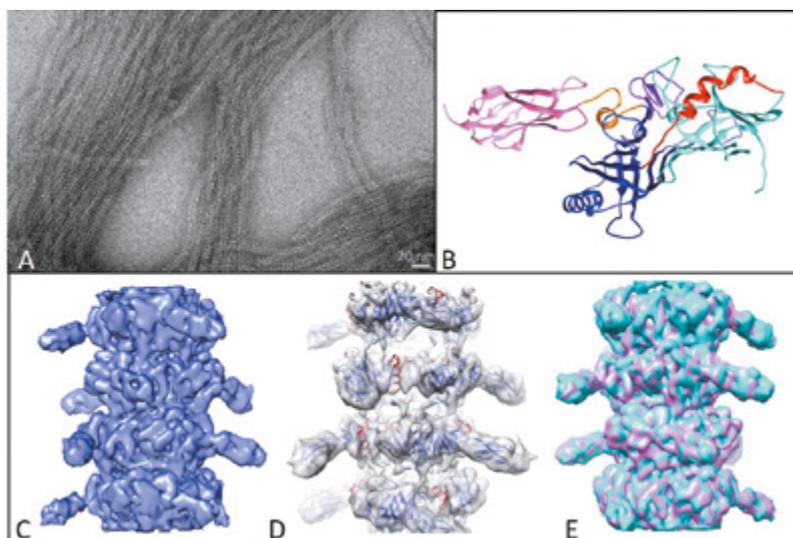
Cécile Breyton

cecile.breyton@ibs.fr

Institut de Biologie Structurale

Analyse structurale de la protéine majeure du tube caudal du phage T5, pb6. Fibres insolubles formées lors de la surexpression de pb6 (A). Structure aux rayons X de pb6 en représentation ruban. Les domaines bleu et cyan ont le même repliement (duplication de domaine). Vert : domaine de type Ig. Orange, rose et rouge : liens (B). Structure par cryo-EM du tube caudal de T5 à une résolution de 6 Å (C). La même structure, avec la structure cristalline de pb6 ajustée dans la densité de cryo-EM, colorée selon le facteur B du cristal (D). Superposition du tube de queue de T5 avant (cyan) et après infection (magenta) (E).

© Image de microscopie électronique prise par la plateforme de microscopie électronique de l'IBS (A) ; Cécile Breyton (B-E)



PPTases

Les phosphopantéthéinyl transférases, des cibles thérapeutiques pour lutter contre les infections bactériennes et l'antibiorésistance

Rappel des objectifs

Les phosphopantéthéinyl transférases (PPTases) catalysent le transfert d'une partie du coenzyme A sur des domaines protéiques spécifiques des systèmes de synthèse d'acides gras, de polykétides ou de peptides non ribosomiaux. Les PPTases activent ainsi des familles importantes de protéines impliquées dans la biosynthèse d'une large gamme de composés organiques complexes du métabolisme, biologiquement très actifs, et qui contribuent à la croissance, la virulence, la pathogénicité et la résistance bactérienne. En raison de ce rôle central, les PPTases représentent des cibles thérapeutiques nouvelles et intéressantes. L'objectif de ce projet était d'identifier des molécules qui présentent une activité inhibitrice des PPTases d'agents pathogènes sévères de l'homme pour le développement de nouveaux agents antibactériens et de lutter contre l'antibiorésistance. Les bactéries ciblées comprennent *Mycobacterium tuberculosis*, l'agent responsable de la tuberculose ; *Mycobacterium abscessus* et *Pseudomonas aeruginosa*, responsables d'infections pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose ; et des souches d'*Escherichia coli*, pathogènes extra-intestinaux (ExPECs). Les objectifs prévus étaient de purifier et de caractériser l'activité et la structure tridimensionnelle des PPTases sélectionnées, d'identifier par criblage des inhibiteurs de leur activité, d'améliorer par synthèse chimique l'effet inhibiteur et de valider leur propension à inhiber la croissance ou la virulence des bactéries.

Résultats majeurs

Nous avons purifié, cristallisé et déterminé la structure de quatre des cinq PPTases sélectionnées. Elles ont été caractérisées d'un point de vue biochimique afin de mieux comprendre leur mécanisme d'action. Des tests permettant le criblage à haut débit sur cellules entières ont été mis au point. Ceux-ci, couplés à d'autres méthodes de criblage basées sur des approches biophysiques et structurales, ont permis d'identifier des inhibiteurs potentiels et de tester des molécules identifiées par d'autres groupes. Toutefois, aucune molécule tête de série susceptible d'entrer dans une phase préclinique n'a pu être développée. Les outils et les ressources que nous avons mis en place nous ont cependant permis d'acquérir une très grande expertise et un certain nombre d'avancées d'un point de vue fondamental ont été acquises. Six articles ont été publiés dans des revues scientifiques, d'autres sont en cours de rédaction, et un brevet international a été obtenu. Dix structures cristallographiques ont été déposées dans la *Protein Data Bank*, la ressource mondiale des structures de macromolécules biologiques. Par ailleurs,

nous avons montré que la PPTase impliquée dans la virulence des ExPECs avait aussi un rôle central dans les propriétés probiotiques de la souche *Escherichia coli* Nissle 1917, en participant à la production de molécules qui confèrent une activité antagoniste contre des bactéries pathogènes comme *Salmonella*.

Production scientifique et valorisation

Carivenc C. et al., (2021) Phosphopantetheinyl transferase binding and inhibition by amidino-urea and hydroxypyrimidinethione compounds, *Sci. Rep.* 11:18042.

Massip C. et al., (2020) The synergistic triad between microcin, colibactin, and salmochelin gene clusters in uropathogenic *Escherichia coli*, *Microbes Infect.* 22:144-147.

Maveyraud L. et al., (2020) Protein X-ray Crystallography and Drug Discovery, *Molecules.* 25:1030.

Nguyen M. C. et al., (2020) Conformational flexibility of coenzyme A and its impact on the post-translational modification of acyl carrier proteins by 4'-phosphopantetheinyl transferases, *FEBS J.* 287:4729-4746.

Massip C. et al., (2019) Deciphering the interplay between the genotoxic and probiotic activities of *Escherichia coli* Nissle 1917, *PLOS Pathog.* 15:e1008029.

Un brevet a été déposé : Oswald E. Nougayrède J.P., Massip C, Martin P. Branchu P. Modified *Escherichia coli* strain Nissle and treatment of gastrointestinal disorder. Brevet PCT/EP2020/069124.

Dix structures 3D ont été déposées dans la *Protein Data Bank*.

Le projet PPTases est un projet de recherche collaborative.
Le projet a commencé en novembre 2016 et a duré 59 mois.
Il a bénéficié d'une aide ANR de 593 261 euros.

PARTENAIRES

Christian Chalut, Institut de pharmacologie et de biologie structurale
Yves Génisson, Laboratoire de Synthèse et Physico-Chimie de Molécules d'Intérêt Biologique

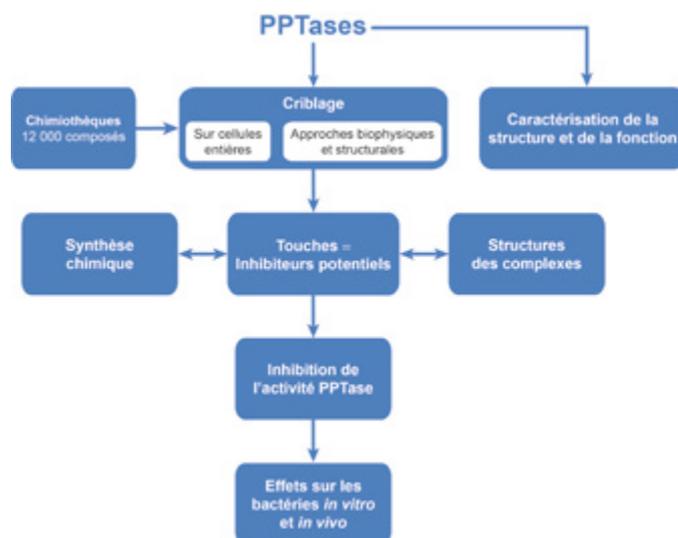
Eric Oswald, Institut de Recherche en Santé Digestive

COORDINATEUR

Lionel Mourey
lionel.mourey@ipbs.fr
Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale

Schéma de la stratégie adoptée pour la découverte et la conception d'inhibiteurs des PPTases.

© Lionel Mourey (IPBS)



RUMBA

Caractérisations biochimique, structurale et fonctionnelle des peptides antimicrobiens RumC, une famille de bactériocines comme alternative viable aux antibiotiques conventionnels

Rappel des objectifs

Depuis la découverte de la pénicilline en 1928, les antibiotiques ont largement été développés et utilisés pour lutter contre les infections microbiennes. Cependant, un emploi inadapté et une utilisation excessive de ces molécules a conduit à l'apparition de pathogènes résistants à de nombreuses, voire à toutes les classes d'antibiotiques. L'Organisation mondiale de la santé prédit que les pathogènes multirésistants provoqueront la mort de 10 millions de personnes par an à l'horizon 2050, dépassant ainsi le nombre de décès liés au cancer. Il est donc urgent de développer des stratégies innovantes et de trouver de nouvelles molécules, idéalement naturelles, pour pallier les phénomènes de résistance. Une alternative prometteuse, très documentée ces dernières années, concerne les peptides antimicrobiens. Dans ce contexte, les bactéries représentent un trésor de nombreuses classes de peptides antimicrobiens naturels, plus connus sous le nom de bactériocines.

Nos travaux concernent *Ruminococcus gnavus*, une bactérie présente dans le tube digestif d'environ 90 % de la population. Cette souche produit cinq bactériocines, les ruminococcines C1 à C5. Le projet couvre un large éventail de disciplines, allant de la microbiologie et la biochimie à la biologie structurale. Les objectifs sont de comprendre les voies de biosynthèse des peptides RumC et de caractériser ces composés sur le plan biochimique, fonctionnel et structural. Les étapes clés du projet comprennent la production des peptides RumC, l'identification des modifications moléculaires des bactériocines et l'activité biologique de ces composés sur différents pathogènes résistants et multirésistants.

Résultats majeurs

Le projet RUMBA a permis de synthétiser *in vitro* des peptides RumC identiques aux peptides d'origine naturelle. Nous avons déterminé la structure tridimensionnelle de RumC1 et évalué son potentiel thérapeutique. RumC1 révèle un motif structural original très compact en double épingle non décrit jusqu'ici. Cette structure confère à RumC1 des caractéristiques très intéressantes, qui font souvent défaut aux peptides antimicrobiens pour être considérés en développement clinique, telles qu'une grande résistance aux conditions physiologiques et à différents traitements physicochimiques. Ces

points s'avèrent également cruciaux pour envisager une production de RumC1 à grande échelle. RumC1 possède des propriétés essentielles pour un candidat-médicament destiné à traiter des infections intestinales, notamment parce qu'il est actif à très faibles doses contre des pathogènes cliniques de l'intestin résistants aux antibiotiques, mais aussi car il a montré une efficacité nettement supérieure à celle de la vancomycine sur un modèle animal d'infection bactérienne. De plus, ce composé n'a pas montré de toxicité envers les tissus cellulaires intestinaux. Ces résultats prometteurs constituent une base solide pour franchir une étape supplémentaire dans l'utilisation thérapeutique des bactériocines RumC, seules ou en combinaison avec d'autres agents antimicrobiens, pour la santé humaine ou animale.

Production scientifique et valorisation

Chiumento S. et al., (2019) Ruminococcin C, a promising antibiotic produced by a human gut symbiont, *Sci. Adv.* 5.

Roblin C. et al., (2020) The unusual structure of Ruminococcin C1 antimicrobial peptide confers clinical properties, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 117: 19168.

Roblin C. et al., (2021) The Multifunctional Sactipeptide Ruminococcin C1 Displays Potent Antibacterial Activity In Vivo as Well as Other Beneficial Properties for Human Health, *Int. J. Mol. Sci.* 22: 3253.

Le projet RUMBA est un projet de recherche collaborative.

Le projet a commencé en octobre 2016 et a duré 48 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 480 000 euros.

PARTENAIRES

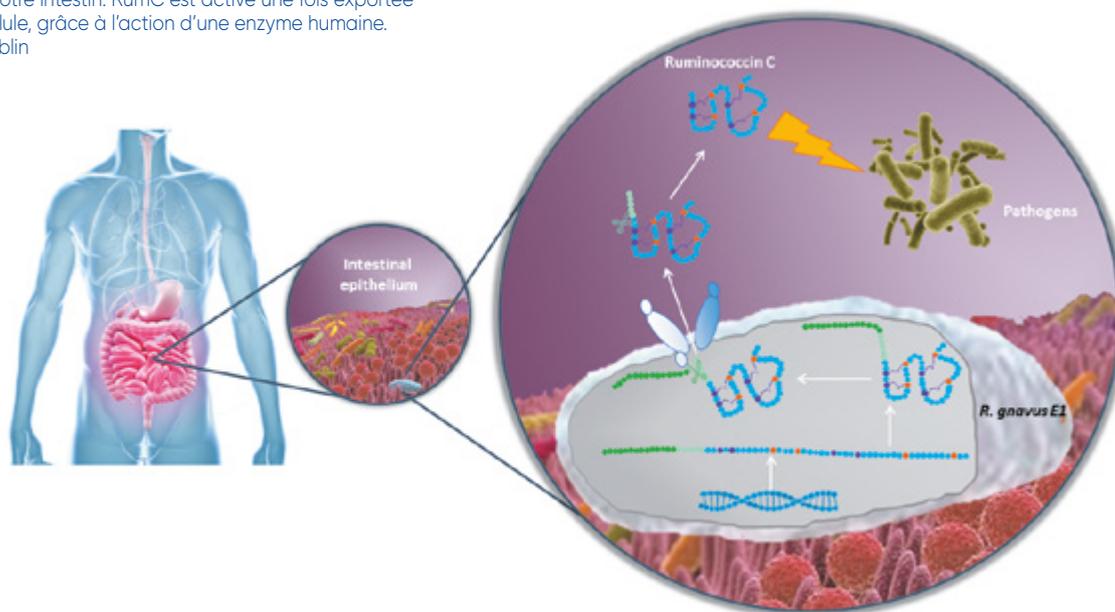
Josette Perrier, Institut des Sciences Moléculaires de Marseille
Françoise Guerlesquin, Institut de Microbiologie de la Méditerranée
Estelle Devillard, ADISSEO France SAS

COORDINATEUR

Victor Duarte
victor.duarte@cea.fr
Laboratoire de Chimie et Biologie des Métaux

La ruminococcine C est naturellement produite par une bactérie vivant dans notre intestin. RumC est active une fois exportée hors de la cellule, grâce à l'action d'une enzyme humaine.

© Clarisse Roblin



sPECTRAL

Utilisation de la photochimie pour l'élaboration de revêtements biosourcés antibactériens

Rappel des objectifs

La réduction drastique des bactéries sur les surfaces en milieu hospitalier est un problème majeur de santé publique. La prévention contre l'adhésion et la prolifération des bactéries permettrait de réduire les infections et réduirait considérablement les dépenses engagées par les hôpitaux pour combattre ces maladies. Actuellement, la synthèse des revêtements antibactériens souffre de problèmes majeurs comme un temps de synthèse élevé (la synthèse des revêtements peut se faire en plusieurs heures par les procédés thermiques), des problèmes de durabilité (les propriétés antibactériennes diminuent au cours du temps) et des problèmes de toxicité car l'utilisation de solvants, et donc le relargage de composés organiques volatils, est récurrent.

L'approche proposée dans ce projet pour la synthèse de nouveaux revêtements antibactériens en un temps réduit, dans des conditions d'irradiation douce (procédé de photopolymérisation), visait à : 1) réduire la quantité d'énergie requise pour la synthèse chimique des revêtements ; 2) éliminer la dispersion de produits chimiques nocifs dans l'environnement car les revêtements sont synthétisés sans solvant ; 3) maximiser l'utilisation de ressources renouvelables pour réduire le coût des revêtements (avec l'utilisation d'huiles végétales époxydées par exemple) ; 4) développer des revêtements avec des propriétés antibactériennes durables.

Résultats majeurs

Le projet sPECTRAL a répondu à ces questions en utilisant un éventail large de monomères biosourcés et de colorants naturels photo-polymérisables sous lumière visible, pour générer des matériaux antibactériens performants. Les résultats du projet se décomposent en trois grands axes :

- 1. La synthèse de matériaux antifouling à partir de dérivés biosourcés :** l'idée a été de synthétiser des revêtements biocides par contact à partir de monomères présentant des propriétés antibactériennes intrinsèques comme les dérivés de l'eugénol, et du limonène, en utilisant du β -carotène comme photoamorceur.
- 2. La synthèse de revêtements antibactériens à partir des colorants naturels :** une nouvelle méthode a été développée, consistant à utiliser les colorants naturels (curcumin, paprika, quercétin) comme photo-amorceurs de la polymérisation radicalaire et cationique mais également comme générateurs d'agents biocides. Une fois introduit dans notre matériau final, les colorants peuvent former, sous illumination dans le visible, et en présence d'oxygène, des espèces oxygénées réactives qui vont induire la mort

des bactéries à la surface du matériau. Les résultats très encourageants ont indiqué une capacité de nos matériaux à réduire considérablement l'adhésion bactérienne des bactéries à Gram positif sur les surfaces.

- 3. Impression 3D et matériaux recyclables antibactériens :** les principaux résultats de ces études indiquent que l'ajout de fonctions réactives photopolymérisables (époxydes, vinyliques, méthacrylates) sur les colorants naturels utilisés comme photo-amorceurs, permet d'éviter leur relargage, diminuant ainsi leur toxicité. De nouvelles structures complexes ont pu également être réalisées à partir de ces colorants et de l'huile de soja par impression 3D. Un dernier point très important est la démonstration de la recyclabilité de nos matériaux : après plusieurs cycles de tests antibactériens, les colorants emprisonnés dans nos matériaux sont toujours capables de former des espèces oxygénées réactives sous activation lumineuse, augmentant ainsi la durée de l'activité antibactérienne des matériaux contre les *Staphylococcus aureus*.

La technologie développée dans ce projet ANR ouvre une nouvelle voie intéressante dans la synthèse des matériaux antibactériens à faible coût, mais également offre une perspective intéressante, à savoir l'exploitation des dérivés de porphyrines et de phthalocyanines comme photo-amorceurs des polymérisations radicalaire et cationique, et comme agent biocide (puisque'ils sont susceptibles de générer des concentrations élevées d'espèces oxygénées réactives). De nouvelles collaborations et de nouveaux partenariats scientifiques en France (Montpellier, Orsay, Paris) et à l'étranger (Turquie, USA, Australie, Italie), mais également avec le milieu hospitalier (hôpital Henri-Mondor) ont ainsi vu le jour.

Production scientifique et valorisation

L'ensemble du projet sPECTRAL a généré quinze publications dans des journaux internationaux à comité de lecture, un chapitre de livre, onze conférences nationales et internationales, six posters et trois séminaires invités.

Le projet sPECTRAL est un projet jeunes chercheuses et jeunes chercheurs. Ce projet a débuté en octobre 2016 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 256 044 euros.

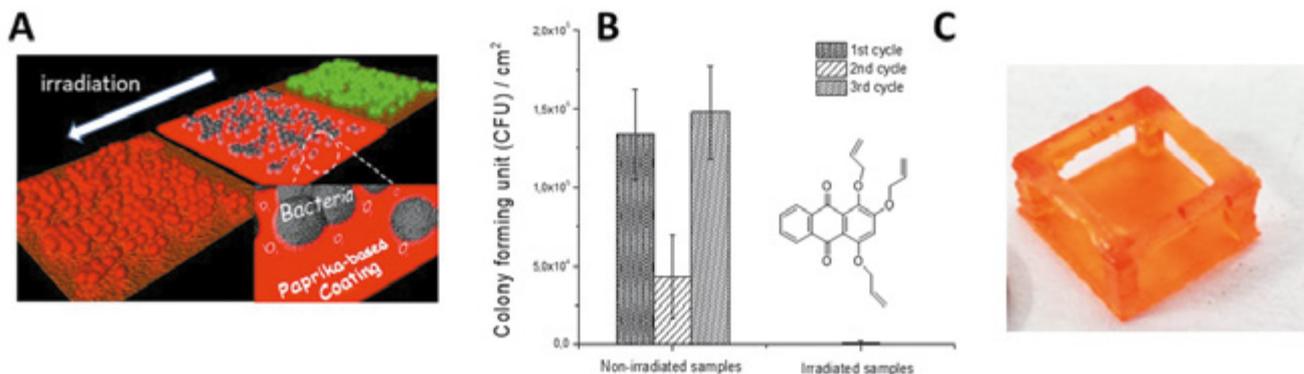
COORDINATEUR

Davy-Louis Versace

davy-louis.versace@u-pec.fr

Institut de Chimie et des Matériaux Paris-Est

Inactivation photodynamique des bactéries du revêtement à base de paprika (A). Évolution de l'unité de formation de colonies à la surface du matériau à base de purpurine après trois expériences de cycle antibactérien (B). Impression 3D de matériaux à base de purpurine (C).
© Adaptation de Sautrot-Ba et al., (2021) *Polym. Chem.* et Sautrot-Ba et al., (2018) *ACS Sustainable Chem. Eng.*



Tea-4-Two

Reprogrammation de la bioactivation des thioamides comme alternative antituberculeuse (Thioamide activation for the tuberculosis world)

Rappel des objectifs

L'émergence à l'échelle mondiale de la tuberculose (TB) résistante aux antibiotiques inquiète au plus haut point les états et instances internationales de santé publique. D'importants besoins thérapeutiques sont requis pour surmonter l'apparition croissante des bacilles tuberculeux résistants aux antibiotiques actuels. Malgré quelques récents succès, des antibiotiques innovants capables de raccourcir le temps de traitement, d'améliorer la tolérance des patients, tout en surmontant le problème de la résistance restent à découvrir. Tea-4-Two visait à développer un concept thérapeutique novateur basé sur le développement de « molécules-boosters » capables d'hyper-sensibiliser les bactéries résistantes à l'antibiotique éthionamide (ETH). Le projet s'est construit sur des résultats fondamentaux identifiés par nos équipes montrant que l'ETH doit être activé par la bactérie pour devenir efficace. Dans un précédent projet, nous avons développé des « boosters » qui stimulent le processus de bioactivation de l'ETH, rendant les bactéries plus sensibles à cet antibiotique. Bien que très efficace sur bactéries sensibles, cette approche s'est montrée inefficace sur certaines bactéries résistantes à l'ETH. Le programme Tea-4-Two a permis d'identifier une voie d'activation alternative de l'ETH, « endormie » dans le génome de la bactérie. L'objectif du projet a été de comprendre les mécanismes de régulation de cette voie d'activation et de développer des molécules capables de la « réveiller » afin d'identifier un candidat clinique.

Résultats majeurs

La stratégie de potentialisation de l'activité d'antibiotiques a déjà été utilisée avec succès avec la combinaison d'acide clavulanique et d'un analogue de la pénicilline. Avec notre approche, Tea-4-Two pousse plus loin ce concept en proposant des molécules, qui non seulement contournent les mécanismes de résistance à l'ETH, mais augmentent également considérablement la sensibilité à l'ETH de toutes les souches testées à ce jour. Les résultats principaux de Tea-4-Two sont d'une part la description d'une voie d'activation de l'ETH physiologiquement silencieuse dans la bactérie, et d'autre part, la découverte et le développement de molécules-boosters efficaces et de « drug-like », capables de réveiller cette voie d'activation. Les molécules-boosters optimisées se sont révélées non-seulement actives *in vitro*, mais également *in vivo* sur des souris infectées par une souche clinique de tuberculose résistante à l'ETH. Ces résultats ont été publiés dans plusieurs revues scientifiques, dont *Science*. L'approche utilisée dans ce travail sert aujourd'hui de base au développement de boosters de troisième génération en collaboration avec la biotech suisse Bioversys et le laboratoire pharmaceutique GlaxoSmithKline. Les essais cliniques

de phase 1, qui évaluent l'innocuité d'un de nos boosters chez l'humain, ont été réalisés avec le soutien du programme européen IMI (6 millions d'euros-Innovative Medicines Initiative) et viennent de se terminer avec succès en avril 2022. Les essais de phase 2, démontrant l'efficacité du traitement chez le patient infecté, débiteront fin 2022 en Afrique du Sud.

Production scientifique et valorisation

Prevet H. et al., (2019) A fragment-based approach towards the discovery of N-substituted tropinones as inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* transcriptional regulator EthR2, *Eur. J. Med. Chem.* 167, 426-438.

Tanina, A. et al., (2018) A comprehensive analysis of the protein-ligand interactions in crystal structures of *Mycobacterium tuberculosis* EthR., *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom.*1867(3):248-258.

Prieri M. et al., (2018) Efficient analoging around ethionamide to explore thioamides bioactivation pathways triggered by boosters in *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur. J. Med. Chem.* 159: 35-46.

Wohlkönig A. et al., (2017) Structural analysis of the interaction between spiroisoxazoline SMART-420 and the *Mycobacterium tuberculosis* repressor EthR2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 487.

Blondiaux N. et al., (2017) Reversion of antibiotic resistance in *Mycobacterium tuberculosis* by spiroisoxazoline SMART-420, *Science*. 355.

Costa-Gouveia J. et al., (2017) Combination therapy for tuberculosis treatment: Pulmonary administration of ethionamide and booster co-loaded nanoparticles, *Sci. Rep.* 7(1):5390.

Des brevets ont été licenciés à Bioversys et GSK : WO2019034702, WO2019034701, WO2019034700.

Le projet Tea-4-Two est un projet de recherche collaborative.

Le projet a commencé en octobre 2014 et a duré 54 mois.

Il a bénéficié d'une aide ANR de 450 000 euros.

PARTENAIRES

Nicolas Willand, Institut Pasteur de Lille

Vanessa Mathis, Laboratoire de pathologie moléculaire, Belgique

Guy Lippens, Laboratoire de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle

Alexandre Wohlkönig et René Wintjens, Université Libre de Bruxelles, Belgique

COORDINATEUR

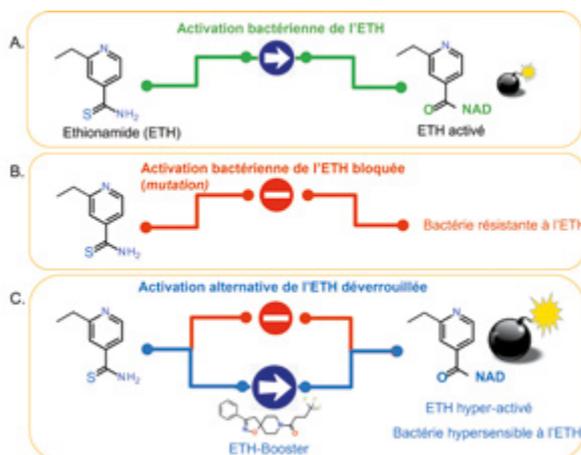
Alain Baulard

alain.baulard@pasteur-lille.fr

Institut Pasteur de Lille

Description de toutes les stratégies qui ont conduit à la découverte de deux nouvelles voies de bioactivation (EthR2/EthA2 et VirS/MymA) toutes deux ciblées par de petites molécules (SMART-420, SMART-751 et BVL-GSK098).

© Nicolas Willand et Alain Baulard





LERMIT - Carbapénèmes	79
LERMIT - MALDIxin	80
IBEID	81



LERMIT – Carbapénèmes

Laboratoire de Recherche sur le Médicament
et l'Innovation Thérapeutique



Rappel des objectifs

La lutte contre l'antibiorésistance est probablement l'un des plus grands défis de santé publique auxquels nos sociétés sont confrontées, notamment avec l'émergence d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC). Cette lutte nécessite des outils diagnostiques performants, peu onéreux et une meilleure compréhension des enzymes responsables de la destruction des β -lactamines afin de développer de nouvelles molécules thérapeutiques, ainsi qu'une meilleure compréhension des mécanismes génétiques conduisant à la multirésistance, afin de proposer des mesures visant à éviter cette émergence. Pour ce faire trois axes ont été développés.

Axe 1 : une des stratégies pour lutter contre la diffusion des EPC est d'identifier rapidement les patients porteurs (colonisés et/ou infectés) pour éviter les phénomènes de transmission, notamment en milieu hospitalier. Le développement et l'évaluation de tests de diagnostic peu onéreux pour la détection des EPC utilisables dans tous les pays, y compris ceux à faible et moyen revenu, sont une de nos priorités. Nous avons évalué le test appelé « méthode d'inactivation des carbapénèmes » (CIM) pour détecter les CPE à partir de colonies bactériennes.

Axe 2 : la résistance médiée par les β -lactamases n'épargne pas les β -lactamines les plus efficaces (carbapénèmes), dont l'activité est contestée par les carbapénémases. Une revue a été réalisée pour compiler toutes les données tridimensionnelles des carbapénémases de classe A, afin d'identifier les facteurs structuraux à l'origine de leur profil hydrolytique.

Axe 3 : l'épidémiologie moléculaire globale des isolats de *E. coli* producteurs de carbapénémases (CP-Ec), ainsi que les bases génétiques de l'émergence et de la diffusion mondiale de lignées spécifiques en communauté, restent largement inconnues. Ici, nous avons combiné une analyse génomique et évolutive approfondie des isolats *E. coli* ST410 avec une large analyse de 12 398 génomes de *E. coli* et dans les gènes de porine ompC et ompF.

Résultats majeurs

Nos résultats confirment que le test CIM peut être un outil utile pour la confirmation fiable de l'activité de la carbapénémase dans les isolats entérobactéries, en particulier dans les laboratoires de microbiologie clinique avec des ressources limitées, ne nécessitant pas de personnel formé ni d'équipement spécialisé.

Les données tridimensionnelles des carbapénémases de classe A représentent les briques de base pour comprendre les relations structure-fonction qui définissent les phénotypes des carbapénémases de classe A et peuvent guider la conception de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique.

Les gènes *ftsI* mutés et un allèle *ompC* spécifique se sont propagés à travers l'espèce *E. coli* par recombinaison. Ces mutations ont été, dans la plupart des cas, sélectionnées avant l'acquisition du gène de la carbapénémase. La sélection des lignées CP-Ec capables de disséminer est plus complexe que la simple acquisition de gènes de résistance aux carbapénémases et pourrait être largement déclenchée par des β -lactamines autres que les carbapénèmes. Ces nouvelles perspectives sur la sélection des clones CP-Ec, largement indépendante de l'utilisation des carbapénèmes, doivent être prises en compte dans les recommandations d'utilisation des β -lactamines pour éviter leur dissémination. De plus, le suivi des mutations et des événements de recombinaison dans *ompC*, *ompF* et *ftsI* devrait être pris en compte dans la surveillance mondiale de la résistance aux β -lactamines chez *E. coli*, car les lignées mutées dans ces gènes sont les hôtes préférentiels des gènes de carbapénémase.

Production scientifique et valorisation

Gauthier L. et al., (2017) Retrospective and prospective evaluation of the Carbapenem inactivation method for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, *PLoS One*. 12(2):e0170769.

Naas T. et al., (2016) Structural and Functional Aspects of Class A Carbapenemases, *Curr. Drug Targets*. 17(9):1006-28.

Patino-Navarrete R. et al., (2020) Stepwise evolution and convergent recombination underlie the global dissemination of carbapenemase-producing *Escherichia coli*, *Genome Med*. 12(1):10.

Le projet sur les carbapénèmes est un projet de recherche pour mieux comprendre la résistance aux β -lactamines.

Le projet a commencé en septembre 2016 et a duré 36 mois.

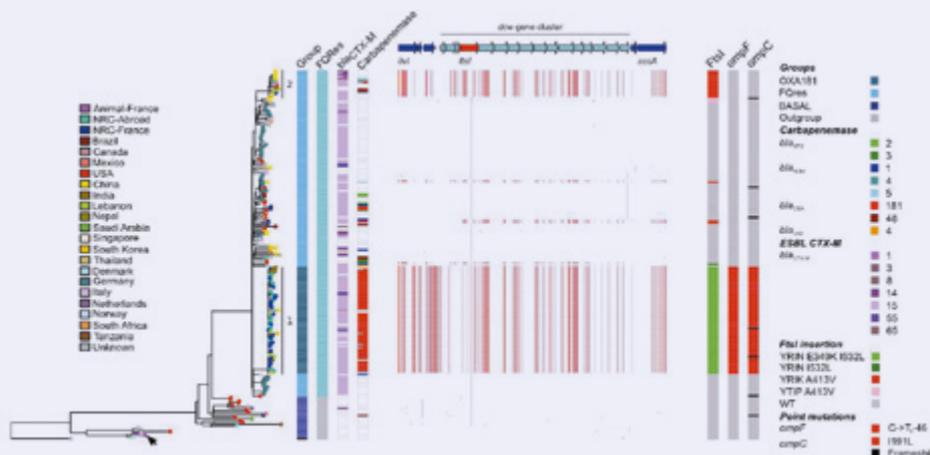
PARTENAIRES

Université Paris-Saclay
AP-HP
Inserm
CEA
CNRS
Institut Pasteur
Anses
Université de Tripoli, Lybie

CONTACT

Thierry Naas
thierry.naas@aphp.fr
Immunologie des maladies virales, auto-immunes, hématologiques
et bactériennes

Arbre phylogénétique de 206 génomes des isolats d'*E. coli* ST410. Les isolats sont codés par couleur selon l'origine géographique à gauche et les caractéristiques génomiques sont indiquées sur le côté droit.
© Philippe Glaser, Institut Pasteur



LERMIT – MALDixin

Laboratoire de Recherche sur le Médicament et l'Innovation Thérapeutique



Rappel des objectifs

La colistine, un peptide cationique antimicrobien appartenant à la famille des polymyxines, est actuellement considérée comme un antibiotique de dernier recours pour le traitement des infections à bactéries (à Gram négatif) multirésistantes. Cet antibiotique est peu utilisé depuis de nombreuses années à cause notamment de sa néphrotoxicité. Cependant, la dissémination récente en Europe et dans le monde d'isolats d'entérobactéries, dont notamment *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, extrêmement résistantes aux antibiotiques, incluant la production d'enzymes hydrolysant tous les carbapénèmes, a accéléré l'utilisation des polymyxines en clinique. Ce regain d'utilisation de cette classe d'antibiotiques s'est inexorablement accompagné d'une augmentation de la résistance.

Résultats majeurs

La résistance aux polymyxines résulte de modifications du lipide A, composant de la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Ces modifications du lipide A correspondent à l'addition de résidus chargés positivement (ex : phosphoéthanolamine) responsable d'un phénomène de répulsion des polymyxines elles-mêmes chargées positivement et qui ne peuvent alors plus interagir avec la membrane de la bactérie pour la détruire.

Bien que la détection précoce de la résistance aux antibiotiques ait clairement été démontrée comme primordiale pour la prise en charge des patients, la détermination de la résistance aux polymyxines dans les laboratoires de microbiologie nécessite toujours l'emploi de techniques longues (> 48 h) et fastidieuses (voir figure). En effet, il existe une faible corrélation entre le diamètre d'inhibition autour du disque sur l'antibiogramme et la sensibilité réelle à cet antibiotique standard. Cela nécessite de réaliser des « méthodes d'inactivation des carbapénèmes » (CIMS) en milieu liquide.

En collaboration avec le Dr. Larrouy-Maumus et le Pr. Filloux de l'Imperial College, l'équipe RESIST, du laboratoire de recherche Inserm UMR-S 1184, de la Faculté de Médecine de l'Université Paris-Saclay a mis au point une technologie innovante (MALDixin test), utilisant la technologie de spectrométrie de masse MALDI-TOF pour l'identification ultrarapide (< 15 min) de la résistance aux polymyxines sur colonies bactériennes. Ce test est basé sur la détection spécifique

du lipide A modifié par l'addition de phosphoéthanolamine (pETN) ou de L-ARA-4N responsable du changement d'électronégativité du lipide A et donc responsable de la résistance aux polymyxines. En outre, nous avons pu démontrer que, chez *Escherichia coli*, ce test permettait non seulement la détection rapide de la résistance aux polymyxines mais également la détermination du support génétique de cette résistance (plasmidique ou chromosomique). En effet, le MALDixin test permet la détection d'un marqueur spécifique correspondant à l'addition de pETN sur le lipide A par une phosphoéthanolamine transférase (MCR-1) dont le support génétique est plasmidique. Dans un second temps nous avons pu démontrer l'efficacité de ce test sur un autre genre bactérien, *Klebsiella pneumoniae*, pour lequel la résistance aux polymyxines devient problématique dans certains pays.

Un des avantages majeurs de ce test réside dans l'utilisation d'une technologie (MALDI-TOF) déjà disponible et implantée dans la majorité des laboratoires de microbiologie pour l'identification des bactéries. Cet avantage est couplé à la rapidité d'obtention des résultats pour une meilleure prise en charge du patient.

Production scientifique et valorisation

Dortet L. et al., (2020) Optimization of the MALDixin test for the rapid identification of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* using MALDI-TOF MS, *J. Antimicrob. Chemother.* 75(1):110-116. doi: 10.1093/jac/dkz405.

Le projet MALDixin est un projet de recherche appliqué pour la détermination de la résistance à la colistine.

Le projet a commencé en janvier 2019 et a duré 12 mois.

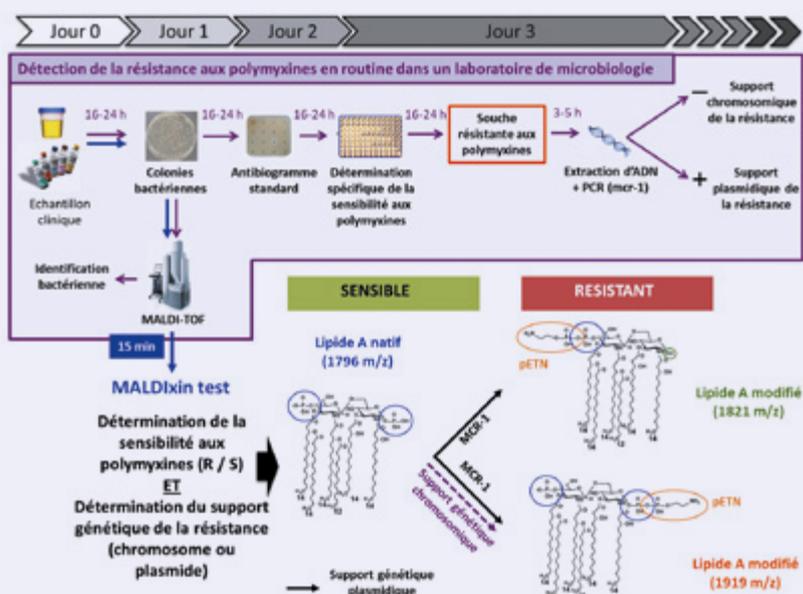
PARTENAIRES

Université Paris-Saclay
AP-HP
Imperial College, Angleterre
CHU de Namur, Belgique

CONTACT

Laurent Dortet
laurent.dortet@aphp.fr

Processus de détermination de la résistance à la colistine et avantage de l'utilisation du MALDixin.
© Laurent Dortet, Université Paris-Saclay



IBEID

Integrative Biology of Emerging Infectious Diseases



Rappel des objectifs

Integrative Biology of Emerging Infectious Diseases (IBEID) a pour ambition de renforcer les capacités de recherche sur les maladies infectieuses et mettre cette exceptionnelle ressource à disposition des acteurs essentiels dans la réponse à l'émergence de ces maladies. Les cinq axes scientifiques majeurs sont :

1. Étude de la diversité/complexité microbienne, détection des émergences.
2. Étude de la diversité/complexité de l'hôte lors de la confrontation avec les pathogènes.
3. Étude des interactions hôtes-pathogènes, définition de la barrière d'espèce, découverte de nouvelles cibles pour la vaccinologie et les traitements thérapeutiques.
4. Étude de la biologie des vecteurs arthropodes impliqués dans l'émergence des maladies infectieuses.
5. Développement d'un environnement technologique intégratif pour soutenir les avancées scientifiques dans le domaine des maladies infectieuses émergentes (MIE).

Pour atteindre ses objectifs, le LabEx IBEID regroupe soixante-cinq équipes rattachées à trois Institutions de recherche (Institut Pasteur, Inserm et EnvA) collaborant étroitement avec les agences de santé animale et humaine (Anses, Santé publique France) et l'AP-HP qui sont en première ligne face aux MIE.

Les équipes IBEID abordent la question de la résistance aux antibiotiques et la recherche de nouvelles molécules actives et des stratégies alternatives par de multiples approches, des études de terrain au criblage de banques de molécules.

Les études sont réalisées selon quatre axes.

ÉPIDÉMIOLOGIE, MODÉLISATION ET ÉTUDES DE TERRAIN

La résistance aux antibiotiques est un problème global qui reste particulièrement mal caractérisé et quantifié dans les pays à bas revenu. Dans le cadre de collaborations internationales, notamment avec des équipes du réseau international des Instituts Pasteur, IBEID a par exemple abordé la problématique de la transmission mère-enfant d'entérobactéries multirésistantes à Madagascar et au Cambodge et caractérisé des souches de *Salmonella* multirésistantes dans le golfe de Guinée et en Afrique du Nord. Le couplage des données épidémiologiques, des données sur les patients et sur la consommation d'antibiotiques permettent de modéliser la transmission et ainsi d'apporter des bases rationnelles pour mettre en place des mesures de prévention. Dans ce cadre, les partenaires ont analysé et modélisé la transmission d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* dans un contexte hospitalier et modélisé la contribution du microbiome digestif dans les infections nosocomiales. Les études des équipes du LabEx ne se limitent pas à la médecine humaine, les partenaires IBEID ont également modélisé la transmission de *S. aureus* dans les élevages porcins ou d'*E. coli* productrices de β -lactamases à spectre étendu dans des élevages de veaux laitiers. Tout cela illustre la dimension « One Health » des recherches menées dans le LabEx.

GÉNOMIQUE ET ÉVOLUTION

Au cours des dix dernières années, les progrès des techniques de séquençage ont eu un impact majeur dans l'étude de la résistance aux antibiotiques. Le séquençage complet des génomes de bactéries multirésistantes apporte des informations essentielles pour comprendre l'émergence et la dissémination de certains clones au niveau local, par exemple à l'hôpital et au niveau global. La génomique des populations, et des études évolutives permettent également d'identifier les bases fonctionnelles ayant contribué au « succès » de ces clones ou des plasmides portant des gènes de résistance. Au cours de la période, les équipes du LabEx ont

publié douze articles portant à la fois sur des bactéries à Gram négatif (*Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *E. coli*) et à Gram positif (*S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium glutamicum*). Les équipes du LabEx ont notamment montré que l'utilisation massive de la tétracycline à partir des années 1950 avait été responsable de l'émergence des infections néonatales dues à *S. agalactiae* qui est une cause majeure d'infections néonatales en Europe et aux États-Unis. En utilisant des collections historiques de souches maintenues à l'Institut Pasteur, les partenaires ont pu reconstruire la dissémination précoce et zoonotique de la résistance à l'ampicilline chez *S. enterica*. Au niveau local, une épidémie hospitalière due à *Staphylococcus epidermidis*, résistant au linezolid et impliquant trois clones différents associés à l'acquisition de deux plasmides contribuant à une résistance élevée à cet antibiotique a été caractérisée. Finalement, en collaboration avec le CNR-résistance aux antibiotiques (Hôpital Bicêtre) les équipes IBEID ont mis en évidence la contribution de mutations dans les gènes de porine et de la protéine de liaison de la pénicilline 3 à la sélection et à la dissémination de souches d'*E. coli* produisant des carbapénémases. Les carbapénèmes étant des β -lactamines de dernier recours, ces souches représentent une menace majeure de santé publique.

RÉSISTANCE, PERSISTANCE, ÉCHAPPEMENT AU TRAITEMENT

Les partenaires IBEID ont analysé différents aspects de la résistance aux antibiotiques pour comprendre comment la combattre et ont notamment découvert un nouveau mécanisme de résistance aux macrolides chez *Listeria monocytogenes* qui dépend du recyclage des ribosomes. L'échec thérapeutique lors d'une infection bactérienne peut aussi être lié à la tolérance ou à la persistance qui entraînent une survie prolongée en présence d'un antibiotique à une dose supérieure à sa concentration minimale inhibitrice. Les équipes IBEID ont caractérisé l'hétérogénéité des populations de *Mycobacterium tuberculosis* contribuant à la difficulté de soigner ces infections et démontré comment l'induction de la réponse au stress médié par le système de régulation Cpx contribue à la tolérance d'*E. coli* aux peptides antimicrobiens. D'autres phénomènes limitent l'activité des antibiotiques chez le patient, en particulier la



croissance lente des bactéries adhérant à une surface sous la forme d'un biofilm. Les partenaires ont caractérisé différents mécanismes contribuant à cet effet, comme la carence en nutriment et l'induction de la réponse SOS pour la tolérance aux fluoroquinolones, et montré qu'un pH élevé augmente la sensibilité à la gentamycine de *S. aureus*, *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sous forme de biofilm localisé dans un cathéter.

THÉRAPEUTIQUES, MODE D'ACTION

L'augmentation de la fréquence des bactéries multirésistantes et la difficulté à soigner certaines infections dues à des bactéries caractérisées comme sensibles au laboratoire nécessite de diversifier les stratégies thérapeutiques. Une première approche consiste à « resensibiliser » une souche bactérienne ou à éliminer spécifiquement les bactéries résistantes avec une visée de décontamination, par exemple avant une intervention chirurgicale. Les équipes du LabEx développent de telles stratégies sur la base d'outils innovants utilisant soit le système CRISPR-Cas9, soit une toxine bactérienne synthétique couplée à une intéine.

De manière plus classique, les équipes IBEID ont identifié de nouvelles cibles au niveau de la biogénèse de la paroi des bactéries à Gram négatif : la modification des lipoprotéines et l'interaction entre les protéines PLP-2 et MreC. Ces cibles, localisées dans le périplasma, sont plus accessibles que des cibles cytoplasmiques. Les partenaires ont mis en place des cribles performants pour la recherche de molécules actives sur ces cibles dans différentes banques de molécules disponibles à l'Institut Pasteur.

Les antibiotiques bloquent la croissance des bactéries, une approche complémentaire consiste à les désarmer. Les équipes IBEID ont identifié une molécule qui rend non virulent le méningocoque en empêchant la rétraction des pili de type 4 et sa mobilité.

Une dernière approche est basée sur l'analyse de molécules naturelles produites par des bactéries et ayant une activité antibactérienne. Les partenaires ont montré qu'une bactériocine produite par *Listeria monocytogenes* pouvait moduler des infections bactériennes digestives et qu'une colicine d'*E. coli* ciblait les biofilms à *E. coli*.

Résultats majeurs

IBEID est doté de programmes structurants de financement qui, sous forme d'appels à projets compétitifs, ont permis de :

- créer 11 structures de recherche et ainsi recruter des scientifiques, pour compléter les expertises nécessaires pour atteindre nos objectifs. Cinq sont déjà pérennisées par nos institutions après avis favorable des instances d'évaluation ;
- former la future génération de scientifiques dans le domaine des MIE, en finançant trente-et-unes allocations doctorales et des cours spécifiques, et développer leur carrière en finançant le projet autonome de six jeunes scientifiques à fort potentiel ;
- développer la recherche sur les MIE et la collaboration entre équipes par le financement de plus de cinquante projets ;
- mettre en place un programme spécifique (Emergency Actions) pour répondre rapidement aux problèmes de santé publique posés par les MIE. IBEID a ainsi contribué à la lutte contre les épidémies apparues ces dernières années : Chikungunya, Zika, Ebola, Dengue, grippe aviaire, peste, Fièvre Catarrhale Ovine et SARS-CoV-2 ;
- maintenir au plus haut niveau technologique les plateformes nécessaires au développement de la recherche sur les MIE en cofinçant des équipements lourds ;
- développer des actions ciblées pour les zones géographiques fortement exposées aux MIE comme la création d'un Groupe Junior à l'Institut Pasteur (IP) de Guyane ;

Production scientifique et valorisation

La dynamique scientifique mise en place a permis la publication de 950 articles dans les meilleures revues internationales.

La surveillance des infections émergentes doit s'appuyer sur une connaissance large, exhaustive et en constante évolution du monde microbien (taxonomie, génétique et physiologie) en incluant les mécanismes de résistance aux antimicrobiens. L'étude de l'émergence des résistances est un enjeu de santé publique majeur dans la lutte contre les MIE. Pour développer ses capacités dans ce domaine, IBEID a :

- renforcé son expertise par la création de deux structures de recherche en modélisation et épidémiologie et d'une sur la biologie de synthèse ;
- organisé un meeting international : enjeux et nouveaux concepts dans la recherche sur la résistance aux antibiotiques ;
- permis la création d'un cours avancé sur les antibiotiques avec l'IP et l'Institut Mérieux ;
- initié une formation à destination des acteurs de santé publique des pays fortement exposés aux MIE. L'objectif est d'aider les pays du Sud à mettre en place un Réseau d'Étude et de Surveillance des Pathogènes et des Émergences incluant la résistance aux antibiotiques. Cette action, en partenariat avec les autorités de santé publique des pays concernés, résulte d'une collaboration de la Direction Internationale de l'IP, des Centres Nationaux de Références, de Santé publique France et des Instituts destinataires de cette formation.

La valorisation de la recherche menée par les équipes partenaires est un axe fort du LabEX. Outre les quarante-quatre brevets déposés par les équipes IBEID, le scientifique recruté pour diriger le groupe biologie de synthèse est cofondateur d'une startup, Eligo Bioscience, développant une nouvelle catégorie d'antibiotiques basés sur le système Cas/CRISPR.

Les actions structurantes et le financement de travaux de recherche ont permis la publication de cinquante-huit articles sur la résistance aux antibiotiques.

BIBLIOGRAPHIE SÉLECTIVE

ÉPIDÉMIOLOGIE, MODÉLISATION ET ÉTUDES DE TERRAIN

Opatowski L. et al., (2013) Assessing pneumococcal meningitis association with viral respiratory infections and antibiotics: insights from statistical and mathematical models, *Proc. Biol. Sci.* 280(1764):20130519.

Le Hello S. et al., (2013) Highly drug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198-X1: a microbiological study, *Lancet Infect Dis.* 13(8):672.

Bernier A. et al., (2014) Outpatient Antibiotic Use in France between 2000 and 2010: after the Nationwide Campaign, It Is Time to Focus on the Elderly, *Antimicrob. Agents Chemother.* 58(1):71.

Couderc C. et al., (2014) Fluoroquinolone use is a risk factor for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in long-term-care facilities: a nested case-case-control study, *Clin. Infect. Dis.* 59(2):206.

Baltazar M. et al., (2015) Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhi, Gulf of Guinea Region, *Africa Emerg. Infect. Dis.* 21(4):655.

Chereau F. et al., (2015) Colonization of extended-spectrum- β -lactamase- and NDM-1-producing *Enterobacteriaceae* among pregnant women in the community in a low-income country: a potential reservoir for transmission of multiresistant *Enterobacteriaceae* to neonates, *Antimicrob. Agents Chemother.* 59(6):3652.

Couderc C. et al., (2015) Antibiotic Use and *Staphylococcus aureus* Resistant to Antibiotics Study Group. Fluoroquinolone Impact on



Nasal Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus* Colonization Durations in Neurologic Long-Term-Care Facilities, *Antimicrob. Agents Chemother.* 59(12):7621.

de Cellès MD. et al., (2015) Interaction of Vaccination and Reduction of Antibiotic Use Drives Unexpected Increase of *Pneumococcal Meningitis*, *Sci. Rep.* 5:11293.

Huynh BT. et al., (2015) Burden of bacterial resistance among neonatal infections in low income countries: how convincing is the epidemiological evidence? *BMC Infect. Dis.* 15:127.

Ktari S. et al., (2015) Carbapenemase-producing *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198, North Africa, *J. Antimicrob. Chemother.* 70(12):3405.

Padget M. et al., (2017) A community survey of antibiotic consumption among children in Madagascar and Senegal: the importance of healthcare access and care quality, *J. Antimicrob. Chemother.* 72(2):564.

Bastard J. et al., (2020) Dynamics of livestock-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pig movement networks: Insight from mathematical modeling and French data, *Epidemics.* 31:100389.

Huynh BT. et al., (2020) *Klebsiella pneumoniae* carriage in low-income countries: antimicrobial resistance, genomic diversity and risk factors, *Gut. Microbes.* 11(5):1287.

Bastard J. et al., (2021) Drivers of ESBL-producing *Escherichia coli* dynamics in calf fattening farms: A modelling study, *One Health.* 12:100238.

Smith DR. et al., (2021) Microbiome-pathogen interactions drive epidemiological dynamics of antibiotic resistance: A modeling study applied to nosocomial pathogen control, *Elife.* 10:e68764.

GÉNOMIQUE ET ÉVOLUTION

Bialek-Davenet S. et al., (2014) Genomic definition of hypervirulent and multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clonal groups, *Emerg. Infect. Dis.* 20:1812.

Da Cunha V. et al., (2014) *Streptococcus agalactiae* clones infecting humans were selected and fixed through the extensive use of tetracycline, *Nat. Commun.* 5: 4544.

Douarre PE. et al., (2015). Host specificity in the diversity and transfer of *Isa* resistance genes in group B *streptococcus*, *J. Antimicrob. Chemother.* 70(12):3205.

Breurec S. et al., (2018) Serotype Distribution and Antimicrobial Resistance of *Shigella* Species in Bangui, Central African Republic,

from 2002 to 2013, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 99(2):283.

Dortet L. et al., (2018) Long-lasting successful dissemination of resistance to oxazolidinones in MDR *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates in a tertiary care hospital in France, *J. Antimicrob. Chemother.* 73(1), 41.

Jousset AB. et al., (2018) A 4.5 years within-patient evolution of a colistin resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* ST258, *Clin. Infect. Dis.* 67(9):1388.

Tran-Dien A. et al., (2018) Early transmissible ampicillin resistance in zoonotic *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in the late 1950s: a retrospective, whole-genome sequencing study, *Lancet Infect. Dis.* 18(2):207.

Hawkey J. et al., (2019) Global phylogenomics of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198, *Microb. Genom.* 5(7):e000269.

Chiarelli A. et al., (2020) Diversity of mucoid to non-mucoid switch among carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, *BMC microbiol* 20(1):325.

Hennart M. et al., (2020) Population genomics and antimicrobial resistance in *Corynebacterium diphtheriae*, *Genome Med* 12(1):107

Patino-Navarrete. et al., (2020) Stepwise evolution and convergent recombination underlie the global dissemination of carbapenemase-producing *Escherichia coli*, *Genome med.* 12(1):10.

Cabanel N. et al., (2021) Evolution of VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from a hospital outbreak reveals the genetic bases of the loss of the urease-positive identification character, *mSystems.* 6:e00244.

RÉSISTANCE, PERSISTANCE, ÉCHAPPEMENT AU TRAITEMENT

Bernier SP. et al., (2013) Starvation, Together with the SOS Response, Mediates High Biofilm-Specific Tolerance to the Fluoroquinolone Ofloxacin, *PLoS Genet.* 9(1):e1003144.

Audrain B. et al., (2013) Induction of Cpx envelope stress pathway contributes to *Escherichia coli* tolerance to antimicrobial peptides, *Appl. Environ. Microbiol.* 79(24):7770.

Baharoglu Z. et al., (2013) Multiple Pathways of Genome Plasticity Leading to Development of Antibiotic Resistance, *Antibiotics.* 2(2):288.

Baharoglu Z. et al., (2013) RpoS plays a central role in the SOS induction by sub-lethal aminoglycoside concentrations in *Vibrio cholerae*, *PLoS. Genet.* 9(4): e1003421.

Baharoglu Z. et al., (2014) Identification of genes involved in low



aminoglycoside-induced SOS response in *Vibrio cholerae*: a role for transcription stalling and Mfd helicase, *Nucleic Acids Res.* 42(4): 2366.

Lebeaux D. et al., (2014) pH-mediated potentiation of aminoglycosides kills bacterial persisters and eradicates *in vivo* biofilms, *J. Infect. Dis.* 210(9):1357.

Lebeaux D. et al., (2014) Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance towards antibiotics, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 78(3):510.

Létoffé S. et al., (2014) Aerial exposure to the bacterial volatile compound trimethylamine modifies antibiotic resistance of physically separated bacteria by raising medium pH, *mBio.* 5(1):e00944.

Dhar N. et al., (2016) Phenotypic Heterogeneity in *Mycobacterium tuberculosis*, *Microbiol. Spectr.* 4(6):TBTB2-0021-2016.

Ates LS. et al., (2018) Unexpected Genomic and Phenotypic Diversity of *Mycobacterium africanum* Lineage 5 Affects Drug Resistance, Protein Secretion, and Immunogenicity, *Genome Biol. Evol.* 10(8):1858.

Duval M. et al., (2018) HflXr, a homolog of a ribosome-splitting factor, mediates antibiotic resistance, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 115:13359.

Duval M. et al., (2019) A new mechanism of antibiotic resistance: ribosome recycling, *Med. Sci.* 35(8-9):613.

Manina G. et al., (2019) Preexisting variation in DNA damage response predicts the fate of single mycobacteria under stress, *EMBO J* 38(22):e101876.

Negro V. et al., (2019) RadD contributes to R-loop avoidance in sub-MIC tobramycin, *mBio.* 10:e01173.

Burgess Tornaletti L. et al., (2020) Delving into the functional meaning of phenotypic variation in mycobacterial persistence: Who benefits the most from programmed death of individual cells?, *Microbiol. Insights.* 13:1178636120945304.

Pérez-Cobas AE. et al., (2020) Persistent Legionnaires' Disease and Associated Antibiotic Treatment Engender a Highly Disturbed Pulmonary Microbiome Enriched in Opportunistic Microorganisms, *mBio.* 11(3):e00889.

THÉRAPEUTIQUES, MODE D'ACTION

Rendueles O. et al., (2014) A new biofilm-associated colicin targeting *E. coli* biofilm bacteria, *ISME J.* 8(6):1275.

Lebeaux D. et al., (2015). *In vitro* activity of gentamicin, vancomycin or amikacin combined with EDTA or L-arginine as a lock therapy against a wide spectrum of biofilm-forming clinical strains isolated from catheter-related infections, *J. Antimicrob. Chemother.* 70(6):1704.

Bikard D. et al., (2017) Using CRISPR-Cas systems as antimicrobials *Curr. Opin. Microbiol.* 37:155-160.

Contreras-Martel C. et al., (2017) Molecular architecture of PBP2: MreC core bacterial cell wall synthesis complex, *Nat. Commun.* 8(1):776.

Williams AH. et al., (2017) Bulgecin A: The key to a broad-spectrum inhibitor that targets lytic transglycosylases, *Antibiotics.* 6(1):8.

Fiolet AS. et al., (2018) Long-term stability of gentamicin sulfate-ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (EDTA-Na₂) solution for catheter locks, *J. Pharm. Anal.* 8(6):386.

Sechet E. et al., (2018) Natural molecules induce and synergize to boost expression of the human antimicrobial peptide β -defensin-3, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 115(42):E9869.

Aubey F. et al., (2019) Inhibitors of the *Neisseria meningitidis* PilF ATPase provoke type IV pilus disassembly, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 116: 8481.

López-Igual R. et al., (2019) Engineering synthetic toxin-intein weapons as specific antimicrobials, *Nat. Biotechnol.* 37(7):755.

Rolhion N. et al., (2019) A *Listeria monocytogenes* Bacteriocin Can Target the Commensal *Prevotella copri* and Modulate Intestinal Infection, *Cell. Host. Microbe.* 26(5):691.

Usui M. et al., (2019) Zinc acetate potentiates the action of tosofloxacin on *Escherichia coli* biofilm persisters, *Antimicrob. Agents Chemother.* 63(6):e00069.

Clément DA. et al., (2020) New Chemical Probe Targeting Bacterial NAD Kinase, *Molecules.* 25(21):4893.

Giraud-Gatineau A. et al., (2020) The antibiotic bedaquiline activates host macrophage innate immune resistance to bacterial infection, *eLife.* 9:e55692.

Legood S. et al., (2021) Mode of action of lipoprotein modification enzymes – novel antibacterial targets, *Mol. Microbiol.* 115(3):356.

Le projet IBEID est un projet de recherche financé dans le cadre du 1^{er} appel à projets LabEx. Le projet a commencé en avril 2011 pour une durée de 164 mois. Il bénéficie d'une aide France 2030 de 44 594 595 euros.

PARTENAIRES

Le LabEx IBEID est composé de 65 équipes :

56 Institut Pasteur,
4 Inserm,
2 AP-HP
1 Anses
1 École nationale vétérinaire d'Alfort
1 Santé publique France

COORDINATEUR

Philippe Bastin
philippe.bastin@pasteur.fr
Unité de Biologie cellulaire des Trypanosomes

ANNEXES

Les annexes regroupent les listes des projets analysés dans ce cahier.

Annexe 1	Projets PRC financés dans le cadre de l'AAPG
Annexe 2	Projets JCJC financés dans le cadre de l'AAPG
Annexe 3	Projets PRCE financés dans le cadre de l'AAPG
Annexe 4	Projets PRCI financés dans le cadre de l'AAPG
Annexe 5	Projets financés dans le cadre de la JPIAMR
Annexe 6	Projets financés dans le cadre du programme bilatéral franco-allemand
Annexe 7	Projets financés dans le cadre de l'appel MRSEI
Annexe 8	Projets financés dans le cadre des appels internationaux multilatéraux (hors JPIAMR)
Annexe 9	Projets liés à la lutte contre l'antibiorésistance financés par les appels dédiés au renforcement des partenariats public-privé depuis 2011
Annexe 10	Entreprises partenaires dans les projets financés
Annexe 11	Projets financés dans le cadre du PPR Antibiorésistance
Annexe 12	Projets LabEx ayant contribué à la recherche sur l'antibiorésistance
Annexe 13	Projets de l'IRT BIOASTER subventionnés par France 2030
Annexe 14	Projets France 2030 (hors LabEx, IDEX et IRT)

Annexe 1 Projets PRC financés dans le cadre de l'AAPG*

Édition	Acronyme	Titre	CES***	Subvention ANR
2011	BACTOPRENYL	Élucidation du métabolisme de l'undécaprényl phosphate, un lipide essentiel pour la biosynthèse des polymères de la paroi bactérienne	Blanc SVSE 3	400 000 €
2011	CarbaTub	Mécanisme d'inhibition d'une nouvelle cible des antibiotiques appartenant à la famille des bêta-lactamines	Blanc SVSE 5	569 998 €
2011	PILIPATH	Assemblage moléculaire du pilus chez <i>S. pneumoniae</i> . Exploitation biotechnologique d'une boîte à outils conçue par la nature	Blanc SVSE 8	365 459 €
2012	PiBaKi	Rôle cellulaire et mode d'action de deux protéine-kinases centrales chez les bactéries	Blanc SVSE 3	403 295 €
2012	DynamINT	Recombinaison des cassettes d'intégron : dynamique <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	Blanc SVSE 3	389 907 €
2012	GLYCOMIME	Glycomimes ciblant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : Synthèse, criblage par une technologie de micropuce à ADN et évaluation sur bactéries	Blanc SVSE 5	520 000 €
2012	MOBISING	Impact des Recombinases et Transposases à simple brin sur la Dynamique des Génomes	Blanc SVSE 8	449 295 €
2012	ASSEMBLY	Nouvelle approche dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques : reconstruction d'une pompe d'efflux à trois composants	Blanc SVSE 8	500 000 €
2013	MimicrRNA	Synthèse d'analogues d'aminocyl-tRNA pour explorer la synthèse peptidique non ribosomale chez les bactéries	Blanc SIMI 7	444 974 €
2013	ANTITUB	Approches bisubstrat et prodrogue pour la conception d'inhibiteurs inédits de la DXR : Nouveaux antimicrobiens et antituberculeux	Blanc SIMI 7	369 466 €
2013	DIMYVIR	Identification et Visualisation des Mécanismes Permettant l'Acquisition d'un Phénotype Invasif chez les Mycobactéries Pathogènes à Croissance Rapide	Blanc SVSE 3	340 000 €
2014	ANTI-TB-NANO	Une galénique « verte » à base de nanoparticules de cyclodextrines pour_x000D_	Blanc SVSE 5	569 998 €
2014	FiberSpace	Pili de type IV et pseudopili: structure, dynamique, assemblage et fonction moléculaire	CE09 (Périmètre du CE11 actuel)	528 867 €
2014	REGALAD	Relation structure-fonction d'une famille de senseurs hybrides	CE09 (Périmètre du CE11 actuel)	351 551 €
2014	BacMolMot	Analyses structurales et fonctionnelles de deux moteurs moléculaires membranaires présents chez les bactéries à Gram négatif	CE09 (Périmètre du CE11 actuel)	361 548 €
2014	ORBIMP	Déjouer la résistance aux beta-lactamines des méningocoques et pneumocoques	CE14 (Périmètre du CE15 actuel)	298 098 €
2014	Tea-4-Two	Reprogrammation de la bioactivation des thioamides comme alternative antituberculeuse	CE14 (Périmètre du CE15 actuel)	450 000 €
2014	SYNTIA	La Tiacumicine B, un Produit Naturel Antibiotique Agissant sur une Nouvelle Cible Pharmacologique	CE16 (Périmètre du CE18 actuel)	379 496 €
2015	ACToP	Adaptation aux perturbations d'une communauté bactérienne multi-espèces en biofilm : une approche pluridisciplinaire	CE02	477 284 €
2015	FUNPOLYSURF	Élaboration de surfaces polymères structurées fonctionnelles à partir de nanoparticules polymères photo-actives	CE08	314 184 €
2015	IntegRhoMe	Toward an Integrated View of Transcription Terminator Rho Functions and Mechanisms	CE11	540 000 €
2015	sRNA-FIT	Adaptation par ARN régulateurs chez <i>Staphylococcus aureus</i>	CE12	450 000 €
2015	BACTOCOMPASS	Un modèle bactérien pour étudier le contrôle de la multicellularité par les protéines G	CE13	449 977 €
2015	StopBugEntry	Identification des nouvelles molécules cellulaires cibles pour combattre les infections bactériennes	CE15	548 525 €
2015	SEPTICOLI	Facteurs pronostiques des septicémies à <i>Escherichia coli</i> face à l'émergence de clones multirésistants, score de gravité et implications thérapeutiques	CE17	222 248 €
2015	ClickBiofilm	Synthèses d'inhibiteurs de formation de Biofilm par chimie click	CE18	359 840 €
2015	PathoTOP	Identification rapide de pathogènes bactériens par protéomique top-down en contexte clinique	CE18	697 581 €

*Incluant les projets issus des programmes BLANC de 2011 à 2013 **Projets financés dans le cadre de la priorité antibiorésistance ***Comités d'évaluation scientifique

Édition	Acronyme	Titre	CES***	Subvention ANR
2015	MATICE	Mécanismes d'Activation du Transfert des éléments Intégratifs Conjugatifs au sein de l'Écosystème digestif	CE21	438 062 €
2015	RUMBA	Caractérisations biochimique, structurale et fonctionnelle des peptides antimicrobiens RumC, une famille de bactériocines comme alternative viable aux antibiotiques conventionnels	CE21	480 000 €
2015	DIGESTATE	Diagnostic des traitements des déchets et comportement des contaminants dans l'environnement	CE34	691 000 €
2016	RIBOSTAPH	La traduction et son contrôle chez <i>Staphylococcus aureus</i> : conséquences sur la virulence et la réponse aux stress	CE11	576 183 €
2016	MycMaster	Étude structurale et fonctionnelle de la protéine RbpA de <i>Mycobacterium</i> : un régulateur principal de l'expression des gènes impliqués dans la pharmacorésistance	CE11	429 784 €
2016	InterplayMbABC	Étude du couplage entre la dynamique conformationnelle d'un transporteur ABC et son environnement membranaire	CE11	444 124 €
2016	PerfoBac	Comment les bactériophages perforent-ils la paroi des bactéries ?	CE11	225 802 €
2016	TransPepNMR	Étude par RMN du complexe L,D-transpeptidase/peptidoglycan et de son influence sur la maturation de la paroi des mycobactéries	CE11	547 234 €
2016	StaphEscape	Résistance aux antimicrobiens par dormance transitoire et récupération : la voie de sortie peut-elle être bloquée ?	CE15	557 359 €
2016	PrediRes	Prédiction de l'émergence de la Résistance bactérienne dans le microbiote intestinal humain lors d'un traitement antibiotique	CE15	478 034 €
2016	TARGIS	Développement de réactifs innovants pour le ciblage de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	CE17	466 840 €
2016	PPTases	Les phosphopantéthéinyl transférases, des cibles thérapeutiques pour lutter contre les infections bactériennes et l'antibiorésistance	CE18	593 024 €
2016	ANTIDOTE	Assemblages nano-structurés antibactériens dotés de propriétés synergiques et stimulables : application dans le traitement des infections ostéo-articulaires à <i>Staphylococcus aureus</i>	CE18	596 465 €
2016	NADIN	Biosynthèse du nad : vers la découverte de nouveaux antibactériens	CE18	468 003 €
2016	Antibionomics	Économie des Antibiotiques : Incitations à l'Innovation et Implications pour les Coûts des Soins de Santé	CE36	203 465 €
2017	SyntRNA	Chemo-biologie pour la caractérisation structurale et fonctionnelle de complexes ARN-protéines	CE07	470 267 €
2017	HumanRibosome	Structure et fonction de complexes du ribosome humain	CE11	410 076 €
2017	BANDIT	D'une Nox bactérienne à la conception d'outil de criblage	CE11	397 101 €
2017	MISTEC	Systèmes d'efflux minimaux pour l'étude fonctionnelle des complexes tripartites de la paroi bactérienne	CE11	461 635 €
2017	TakeoverBac	Prise de contrôle des entérobactéries par les phages	CE11	471 621 €
2017	HemeDetox	Understanding heme stress sensing system by pathogens, to design new antibiotics	CE11	393 182 €
2017	SpABC-TCS	Mécanisme de résistance aux peptides antimicrobiens par un transporteur ABC couplé à un système de régulation à deux composants chez <i>Streptococcus pneumoniae</i>	CE11	334 260 €
2017	UniBac	Étude de l'émergence de la résistance aux antibiotiques et de la diversification génétique chez les bactéries à l'échelle de cellules uniques	CE13	508 054 €
2017	HBPensing	Mécanisme de détection de l'heptose 1,7-bisphosphate lors d'infections bactériennes à Gram négatif	CE15	527 480 €
2017	DifKin	Une Ser/Thr kinase impliquée dans la résistance à des composés antimicrobiens importants pour la colonisation chez <i>Clostridium difficile</i>	CE15	394 672 €
2017	ACROBAT	Rôle de l'axe poumon/intestin/moelle osseuse et du microbiote au cours de la grippe	CE15	398 024 €
2017	QPID	Rôle des phosphoinositides dans les infections par l'agent de la fièvre Q <i>Coxiella burnetii</i>	CE15	515 422 €
2017	InnovAntibio	Découverte de nouveaux antibiotiques : ciblage des systèmes toxine-antitoxine avec de nouveaux ligands d'ARN	CE18	379 447 €

Annexe 1 Projets PRC financés dans le cadre de l'AAPG*

Édition	Acronyme	Titre	CES***	Subvention ANR
2017	MYCWall	Développement d'inhibiteurs spécifiques de la synthèse de la paroi des mycobactéries	CE18	539 731 €
2017	NADKiller	NADK : une nouvelle cible bactérienne pour le développement d'antibiotiques	CE18	591 548 €
2017	Phylopeptidomics	Identification rapide de bactéries pathogènes et résistances aux antibiotiques	CE18	435 004 €
2017	Biosupramol	L'assemblage supramoléculaire de peptides détermine leur fonction biologique	CE18	500 083 €
2018	NEURAPROBE	Ingénierie des acides sialiques : une nouvelle stratégie pour la découverte alternative d'antibactériens	CE07	428 356 €
2018	PSEUDO-WALL	Architecture et fonction de complexes de la biosynthèse de la paroi cellulaire de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CE11	461 714 €
2018	T4PNanoAction	Pili de type IV en action	CE11	543 883 €
2018	T6MeD-OC	De la dynamique et diversité structurale des complexes membranaires du T6SS vers le développement d'inhibiteur de la virulence	CE11	516 040 €
2018	EvoToIAB	Évolution et dynamique de dissémination de la tolérance aux antibiotiques dans les biofilms	CE13	444 620 €
2018	SMARt-TB	Molécules de réversion de la résistance aux prodrogues chez <i>M. tuberculosis</i>	CE18	510 868 €
2018	MicrobicidalEnzyme	Les myéloperoxydases : formulation de matériaux antimicrobiens pour prévenir les infections nosocomiales	CE19	437 645 €
2018	GeWiEp	Interactions épistatiques à l'échelle du génome bactérien : étendue, émergence et bases moléculaires	CE35	600 077 €
2018	Persist3Rs	Maintenance du génome chez les bactéries persistantes	CE35	539 698 €
2018	plasMED	Mécanismes responsables de la dissémination des plasmides porteurs de résistances multiples aux antibiotiques	CE35	484 926 €
2018	ABC-F_AB	Élucidation des mécanismes de résistance aux antibiotiques des protéines ABC-F	CE35	327 270 €
2018	ActivExoY	Rôle et spécificités fonctionnelles des facteurs de virulence de type ExoY dépendants de l'actine dans les infections bactériennes	CE44	466 316 €
2018	DCIR-TB	Étude des mécanismes impliqués dans la modulation de la signalisation par les interférons de type I et l'immunité antituberculeuse par la lectine de type C DCIR	CE44	466 448 €
2018	GRAN	Une approche de chimie/biologie pour des analogues innovants de la granulysine	CE44	278 640 €
2018	RESISTE	Rescousse Évolutive : effets Stochastiques et Interactions avec le Stress Environnemental	CE45	396 594 €
2019	PneumoClick	« Clicker » la paroi cellulaire comme arme sélective contre <i>Streptococcus pneumoniae</i>	CE07	352 090 €
2019	SUBSIST**	Bases structurales du système de sécrétion de type IV d' <i>Helicobacter pylori</i>	CE11	392 407 €
2019	ProteaselnAction**	Ciblage des protéases ClpP : Dynamique, fonction et modulation allostérique par agents thérapeutiques	CE11	467 378 €
2019	BIOTIFLUX	Dissection du mécanisme moléculaire d'un transporteur d'antibiotiques	CE11	623 917 €
2019	GenTransOx**	Stress oxydant et transfert horizontal de gènes comme source de diversité génétique du pathogène gastrique <i>Helicobacter pylori</i>	CE12	437 999 €
2019	RRARE	ARN Régulateurs et Résistance aux Antibiotiques	CE12	410 197 €
2019	NOVOREP**	Réparation des dommages ou mort cellulaire chez les bactéries exposées aux stress	CE12	382 192 €
2019	ChloroMitoRAMP	Les peptides antimicrobiens comme précurseurs des peptides d'adressage aux organites.	CE13	450 000 €
2019	PeptidoAdapt	Modulation de l'efficacité des antibiotiques par l'adaptation du métabolisme du peptidoglycane à la croissance en biofilm	CE15	431 012 €
2019	LookingForPegase	À la recherche de protéines régulant des enzymes responsables de la synthèse du peptidoglycane	CE15	485 447 €
2019	Dalatar**	Cibler la D-alanylation des acides teichoïques pour combattre les pathogènes à Gram positif d'intérêt clinique	CE18	513 700 €
2019	VECTRIUM	Vectorisation de complexes d'iridium(III) par les sidérophores : des chevaux de Troie contre les bactéries pathogènes à Gram négatif	CE18	550 964 €

*Incluant les projets issus des programmes BLANC de 2011 à 2013 ** Projets financés dans le cadre de la priorité antibiorésistance ***Comités d'évaluation scientifique

Édition	Acronyme	Titre	CES***	Subvention ANR
2019	AntiBronchio	Conception de molécules pour lutter contre le virus de la bronchiolite grâce à une nouvelle cible thérapeutique	CE18	530 191 €
2019	MOSAR-DEF	Conception d'antimicrobiens actifs en milieu salin inspirée par la biodiversité marine	CE18	503 069 €
2019	lasSoCocci	Suppression de la virulence et de la résistance aux antibiotiques de pathogènes à Gram positif par l'utilisation de peptides lasso naturels et optimisés	CE18	487 833 €
2019	BIP**	Stimulation de l'immunité innée respiratoire pour traiter les pneumonies à bactéries résistantes aux antibiotiques	CE18	452 472 €
2019	IDAREV	Identification, caractérisation de la résistance aux antibiotiques et évaluation de la virulence de bactéries de manière concomitante par spectrométrie de masse ciblée adaptative	CE19	543 999 €
2019	MIAM	Altération microbienne et préservation des monuments en zone urbaine	CE22	508 905 €
2019	PERIOMET**	Ionome et remodelage métabolique dans la persistance et le réveil de <i>Salmonella quiescentes</i>	CE44	378 640 €
2019	LipInTb	Utilisation de nouveaux inhibiteurs sélectifs pour décrypter le métabolisme lipidique et de la virulence chez <i>M. tb</i>	CE44	558 796 €
2019	SpiceUp	Criblage d'inhibiteurs de pompes d'efflux et pharmacomodulation pour améliorer l'efficacité des antibiotiques	CE44	357 893 €
2019	ChapCop	Rôle des protéines chaperons dans la survie bactérienne face à de fortes concentrations de cuivre	CE44	548 415 €
2020	Glyco_SWIM	Synthèse d'oligomères de peptidoglycane mimes de la paroi bactérienne catalysée par une glycosynthase	CE07	304 326 €
2020	ALES**	Nanovecteurs hybrides à base de silice mésoporeuse et d'aptamères pour la délivrance contrôlée d'agents anti-infectieux	CE09	371 824 €
2020	PseudoTraffic**	Export-Import de la pseudopaline chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CE11	556 192 €
2020	ImmunoPhage	Mécanismes moléculaires de l'immunité du phage T5	CE11	357 085 €
2020	TransfoConflict	Apprendre des conflits : inhibition fréquente de la transformation naturelle par les éléments génétiques mobiles	CE12	465 038 €
2020	MUMI	Modulation du Taux de Mutation pendant l'Infection et Conséquences Évolutives	CE12	379 620 €
2020	DifBioRel	Étude de la formation de biofilm par <i>Clostridium difficile</i> et de sa contribution dans la persistance intestinale de la bactérie et les rechutes des infections	CE15	603 360 €
2020	TIFAsomes	Analyse fonctionnelle du mécanisme de détection de l'ADP-heptose dans les infections bactériennes et caractérisation structurale des TIFAsomes	CE15	419 839 €
2020	AmphiPep**	Conception de peptidomimétiques amphiphiles cationiques antibactériens ciblant les bactéries sous forme de biofilm et/ou intracellulaires	CE18	545 536 €
2020	DETONATOR	Décryptage du mode d'action de nouveaux antituberculeux prometteurs	CE18	559 321 €
2020	NOBacLight	Conception de complexes de ruthénium à ligand nitrosyle pour la photolibération contrôlée de NO : agents antibactériens et cicatrisants	CE18	443 432 €
2020	BLA-IMPACT	Impact d'une exposition aux bêta-lactamines sur les bêta-lactamases intestinales caractérisées phénotypiquement	CE35	594 000 €
2020	DIVIN**	Dissémination et évolution des Intégrons de Résistance : effets du mode de vie en biofilm et du stress antibiotique	CE35	390 188 €
2020	PRE-EMPT	High-throughput identification of antibiotic resistance progenitors across interconnected settings: PRE-EMPT	CE35	410 119 €
2020	ResisTrack	Contrôler l'antibiorésistance à l'hôpital : modélisation holistique et éco-évolutive de la dissémination des gènes de résistance pour optimiser les stratégies de lutte	CE35	624 290 €
2020	RESISTE	Comprendre l'évolution de la résistance aux antimicrobiens chez les vibrios environnementaux	CE35	383 401 €
2020	HOME	Dynamiques de transmission intracommunautaire des Entérobactéries multirésistantes	CE35	598 979 €
2020	BacWall	Mécanisme de recyclage du porteur lipidique à l'œuvre pendant la biogénèse du peptidoglycane	CE44	485 455 €

Annexe 1 Projets PRC financés dans le cadre de l'AAPG*

Édition	Acronyme	Titre	CES***	Subvention ANR
2020	MolProPIMS	Sondes moléculaires pour l'étude de la biosynthèse des PIMS	CE44	244 040 €
2020	Iliome	Aspects fonctionnels et impact physiopathologique des inclusions lipidiques intracytoplasmiques chez les mycobactéries	CE44	556 939 €
2020	TRANSBIOTIC**	Contrôle transcriptionnel de la résistance aux antibiotiques : des mécanismes fondamentaux aux molécules antibactériennes	CE44	496 069 €
2020	RUMisBAC**	Mode d'action et bio-ingénierie des sactipeptides RumC pour vaincre la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram positif	CE44	530 349 €
2021	InnoTherano	Approches théranostiques innovantes fondées sur la libération de médicaments et la formation <i>in situ</i> de fluorophores ou de photosensibilisateurs	CE07	325 024 €
2021	SynTense	Synthèse totale unifiée d'antibiotiques macrolactames polyéniques glycosylés fortement tendus	CE07	433 287 €
2021	AntiCyp	Une structure ancienne pour de nouvelles applications en antibiothérapie	CE07	443 894 €
2021	BENDIS	Interaction de cibles biologiques avec des couches minces diélectriques contenant des nanoparticules d'argent : vers des surfaces antimicrobiennes ajustables	CE09	516 176 €
2021	ComPil	Analyse structure/fonction du pilus Com, nanomachine filamenteuse répandue chez les bactéries monodermes, dédiée à la capture d'ADN	CE11	546 539 €
2021	BAC-MMEP	Décrypter l'architecture et la fonction des plateformes d'efflux métalliques des membranes bactériennes	CE11	673 469 €
2021	Chromintevol	Etude de l'impact des intégrons chromosomiques sur l'évolution des bactéries	CE12	400 828 €
2021	Kinebiotics	Exploring dynamic regulation by RNAs	CE12	475 536 €
2021	SaRNAmoD	Modifications de l'ARN chez <i>Staphylococcus aureus</i> pendant les réponses aux stress, traitements antibiotiques et infections : impact sur la traduction et sa régulation	CE12	556 577 €
2021	ExPECTation	Colonisation des tissus et réservoirs infectieux des ExPEC induits par CNF1, nouvelle voie thérapeutique	CE15	579 902 €
2021	BaXygen	Stratégie innovante utilisant des Nanoparticules NIR-sensibles pour une PDT antibactérienne améliorée et une libération contrôlée d'antibiotiques	CE18	394 920 €
2021	COPOTIC	Copolymères synthétiques antibactériens et dégradables pour application thérapeutique	CE18	579 500 €
2021	SAFEST	Action synergique d'un photosensibilisateur et de peptides antimicrobiens pour la destruction de bactéries pathogènes	CE18	583 013 €
2021	PAANIC	Administration pulmonaire de nano-émulsion antibiotique pour le traitement d'infections à bactéries Gram négatif	CE18	483 328 €
2021	MOSSAIC	Étude de l'excrétion hétérogène de <i>Salmonella</i> chez le poulet et modélisation des interactions hôte-agent pathogène-microbiote intestinal	CE20	410 280 €
2021	AMETHYSTES	Caractérisation avancée des métallobactéries par techniques de couplage dans les systèmes environnementaux ternaires sol-micro-organismes-plantes	CE20	561 970 €
2021	CHYPSTER	Approche intégrée biogéochimique, géographique et hydrologique pour déterminer les sources de contaminants sur des bassins versants d'usage mixte	CE34	610 454 €
2021	RAMbo-V	Approche rationnelle d'un vaccin <i>Mycoplasma bovis</i>	CE35	600 714 €
2021	ModRNAntibio	Adaptation phénotypique aux antibiotiques : modifications de t/rRNA	CE35	611 923 €
2021	InXS	Stabilisation de complexes de recombinaison Xer intégratifs	CE35	631 999 €
2021	TeraCellATR	Capteur térahertz ATR pour l'étude en temps réel de la perméabilisation des membranes cellulaires	CE42	427 027 €
2021	MYCOLT	Composition et organisation des systèmes de transport des lipides de la membrane externe des mycobactéries	CE44	596 886 €

*Incluant les projets issus des programmes BLANC de 2011 à 2013 ** Projets financés dans le cadre de la priorité antibiorésistance ***Comités d'évaluation scientifique

Annexe 2

Projets JCJC financés dans le cadre de l'AAPG

Édition	Acronyme	Titre	CES*	Subvention ANR
2011	PKS-PPIs	Les polykétide synthases (PKS) de type « trans AT » : Étude des modes d'interactions entre les « acyl carrier » protéines et leur différents partenaires enzymatiques (en cis/trans)	JCJC SVSE 8	290 000 €
2012	MELIVAC	Développement d'un vaccin glycoconjugué contre la mélioiïdose	JCJC SIMI 7	187 842 €
2013	MODEVOL	Modèles mathématiques pour la biologie évolutive	JCJC SIMI 1	50 000 €
2013	2FightTb	De l'identification de fragments à la découverte d'inhibiteurs de MabA (FabG1) un nouveau challenge pour traiter la tuberculose	JCJC SVSE 5	255 000 €
2014	SingleCellMutation	Mesure des taux de mutations et des effets de mutations sur le fitness dans des cellules uniques, vivantes, en temps réel	CE09 (Périmètre du CE11 actuel)	347 335 €
2014	MAGENTA	Mécanismes de transport des bactériophages optimisés pour le développement de revêtements antibactériens	CE17 (Périmètre du CE19 actuel)	198 540 €
2016	inVIVE	Bases moléculaires du transport actif d'antibiotiques par la pompe d'efflux MexA-MexB-OprM de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . <i>in vitro veritas</i>	CE11	263 190 €
2016	sPECTRAL	Utilisation de la photochimie pour l'élaboration de revêtements biosourcés antibactériens	CE29	256 044 €
2016	MENAX	De nouveaux inhibiteurs de IspD comme solution contre <i>Bacillus anthracis</i>	CE39	204 120 €
2017	Therapeptics	Analogues Polymériques de Peptides Antimicrobiens à Potentiel Thérapeutique anti- <i>Clostridium difficile</i>	CE07	209 866 €
2017	MyTraM	Bases moléculaires du transport des acides mycoliques par MmpL3, une cible thérapeutique prometteuse pour le traitement de la tuberculose	CE11	209 866 €
2018	AMAGRI	Antimicrobiens en agriculture : acteurs, pratiques, conflits	CE03	208 770 €
2018	CaROS	Conception de Photosensibilisateurs à Réservoir d'Oxygène Singulet pour des Applications Antibactériennes	CE07	182 810 €
2018	PORIDG	Fonctionnalisation chimique du silicium nanoporeux pour le diagnostic de la septicémie	CE09	255 241 €
2018	ENCAPSULATION	Le rôle évolutif des capsules dans l'adaptation bactérienne	CE12	248 876 €
2018	BacPhageChat	Mise en lumière du dialogue entre bactérie et prophage	CE12	257 836 €
2018	PIGIMMUNITY	PIGIMMUNITY : une approche de biologie des systèmes pour stimuler la réponse innée chez le porc	CE20	311 961 €
2018	GenTranSa	Transformation génétique programmée : <i>Staphylococcus aureus</i> comme nouvel organisme modèle	CE35	273 229 €
2018	CDPhages	Le rôle des bactériophages dans l'évolution de la virulence chez <i>Clostridium difficile</i>	CE35	194 968 €
2018	anthropo-phages	Des virus pour soigner : le difficile développement d'une innovation biomédicale contre-intuitive	CE36	282 747 €
2018	ATMCADD	Modèles atomiques précis pour la conception de médicaments assistée par ordinateur	CE44	174 701 €
2019	CarboMIC	Carbonate de calcium nanostructuré antimicrobien produit par un procédé microfluidique et écoresponsable en milieu CO ₂ supercritique	CE09	238 456 €
2019	LISiNA	Nanosystèmes photoactivables à composé unique : preuve de concept sur les biofilms bactériens	CE09	263 829 €
2019	NeoSCap	Recherche translationnelle sur <i>Staphylococcus capitis</i> en réanimation néonatale : de la caractérisation moléculaire des souches aux impacts en pratique clinique	CE17	464 400 €
2019	ABR-Breaker	Approche innovante pour contrer la résistance bactérienne engendrée par les β -lactamases	CE18	182 227 €
2019	NL4TB	Nouvelle génération de composés Lead pour combattre la tuberculose	CE18	298 332 €
2019	TRANSMUTATOR	Mutateurs transitoires et évolution de la résistance aux antibiotiques	CE35	362 880 €
2019	RegOPepS	Régulation de la synthèse du peptidoglycan chez <i>Escherichia coli</i>	CE44	243 000 €

*Comités d'évaluation scientifique

Annexe 2 Projets JCJC financés dans le cadre de l'AAPG

Édition	Acronyme	Titre	CES*	Subvention ANR
2020	FunModuLAR	Biocéramiques fonctionnalisées pour une ostéoimmunomodulation et une libération locale de molécules actives	CE08	248 386 €
2020	MetalAureus	Rôle des ARN régulateurs dans l'adaptation de <i>Staphylococcus aureus</i> aux stratégies immunitaires dépendantes des métaux	CE12	246 162 €
2020	DIFFICROSS	Génération des ponts interpeptidiques du peptidoglycane par des L,D-transpeptidases chez <i>Clostridioides difficile</i> : rôle dans la résistance aux antibiotiques et la libération des toxines	CE15	289 144 €
2020	DAMOCLES	Une nouvelle technologie pour l'antibiogramme rapide	CE18	179 280 €
2020	Ho-TARI	Identification de nouvelles thérapies antimicrobiennes pour le traitement de co-infections respiratoires	CE18	283 068 €
2020	BiocidAtHome	Biocides dans l'habitat : émissions, exposition potentielle et solutions de réduction	CE34	351 800 €
2020	PYANO	Conception d'analogues de la pyoverdine par biologie synthétique	CE44	269 785 €
2020	PIECES	Apprentissage statistique pour la pangénomique sur des collections infinies de motifs de séquences	CE45	380 071 €
2021	EXOTICA	Explorer l'étendue, les voies et le devenir des transferts horizontaux dans les génomes nucléaires des plantes	CE02	296 392 €
2021	CHAXATAC	Développement d'insertions X-H sur des α -dialdoxyesters O-protégés - Application à la première synthèse totale diversifiée des chaxalactines	CE07	210 417 €
2021	LYSORES	Mécanismes de résistance aux traitements lysosomotropes : inhibition du processus autophagique et adaptations métaboliques	CE14	316 373 €
2021	MITOBAC	Interactions Métaboliques Hôte-Pathogène : comment des Bactéries Intracellulaires détournent l'OXPPOS Mitochondriale pendant l'infection	CE15	283 830 €
2021	RESISTANT	Rôle d'un système de signalisation cellulaire dans l'adaptation de <i>Yersinia pestis</i> à son vecteur	CE15	334 041 €
2021	ENDONANOBIOTIC	Un hydrogel antibactérien pour favoriser la régénération de la pulpe dentaire	CE19	287 632 €
2021	BAoBAb	Adaptation des biofilms aux biocides et impact sur l'antibiorésistance	CE35	330 400 €
2021	TolPerCol	Tolérance et persistance dans les colonies bactériennes	CE35	346 976 €
2021	CHARM	Caractérisation de bioactivités de substances naturelles issues de micro-organismes marins de Nouvelle-Calédonie	CE43	288 339 €
2021	HALO-CAT	De l'halogénéation chez les champignons marins aux biocatalyseurs	CE44	254 005 €
2021	QUASAR	Résistance quantitative aux antimicrobiens : stratégies de contrôle et adaptation évolutive de la virulence parasitaire et de la résistance	CE45	273 300 €

Annexe 3 Projets PRCE financés dans le cadre de l'AAPG

Édition	Acronyme	Titre	CES*	Subvention ANR
2014	Imperio	Implants se formant <i>in situ</i> pour le traitement des parodontites	CE16	796 993 €
2014	PIGLETBIOTA	PIGLETBIOTA : une étude de biologie intégrative de l'influence du microbiote intestinal sur la robustesse des porcelets au sevrage, dans la perspective de la réduction de l'usage des antibiotiques dans les élevages	CE18	187 842 €
2015	Sincolistin	Alternatives stratégiques pour réduire l'usage de la colistine dans les pratiques d'élevage de porc	CE21	576 445 €
2015	POLPHARMA	Procédé innovant mettant en œuvre des nanostructures pour l'élimination des micropolluants émergents des effluents aqueux	CE04	744 070 €
2016	FAREWEL	Combattre la résistance aux antibiotiques chez <i>Escherichia coli</i> grâce aux Eligobiotiques®	CE18	534 576 €
2017	VAMAGPHAR	VALorisation de Métabolites secondaires bactériens en AGronomie et en PHARmaceutique	CE20	497 212 €
2017	Antibiotox	Dynamique des antibiotiques et des gènes de résistance associés dans les agrosystèmes : risques écotoxicologiques pour les communautés microbiennes des systèmes lotiques receveurs	CE34	535 284 €
2019	DEINODROP	Système de tri microfluidique pour la bioprospection de nouveaux antibiotiques	CE19	276 432 €
2020	PhotobiofilmExplorer	Explorer et comprendre les secrets des biofilms photosynthétiques	CE43	604 873 €
2021	AMALIA	Bactéries associées aux lichens comme source d'agents antimicrobiens	CE18	449 563 €
2021	TREATABLE	Cibler la variation phénotypique pour améliorer le traitement de la tuberculose	CE15	740 039 €

*Comités d'évaluation scientifique

Annexe 4 Projets PRCI financés dans le cadre de l'AAPG

Édition	Acronyme	Titre	Subvention ANR	Partenaire français	Partenaire étranger	Pays partenaire
2012	MorphoG+	Rôle de protéines associées au cytosquelette chez les bactéries à Gram-positif	265 036 €	Rut Carballido-Lopez	Mariana Pinho	Portugal*
2014	4D-SECRETION	Exploration multidimensionnelle du transport et de la sécrétion des exoprotéines par la voie de type II	268 939 €	Romé Voulhoux	Katrina Forest	États-Unis*
2014	Bacterial-Tactics	Manipulation du trafic membranaire par des pathogènes bactériens	482 971 €	Valentin Gordeliy, Jacqueline Cherfils	Craig Roy	États-Unis*
2014	ANTIMBL	Inhibition des métallo-β-lactamases (MBLs) pour combattre la résistance bactérienne aux β-lactamines	307 070 €	Dorothee Berthomieu, Jean-François Hernandez, Nohad Gresch	Jean-Denis Docquier, Moreno Galleni	Belgique*
2016	PKS STRUCTURE	Caractérisation structurale des polykétide synthases par microscopie électronique, diffusion des rayons X aux petits angles et des approches de biophysique et de synthèse chimique alliées	330 407 €	Adeline Goulet	Andreas Kirschning, Russell Cox	Allemagne
2017	BiBiMAC	Synthèse biomimétique, ingénierie des voies de biosynthèse, et relations structure-activité de macrolactames glycosylés originaux	379 800 €	Jean-Marc Campagne	Christine Beemelmans	Allemagne
2018	TNT	Mise en forme thermoplastique de verres métalliques à basse densité base titane pour applications dentaires	304 819 €	Damien Fabregue	Baran Sarac	Autriche
2019	DIRA	Développement d'aptamères ARN inhibiteurs par criblage à ultra-haut débit pour combattre les résistances aux antibiotiques	242 914 €	Michael Ryckelynck	Beatrix Suess	Allemagne
2020	thera-AMPD	Potentiel thérapeutique des peptides antimicrobiens dans la dermatite atopique	205 200 €	Jean-François Nicolas	Peter Wolf	Autriche
2020	COCH	Caractérisation et mode d'action du domaine LCCL de la Cochline comme nouvel agent thérapeutique immunostimulant ciblant l'hôte contre les infections bactériennes	377 028 €	Bénédicte Py, Fabienne Venet	Alexander Nystrom, Oliver Schilling	Allemagne

*Projets collaboratifs internationaux bilatéraux avec partenaires sur fonds propres (la dénomination PRCI a été restreinte à partir de 2016, aux projets internationaux bilatéraux avec accord bilatéral permettant le financement du partenaire étranger)

Annexe 5 Projets financés dans le cadre de la JPIAMR

Édition	Acronyme	Titre	Subvention ANR	Partenaire français	Type d'appel
2014	noTBsec	New intervention strategy for tuberculosis: blocking multiple essential targets	197 380 €	Roland Brosch	Appel à projets
2014	DesInMBL	Structure-guided design of pan inhibitors of metallo- β -lactamases	356 824 €	Bordan Iorga, Thierry Naas	Appel à projets
2014	NAPCLI	Non-conventional approaches for peptidoglycan cross-linking inhibition	376 761 €	Jean-Pierre Simorre, Michel Arthur	Appel à projets
2014	EVOBIOTIC	Capturing the natural antibiotic'ome: Developing Nature's EVOLved AntiBIOTIC Collective	51 000 €	Jean-Luc Pernodet	Appel à projets
2015	ABIMMUNE	Repurposing disused antibiotics with immune modulators as antimicrobial strategy for respiratory tract infections	380 590 €	Mustapha Si-Tajar, Jean-Claude Sirard	Appel à projets
2015	CO-ACTION	Developing combinations of CO-ACTIVE antimicrobials and non-antimicrobials	431 759 €	Alain Bousquet-Melou, William Couet	Appel à projets
2015	Combinatorials	Novel drugs and drug combinations against bacterial growth, survival and persistence from high-throughput screening to mechanism of action	206 496 €	Frédéric Barras	Appel à projets
2016	VetCAST	Veterinary Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing	50 000 €	Alain Bousquet-Melou	Appel à réseaux
2016	BEAM Alliance	BEAM Alliance Biotech companies from Europe innovating in Anti-Microbial resistance research	49 998 €	Florence Séjourné	Appel à réseaux
2016	SpARK	The rates and routes of transmission of multidrug resistant <i>Klebsiella</i> clones and genes into the clinic from environmental sources	249 588 €	Sylvain Brisse	Appel à projets*
2016	ST131TS	<i>Escherichia coli</i> ST131: a model for high-risk transmission dynamics of antimicrobial resistance	239 004 €	Marie-Hélène Nicolas-Chanoine	Appel à projets*
2016	STARCS	Selection and Transmission of Antimicrobial Resistance in Complex Systems	249 542 €	Romain Koszul	Appel à projets*
2016	TransComp-ESC-R	Genomic approach to transmission and compartmentalization of extended-spectrum cephalosporin resistance in <i>Enterobacteriaceae</i> from animals and humans	463 324 €	Jean-Yves Madec, Richard Bonnet	Appel à projets*
2016	TransPred	Predicting cell-cell horizontal transmission of antibiotics resistance from genome and phenome	248 115 €	Gianni Liti	Appel à projets*
2016	MACOTRA	Combating MRSA - increasing our understanding of transmission success will lead to better control of MRSA	248 398 €	Gérard Lina	Appel à projets*
2016	MODERN	Understanding and modelling reservoirs, vehicles and transmission of ESBL-producing <i>Enterobacteriaceae</i> in the community and long-term care facilities	249 977 €	Didier Hoquet	Appel à projets*
2018	Anti-Persistence	Fighting antibiotic-resistant superbugs with anti-persister compounds targeting the stringent response	249 400 €	Olivier Neyrolles	Appel à projets
2018	MTI4MDR-TB	Development of novel Mycobacterial Tolerance Inhibitors (MTIs) against MDR/XDR tuberculosis	249 480 €	Priscille Brodin	Appel à projets
2018	SCAN	Design, Synthesis and Lead Generation of Novel Siderophore Conjugates for the Detection and Treatment of Infections by Gram-Negative Pathogens	249 480 €	Isabelle Schalk	Appel à projets
2018	CRISPRattack	Advancing CRISPR antimicrobials to combat the bacterial pathogen <i>Klebsiella pneumoniae</i>	492 437 €	David Bikard, Sylvain Brisse	Appel à projets
2018	RIBOTARGET	Development of novel ribosome-targeting antibiotics	448 288 €	Axel Innis, Reynald Gillet	Appel à projets
2018	FLAV4AMR	Flavodoxin inhibitors to kill resistant bacteria	259 520 €	Alain Bousquet-Melou, Étienne Touati	Appel à projets
2018	KlebNet	A One Health network bridging science and surveillance on antimicrobial resistant <i>Klebsiella</i>	50 000 €	Sylvain Brisse	Appel à réseaux
2018	NETESE	Network for Enhancing Tricycle ESBL Surveillance Efficiency	100 000 €	Étienne Ruppé	Appel à réseaux
2018	veRY BEAM	Develop a Partnerships Strategy to ensure key stakeholders, including industry and policy makers, and other networks are engaged and coordinate the alignment of other funded Networks	50 000 €	Florence Séjourné	Appel à réseaux

* Cofinancement Commission européenne

Annexe 5 Projets financés dans le cadre de la JPIAMR

Édition	Acronyme	Titre	Subvention ANR	Partenaire français	Type d'appel
2019	IDAREMS	Concomitant IDentification and Antibiotic REsistance profile of bacteria in one hour with an adaptive targeted single Mass Spectrometry analysis	510 840 €	Jérôme Lemoine, Frédéric Robin	Appel à projets
2019	OASIS	One Health AMR Surveillance through Innovative Sampling	274 959 €	Laurent Raskine	Appel à projets
2019	TRiumPH	Improving the TRicycle protocol: upscaling to national Monitoring, detection of CPE and WGS pipelines for One Health Surveillance	198 396 €	Laurence Armand-Lefevre	Appel à projets
2019	EMBARK	Establishing a Monitoring Baseline for Antibiotic Resistance in Key environments	248 940 €	Étienne Ruppé	Appel à projets
2019	IDx	IDx: An exploration of regulatory, corporate, relational, and technical barriers to uptake of diagnostics in the fight against AMR	27 000 €	Florence Séjourné	Appel à projets
2019	MAGITICS	Machine learning for digital diagnostics of antimicrobial resistance	249 119 €	Véronique Dubois, Macha Nikolski	Appel à projets
2020	SHARENET	Sharing Research on AMR Network	99 662 €	Christian Lienhardt	Appel à réseaux
2020	SPARE-SEA	Environmental Spread and Persistence of Antibiotic REsistances in aquatic Systems Exposed to oyster Aquaculture	258 799 €	Delphine Destoumieux-Garzon	Appel à projets*
2020	CONTACT	Consequences of antimicrobials and antiparasitics administration in fish farming for aquatic ecosystems	246 041 €	Timothy M. Vogel	Appel à projets*
2020	FOREWARN	Development a smart forewarning system to assess the occurrence, fate and behaviour of contaminants of emerging concern and pathogens, in waters	257 600 €	Sandra Martin-Latil	Appel à projets*
2020	GreenWaterTech	Green Ultrafiltration Water Cleaning Technologies	259 041 €	Chantal Guillard, Stéphane Parola	Appel à projets*
2020	PRESAGE	Potential of decentralized wastewater treatment for preventing the spread of antibiotic resistance, organic micropollutants, pathogens and viruses	259 112 €	Éric Pinelli	Appel à projets*
2020	SARA	Surveillance of Emerging Pathogens and Antibiotic Resistances in Aquatic Ecosystems	257 241 €	Timothy M. Vogel	Appel à projets*
2020	Aquatic Pollutants TransNet	Knowledge transfer strategies, networking and public engagement for a successful mitigation of risks induced by aquatic pollutants	199 321 €	Pierre Strosser, Nicole Baran	Appel à projets
2021	CABU-EICO	Optimising community antibiotic use and environmental infection control with behavioural interventions in rural Burkina Faso and DR Congo	205 716 €	Tamara Giles-Vernick	Appel à projets*
2021	DESIGN	Designing One Health Governance for Antimicrobial Stewardship Interventions	191 246 €	Marion Bordier	Appel à projets*
2021	ENVIRE	Interventions to control the dynamics of antimicrobial resistance from chickens through the environment	259 623 €	Lucie Collineau	Appel à projets*
2021	ICONIC	Ionophore coccidiostats: risk of CO-selection of antimicrobial resistance - Clinical impact and intervention strategies	221 088 €	Isabelle Kempf	Appel à projets*
2021	I-CRECT	Interventions to decrease CRE colonization and transmission between hospitals, households, communities and domesticated animals	199 054 €	Flavie Goutard	Appel à projets*
2021	MOB-TARGET	Novel interventions for eliminating one-health mobile antimicrobial resistance genes from human and animal microbiomes	242 592 €	Didier Mazel	Appel à projets*
2021	STARS-TAP	Specific Targeting of Antimicrobial Resistant Strains in situ using Targeted-Antibacterial-Plasmids	445 984 €	William Couet, Christian Lesterlin, Grégory Jubelin	Appel à projets*

Annexe 6

Projets financés dans le cadre du programme bilatéral franco-allemand

Édition	Acronyme	Titre	Subvention ANR	Partenaire français	Partenaire allemand
2019	AReST	Antifungal Resistance: From Surveillance to Treatment	499 224 €	Christophe d'Enfert, Isabelle Mouyna, Alexandre Alanio, Jean-Michel Molina	Axel Brakhage
2019	CO-PROTECT	Rational beta-lactam/beta-lactamase-inhibitor-based combination therapies of last-resort antibiotics to maximise efficacy and protect against emergence of resistance	497 104 €	William Couet, Jean-Winoc Decousser	Sebastian Wicha
2019	EcN-ReduceESBLEcoli	Exploitation of antagonistic traits of <i>E. coli</i> Nissle 1917 to reduce carriage and spread of ESBL plasmids in intestinal enterobacteria	249 500 €	Éric Oswald	Ulrich Dobrindt
2019	EFFORT	EFFlux pump inhibitors to Overcome antibiotic ResisTance	498 960 €	Ruben C. Hartkoorn, Marion Flipo	Klaas Martinus Pos
2019	MAPVAP	Pre-clinical mechanistic assessment of two bacteriophage cocktails targeting multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Escherichia coli</i> for the treatment of ventilator-associated pneumonia	496 164 €	Jean-Damien Ricard, Laurent Debarbieux, Jean-Marc Ghigo, Jérémie Guedj	Martin Witznath
2019	NATURAL-ARSENAL	New Antibiotics Tackling mUlti-Resistance by acting on Alternative bacterial tARgets in Synergy with mEmbrane-disruptiNg Antimicrobial peptides	573 040 €	Nicola D'Amelio, Burkhard Bechinger, Thierry Naas	Klaas Martinus Pos
2019	SIAM	Specific Inhibitors of Aminoglycoside Modifying enzymes	392 995 €	Jean-François Guichou, Jean-Philippe Lavigne	Felix Hausch
2019	TARGET-Biofilms	Transmission of Antimicrobial Resistance by GEne Transfer within Bacterial Biofilms	202 204 €	Christian Lesterlin	Knut Drescher
2020	ACRAS-R	Antimicrobial Resistance Transmission Routes in Caribbean Islands: a One Health Risk Analysis	530 544 €	Christophe Dagot, Sébastien Breurek, Lulla Opatowski	Thomas Berendonk
2020	AMR-B-CHANGE	Improving antibiotics use in West Africa: exploring current situation and developing strategies for behaviour change	234 700 €	Carine Baxerres	Aurélia Souares
2020	AntibiOxaborole	Oxaboroles Targeting Aminoacyl-tRNA Synthetases of Colonizing Gram-negative bacteria to Overcome Drug Resistance	250 000 €	Andrés Palencia	Rolf Müller
2020	DECOLONIZE	Promoting gut decolonization of multi-resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i> via the microbiome	304 415 €	Régis Tournebize, Alexandre Bleibtreu	Till Strowig
2020	ESAAM	Extended spectrum antibodies against MDR and pan-resistant bacteria	303 997 €	David Skurnik, Harry Sokol	Johannes Hiebner
2020	GENDARM	Gen-Directed Re-Sensitization of Antibiotic Resistant Microorganisms within Complex Communities	370 652 €	Christiane Forestier, Ousmane Traoré	Hans-Peter Horz
2020	LasBAntiv	Development and profiling of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LasB inhibitors as novel antivirulence agents	489 270 €	Jean-Michel Sallenave, Romé Voulhoux	Anna Hirsch
2020	Plasfect	Medical Gas Plasma Technology Against Antibiotic-resistant Bacteria infecting Wounds	493 560 €	Éric Robert, Mickaël Riou	Sander Beekeschus
2020	TARGET-THERAPY	Spatially targeted eradication of antimicrobial-resistant bacteria: Novel polymer-based photodynamic therapy following aerosol lung delivery	333 612 €	Tony Le Gall, Gilles Lemerrier	Holger Schönherr

Annexe 7 Projets financés dans le cadre des appels MRSEI

Édition	Acronyme	Titre	Subvention ANR	Partenaires Français
2016	MED.VET.EJP	EJP co-fund « Une seule santé : Zoonoses et Émergences »	30 000 €	Andre Jestin, Thierry Pineau, David Itier, Henriette de Valk
2017	SICNANO	Nanotransistors à base de carbure de silicium pour la détection électrique de biomolécules	30 000 €	Edwige Bano, Valérie Stambouli
2017	BAC-TOX	Systèmes toxine-antitoxine chez les bactéries : de leur compréhension à leur exploitation pour le développement de nouvelles thérapies contre les maladies infectieuses	29 916 €	Pierre Genevaux, Olivier Neyrolles
2017	FAIR	Stimulation de l'immunité innée respiratoire par nébulisation de flagelline comme traitement alternatif des pneumonies à germes multirésistants aux antibiotiques	30 000 €	Florence Chung, Jean-Claude Sirard, Nathalie Heuze-Vourc'h, Antoine Guillon
2018	IL12 for HAP	Efficacité de l'Interleukine 12 pour la prévention et le traitement des pneumonies acquises à l'hôpital pneumonia	29 999 €	Antoine Roquilly, Laurence Josset
2018	MOOD	Veille des foyers des maladies émergentes dans un contexte de sciences des données	25 000 €	Renaud Lancelot
2019	BDSEARCH	Recherche de nouveaux antibiotiques avec la bd oxydase de bactéries pathogènes	30 000 €	Petra Hellwig
2019	INSPECT	Outils et stratégies innovants pour prévenir les risques et les effets des contaminants sur les processus écologiques, les services écosystémiques et le développement des résistances aux antibiotiques dans les sols et les milieux aquatiques	29 916 €	Stéphane Pesce

Annexe 8

Projets financés dans le cadre des appels internationaux multilatéraux
(hors JPIAMR)

Édition	Acronyme	Titre	Subvention ANR	Partenaire Français	Programme
2013	Haplo-Infect	Dissecting the bacterial recognition machinery in human cells using haploid genetics and CRISPR-mediated genome engineering	233 040 €	Ivo Gomperts Boneca	Infect-ERA
2013	Abir	Anti-Bacterial Immune Regulation	333 429 €	Bernard Malissen	Infect-ERA
2014	MICHIC	Understanding mucosal immunology and co-infections in the chicken to drive vaccine strategies	133 120 €	Catherine Schouler	Anihwa
2014	AntibioPhage	A bacteriophage-based approach to reducing infections caused by antibiotic resistant <i>Escherichia coli</i>	107 120 €	Catherine Schouler	Anihwa
2014	PRAHAD	Prevalence and optimised detection of resistance to antibiotics vital for animal and human health	76 960 €	Jean-Yves Madec	Anihwa
2015	MRSA_BACTERIOPHAGES	Bacteriophages as alternative to antimicrobial treatments of bovine mastitis caused by methicillin-resistant staphylococci - MRS -, with emphasis on methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> - MRSA -	63 596 €	Yannick Blanchard	Anihwa
2015	FloraStopMRE	Role of the microbiota in the defense against multidrug-resistant <i>Enterobacteriaceae</i>	218 000 €	Laurent Debrauwer, Jean-Marc Rolain	Infect-ERA
2015	StaphIN	Intracellular <i>Staphylococcus aureus</i> - deciphering bacterial and cellular factors involved in host cell invasion by clinically relevant strains to define new therapeutic approaches	210 080 €	Francois Vandenesch, Tristan Ferry	Infect-ERA
2015	BU_SPONT_HEAL	Transcriptome Analysis of Animal Models of Spontaneous Healing of Buruli Ulcer	225 516 €	Laurent Marsollier	Infect-ERA
2016	AWARE	Assessing the fate of pesticides and wastewater-borne contaminants in agricultural crops and their environmental risks	448 990 €	Fabrice Martin-Laurent	WaterWorks (JPI Water)
2017	FarmResist	Occupational risks for animal farmers to be colonised with animal-associated resistant bacteria in Thailand, impact on the faecal microbiota	32 000 €	Jean-Marc Rolain, Serge Morand	SEA-EU NET
2017	NanoGSkin	Transversal tissue engineering and nanomedicine approach towards an improved chronic wound therapy	366 228 €	Muriel Cario-André, Christophe Egles	EuroNanoMed III
2018	IDOUM	Innovative Decentralized and low-cost treatment systems for Optimal Urban wastewater Management	297 000 €	Serge Chiron	IC4WATER (JPI Water)
2018	NANO-CARRIERS	Micro and Nanoplastics as carriers for the spread of chemicals and antibiotic resistance in the aquatic environment	249 992 €	Julien Gigault, Bruno Grassl	IC4WATER (JPI Water)
2018	MILKQUA	Milk quality all along the dairy chain for a sustainable MILK	299 914 €	Latifa Abdennebi-Najar, Saïd Bouhallab, Hichem Bensalem, Hamrouni Ibtissem, Monia Daaloul, Hanafi Henda, Soumaya Benslimane	Prima
2019	ANTIVERSA	Biodiversity as an ecological barrier for the spread of clinically relevant antibiotic resistance in the environment	238 680 €	Christophe Merlin	BiodivERsA 3
2019	DrNanoDAII	Nanodiagnosis for Betalactam Hypersensitivity	169 000 €	Jean-Louis Guéant	EuroNanoMed III
2021	BM-FARM	Biomarkers and Microbiome in Farms for Antimicrobial Resistance Management	53 925 €	Jordi Estelle	ICRAD

Annexe 9

Projets liés à la lutte contre l'antibiorésistance financés par les appels dédiés aux partenariats public-privé depuis 2011

Édition	Acronyme	Titre	Subvention ANR	Programme
2011	ANAKIN (Anti-NAD-Kinase)	Nouveaux composés antibactériens ciblant la NAD kinase	235 248 €	Emergence
2011	MRSA-VAC	Développement d'une approche vaccinale globale contre <i>Staphylococcus aureus</i> ciblant les acteurs de l'immunité humorale, cellulaire et innée	1 025 413 €	RPIB
2011	Septiscreen	Nouveaux traitements pour les septicémies	399 651 €	RPIB
2012	NEOTHERAPEUTICS	Agents Antimicrobiens innovants de type foldamère pour le contrôle de l'infection par des pathogènes du risque biologique : application à <i>Bacillus anthracis</i>	284 952 €	ASTRID
2012	PLAGVAC	Développement préclinique d'un vaccin vivant contre la peste	240 232 €	Emergence
2013	ResisPhages	Enjeux de l'utilisation des bactériophages comme outil de désinfection et de thérapie	292 066 €	ASTRID
2013	ReSynPlex	Détection et caractérisation multiplexée des pathogènes associés aux syndromes respiratoires	622 514 €	TecSan
2014	antibio	Une nouvelle classe d'antibiotiques inhibiteurs de la traduction bactérienne	299 000 €	ASTRID
2015	FASTGENE-HM	Identification génétique ultrarapide et hautement multiplexe par amplification par PCR-2D de sondes cadenas	499 970 €	ASTRID Maturation
2015	LUMINT	Lutte contre les Maladies Infectieuses Nouvelles Technologies	300 000 €	LabCom
2015	TULASEQ	Séquençage haut débit (NGS) pour le développement de nouveaux marqueurs génotypiques chez <i>Francisella tularensis</i> : implications pour la surveillance épidémiologique de la tularémie en France et dans le domaine de la biodéfense	300 354 €	ASTRID
2016	TargetInnate	Ciblage des cellules épithéliales ou des cellules lymphoïdes innées de type 3 pulmonaires pour le traitement des infections respiratoires à <i>Klebsiella pneumoniae</i>	298 511 €	ASTRID
2017	INNOVANTIBIO	Mise en œuvre d'une stratégie innovante pour la découverte de nouveaux antibiotiques à partir des bactéries streptomycètes	298 717 €	ASTRID
2018	ALGAHEALTH	Laboratoire commun de recherche pour l'évaluation du potentiel des algues en santé anti-infectieuse chez l'animal de rente	300 000 €	LabCom
2018	CARTO-PEST	Caractérisation et cartographie de la diversité génétique de <i>Yersinia pestis</i>	296 298 €	ASTRID
2021	MADNART	Mode d'Action Dual : Nouveaux Antimicrobiens ciblant la Réplication et la Traduction	299 738 €	ASTRID
2021	NOVOPLASM	Un axe NOVateur pOur cicatrifier les brûlures sévères infectées par l'application de PLASMa froid	481 902 €	ASTRID Maturation

Annexe 10 Entreprises partenaires dans les projets financés sur l'antibiorésistance

Édition	Acronyme	Entreprise	Catégorie de l'entreprise	Programme	Financement ANR
2011	Septiscreen	SANOFI-AVENTIS RECHERCHE ET DEVELOPPEMENT	Entreprise autre que TPE ou PME	RPIB	Oui
2011	MRSA-VAC	SANOFI-PASTEUR	Entreprise autre que TPE ou PME	RPIB	Oui
2012	GreenSwimmers	NATURATECH	TPE	Systèmes Alimentaires Durables (ALID)	Oui
2013	CEMABS	ROVALTAIN RESEARCH COMPANY	PME	Contaminants et Environnements (CESA)	Oui
2013	ReSynPlex	AXO Science SAS	PME	TecSan	Oui
2014	Imperio	ImaBiotech	PME	AAPG (CE16)	Oui
2014	PIGLETBIOTA	BIOPORC	Divers privé	AAPG (CE18)	Sur fonds propres
2014	PIGLETBIOTA	LALLEMAND SAS	Entreprise autre que TPE ou PME	AAPG (CE18)	Sur fonds propres
2014	PIGLETBIOTA	DELTA VIT (groupe CCPA)	PME	AAPG (CE18)	Sur fonds propres
2014	PIGLETBIOTA	InVivo-NSA (groupe InVivo)	Divers privé	AAPG (CE18)	Sur fonds propres
2014	PIGLETBIOTA	SANDERS (Glon-Groupe Sofiproteol)	Divers privé	AAPG (CE18)	Sur fonds propres
2014	PIGLETBIOTA	TECHNA FRANCE NUTRITION	PME	AAPG (CE18)	Sur fonds propres
2015	FASTGENE-HM	BFORCURE	PME	Astrid Maturation	Oui
2015	FASTGENE-HM	ELVESYS	PME	Astrid Maturation	Oui
2015	POLPHARMA	CIRSEE (Centre International de Recherche sur l'Eau et l'Environnement)	Entreprise autre que TPE ou PME	AAPG (CE04)	Oui
2015	POLPHARMA	RHODIA OPERATIONS	Entreprise autre que TPE ou PME	AAPG (CE04)	Oui
2015	Sincolistin	LESAFFRE INTERNATIONAL	Entreprise autre que TPE ou PME	AAPG (CE21)	Oui
2015	RUMBA	ADISSEO France SAS	Entreprise autre que TPE ou PME	AAPG (CE21)	Sur fonds propres
2016	FAREWEL	ELIGO BIOSCIENCE	TPE	AAPG (CE18)	Oui
2016	BEAM Alliance	ANTABIO	Divers privé	JPI AMR	Sur fonds propres
2017	VAMAGPHAR	AGRONUTRITION	PME	AAPG (CE20)	Oui
2017	VAMAGPHAR	EXPLORAIR	PME	AAPG (CE20)	Oui
2017	Antibiotox	ENOVEO	TPE	AAPG (CE34)	Oui
2019	DEINODROP	DEINOVE	Divers privé	AAPG (CE19)	Oui
2020	Photobiofilm Explorer	INALVE	PME	AAPG (CE43)	Oui
2021	AquaticPollutants TransNet	ACTeon	PME	JPI Aquatic Polluants	Oui
2021	NOVOPLASM	CTIBiotech	PME	Astrid Maturation	Oui
2021	TREATABLE	BlackHole Lab / Sébastien CARGOU	PME	AAPG (CE15)	Oui
2021	TREATABLE	ELVESYS SAS / Microfluidics Innovation Center	PME	AAPG (CE15)	Oui
2021	AMALIA	OLGRAM / R&D	Entreprise autre que TPE ou PME	AAPG (CE18)	Oui
2021	CHARM	BIOTECAL / BIOTECAL	TPE	AAPG (CE43)	Sur fonds propres
2021	ORABBIT	COPRI	TPE	PRIMA	Oui
2021	ORABBIT	Valorex SAS	PME	PRIMA	Oui

Annexe 11 Projets financés dans le cadre du PPR Antibiorésistance

Acronyme	Titre	Subvention France 2030	Coordination	Durée (mois)	Défi
ANORUTI	Analyse de la non-réponse aux antibiotiques <i>in vivo</i> : application à l'infection des voies urinaires par <i>Escherichia coli</i>	1,36 M€	Bruno Fantin IAME Inserm UMR 1137 Université de Paris	48	2
DREAM	Dynamique de la résistance aux antibiotiques au sein du microbiote de l'intestin humain : combinaison d'une cohorte de population informée sur le régime alimentaire avec des études quantitatives <i>in vitro</i> sur l'intestin	2,89 M€	Olivier Tenaille Inserm UMR1137, IAME, Université Paris Nord	72	1
DYASPEO	Dynamique de la propagation, de la persistance et de l'évolution de la résistance aux antimicrobiens entre les humains, les animaux et leur environnement	2,39 M€	Jean-Yves Madec Anses, Lyon	72	1, 2, 3
MicroFlu4AMR	Caractérisation et criblage à haut débit des communautés bactériennes du sol : mécanismes de résistance aux antibiotiques et découverte de nouveaux antibiotiques	1,98 M€	Andrew Griffiths ESPCI, Paris	48	1, 4
MustArt	Stratégies multiparamétriques contre la résistance aux antibiotiques dans la tuberculose	2,4 M€	Alain Baulard Centre Infection et Immunité, Institut Pasteur, Lille	48	1, 2, 4
NAILR	Nouveaux anti-infectieux à résistance limitée (peptides antimicrobiens)	2,47 M€	Vincent Cattoir Université de Rennes 1	60	4
NASPEC	Antibiotiques à spectre étroit pour lutter contre l'émergence de la résistance bactérienne	1,98 M€	Michel Arthur Université de Paris	60	4
OrA-NEAT	Développement et évaluation d'un programme personnalisable de bon usage des antibiotiques adapté aux besoins des Ehpad français	1,77 M€	Nelly Agrinier Université de Lorraine, Nancy	72	2, 3
PHAG-ONE	Développement, production et utilisation clinique de phages thérapeutiques pour traiter les infections dues à des bactéries résistantes aux antibiotiques	2,85 M€	Frédéric Laurent Hospices civils de Lyon	72	3, 4
Seq2Diag	Séquençage du génome entier et intelligence artificielle pour caractériser et diagnostiquer la résistance aux antibiotiques et la capacité à échapper au traitement	2,2 M€	Philippe Glaser Institut Pasteur, Paris	60	2
TherAEPI	Thérapie à base épigénétique pour contourner la résistance	2,68 M€	Paola B Arimondo Institut Pasteur, Paris	60	4

Annexe 12

Projets LabEx ayant contribué à la recherche sur l'antibiorésistance

Date de début	Date de fin	Acronyme	Titre du projet	Subvention France 2030	Thématique	Coordination
2011	2018	GRAL	Alliance Grenobloise pour la Biologie Structurale et Cellulaire Intégrées	8,3 M€	Biologie-Médecine	Université de Grenoble Alpes
2011	2019	CSC	Centre de Chimie des Systèmes Complexes	9,8 M€	SMI	Université de Strasbourg
2011	2019	NET-RNA	Networks of Regulatory RNAs across kingdoms and dynamical responses to biotic and abiotic stresses	5,9 M€	Biologie-Médecine	Université de Strasbourg
2011	2020	LERMIT	Laboratoire de Recherche sur le Médicament et l'Innovation Thérapeutique	19 M€	Biologie-Médecine	Université Paris-Saclay
2011	2021	OSUG@20	Innovative strategies for observing and modelling natural systems	7,6 M€	STUE	Université de Grenoble Alpes
2011	2022	CeMeb	Centre Méditerranéen de l'Environnement et de la Biodiversité	4,3 M€	Agro-Éco	Université de Montpellier
2011	2024	EGID	Pôle français de recherche sur le diabète EGID	13,1 M€	Biologie-Médecine	Fondation I-SITE Université Lille Nord-Europe
2011	2024	IBEID	Integrative Biology of Emergent Infectious Diseases	44,6 M€	Biologie-Médecine	Institut Pasteur
2011	2024	MABIMPROVE	Optimization of therapeutic monoclonal antibodies development	11,9 M€	Biologie-Médecine	Université de Tours
2011	2024	TULIP	Towards a unified theory of biotic interactions: the role of environmental perturbations	13,4 M€	Agro-Éco	Université de Grenoble Alpes
2012	2018	ARCANE	Grenoble, une chimie bio-motivée	6,5 M€	SMI	Université de Grenoble Alpes
2012	2019	SERENADE	Vers une conception de nanomatériaux innovants, durables et sûrs	6,3 M€	SMI	AMU
2012	2022	ECOFECT	Dynamiques éco-évolutives des maladies infectieuses	4 M€	Biologie-Médecine	Comue Lyon
2012	2022	WHO I AM	Déterminants de l'Identité : de la molécule à l'individu	13,2 M€	Biologie-Médecine	Université Paris Cité
2012	2024	DRIHM / IRDHEI	Dispositif de Recherche Interdisciplinaire sur les Interactions Hommes-Milieus	9,1 M€	SHS	CNRS
2012	2024	DYNAMO	Dynamique des membranes transductrices d'énergie : biogénèse et organisation supramoléculaire.	13,9 M€	Biologie-Médecine	CNRS
2012	2024	LIPSTIC	Lipoproteins and health: prevention and treatment of non-vascular inflammatory diseases and of cancer	4,4 M€	Biologie-Médecine	Comue Université Bourgogne-Franche-Comté
2012	2024	SYNORG	Synthèse Organique : des molécules au vivant	11,1 M€	SMI	Comue Normandie Université

Annexe 13 Projets de l'IRT BIOASTER subventionnés par France 2030 ayant trait à l'antibiorésistance

Parmi ces quinze projets de BIOASTER financés par France 2030 de 2011 à 2021, six d'entre eux (de 2011 à 2014) ont donné lieu à une valorisation académique par publications ou brevets. Le budget global de ces quinze projets pour l'IRT a été de 11,8 M€ (budget unitaire variant de 20 à 3,4 M€). Six projets ont bénéficié d'une subvention académique ou associative. Douze des quinze projets présentés ont trait au thème « Nouvelles approches pour lutter contre l'antibiorésistance ».

Date de début	Acronyme	Titre du projet	Collaboration industrielle	Participation académique ou associative	Partenariat
2011	T3SS	Evaluation of virulence factor inhibitors that impede the functionality of type 3 syringe of <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Grand groupe pharmaceutique	Oui	National
2011	BIOFILMS	Evaluation of antibiofilm compounds	Grand groupe pharmaceutique	Oui	National
2012	PAM	Evaluation of boosters of the endogenous antimicrobials peptide as alternative to antibiotics	Grand groupe pharmaceutique	Oui	National
2012	PAM-Diag	Identification of antimicrobial endogenous peptides mobilized by neutropenic patients	Grand groupe pharmaceutique	Oui	National
2013	DACCAR	Optimization of an enzyme that destroy colonique residual antibiotics to avoid emergence of resistance	Société de biotechnologie	Oui	National
2014	NAREB	Nanotherapeutics for antibiotic resistant emerging bacterial pathogens	Grand groupe pharmaceutique et société de biotechnologie	Oui	International
2014	Immustaph	Optimization of a therapeutic vaccine against <i>Staphylococcus aureus</i> in bone and joint infection	Grand groupe pharmaceutique	Oui	National
2015	Cinnabiotic	Evaluation of a broad spectrum natural antibiotic	Société de biotechnologie		National
2016	FragBLI	Fragment-based drug discovery of beta-lactamase inhibitors	Société de biotechnologie	Oui	National
2017	MDR-TB Net	Explore host-pathogen interactions (<i>Mycobacterium tuberculosis</i> -macrophages). Lipidomic		Oui	International
2018	ACIMET	POC on platform built to generate METabolomics Signature Associated to drugs MoA (Mode of Action): Met-SAMoA	Grand groupe pharmaceutique		International
2018	iKat - PROTUD	Tunable degradation of essential proteins, tool for counter/secondary screening (Replacement of radioactive MMS test).	Grand groupe pharmaceutique		International
2019	GNA-Now	Evaluation of Gram-negative new antibiotics. Differential omic analysis of samples under variable antibiotic pressure	Grand groupe pharmaceutique et société de biotechnologie	Oui	International
2019	PhagUTI	Phage therapy by iv route to treat <i>E.coli</i> induced cystitis and pyelonephritis. Phage biodistribution, PK and efficacy on immunocompetent mice	Société de biotechnologie		National
2020	ERA4TB	Evaluation of Antituberculosis new drug candidates. Culture in BSL3, proteomic, lipidomic and transcriptomic + TnSeq and immunomonitoring	Grand groupe pharmaceutique et société de biotechnologie	Oui	International

Annexe 14

Projets France 2030 (hors LabEx, IDEX et IRT) ayant contribué à la recherche sur l'antibiorésistance

Date de début	Date de fin	Acronyme	Titre du projet	Subvention France 2030	Thématique	Coordination	Action
2011	2016	BACNET*	Vers une nouvelle définition des réseaux de régulation bactériens, de leur composition et de leur dynamique	1,3 M€	Biologie-Médecine	Institut Pasteur	Bio-Informatique
2011	2019	Aster-Cerege	Plateforme de géochimie isotopique ASTER/CEREGE	3,7 M€	STUE	Aix-Marseille Université	Equipex
2011	2019	Equip Meso	Équipement d'excellence de calcul intensif de Mésocentres coordonnés	10,5 M€	Math-Info	Grand Équipement National de Calcul Intensif	Equipex
2011	2019	Imaginex Biomed	Plateau de microscopie de criblage à haut débit et d'analyse à très haute résolution	6,8 M€	Biologie-Médecine	Université de Lille	Equipex
2011	2019	Ligan PM*	Plateforme Lilloise de séquençage du génome humain	8,0 M€	Biologie-Médecine	CNRS	Equipex
2011	2021	Inception*	Institut Convergences pour l'étude de l'Émergence des Pathologies au Travers des Individus et des populations	12,0 M€	Biologie-Médecine	Institut Pasteur	Instituts Convergences
2011	2024	France génomique	France Génomique	65,9 M€	Biologie-Médecine	CEA	Infrastructures
2011	2024	France-BiImaging	France BiImaging	29,2 M€	Biologie-Médecine	CNRS	Infrastructures
2011	2024	Frisbi	Infrastructure Française pour la Biologie Structurale Intégrée	35,8 M€	Biologie-Médecine	CNRS	Infrastructures
2012	2017	Ancestrome*	Approche de Phylogénie intégrative pour la reconstruction de « -omes » ancestraux	2,2 M€	Biologie-Médecine	Université de Lyon I	Bio-Informatique
2012	2020	BFF	Biomasse pour le futur	10,0 M€	Agro-Eco	INRAE Biotech	Bioressources
2012	2022	RE-CO-NAI	Plateforme de Recherche sur les cohortes d'enfants suivis depuis la naissance	13,0 M€	SHS	Ined Paris	Equipex
2012	2024	Méditerranée Infection	Institut hospitalo-universitaire en maladies infectieuses	83,3 M€	Biologie-Médecine	Méditerranée Infection	IHU
2012	2024	MGP	MetaGenoPolis	24,7 M€	Biologie-Médecine	INRAE	Démonstrateurs
2012	2024	ProFi*	Infrastructure Française de Protéomique	16,5 M€	Biologie-Médecine	CNRS	Infrastructures
2013	2024	IFB (RENABI)	Institut Français de Bioinformatique	22,8 M€	Biologie-Médecine	CNRS	Infrastructures
2019	2024	IdBIORIV	Identification, profil d'antibiorésistance et évaluation de la virulence de bactéries pathogènes de manière concomitante par spectrométrie de masse ciblée	5,7 M€	Biologie-Médecine	Hospices civils de Lyon	RHU

*Recherche menée en collaboration avec un projet LabEx

Les données et analyses présentées sont issues du bilan interne ANR sur l'antibiorésistance 2011-2021 réalisé en 2022 par Philippe Bouvet, Jean-Marc Cavaillon, Jean-Claude Dussaule, Sophie Gay, Marie-Pierre Gosselin, Quentin Merel, Ana Navarrete, Ingrid Pfeifer et Nadia Senni en collaboration avec la Direction de la stratégie numérique et des données.

Conception et coordination éditoriale

Philippe Bouvet, Jean-Marc Cavaillon, Jean-Claude Dussaule, Sophie Gay, Marie-Pierre Gosselin, Quentin Merel, Ana Navarrete, Ingrid Pfeifer et Nadia Senni en collaboration avec la Direction de l'information et de la communication.

Conception et réalisation graphique

Laurent Wachoru

Crédits photos

Adobe Stock

Nous suivre sur :

 @agencerecherche

 ANR

 ANR

www.anr.fr