

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **12 décembre 2023**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame KOLENDA Camille**

Titre de la thèse : « *Potentiel thérapeutique de bactériophages anti-Staphylococcus : déterminants et optimisation de leur activité* »



Résumé

La lutte contre l'émergence de la résistance aux antibiotiques constitue un des défis majeurs de santé publique actuels et à venir. Parmi les stratégies thérapeutiques alternatives, la phagothérapie, utilisant des virus appelés bactériophages (ou phages) capables d'infecter spécifiquement les bactéries, suscite beaucoup d'espoir. Son essor repose notamment sur la constitution de larges collections de phages d'intérêt pour cibler les principaux pathogènes humains, permettant la sélection rapide des phages les plus actifs contre les souches de chaque patient lorsqu'un traitement est envisagé. Dans ce contexte, le projet PHAG-ONE porté par les Hospices Civils de Lyon a pour objectif d'établir une telle banque de phages dirigés contre différentes espèces bactériennes, incluant *Staphylococcus aureus* et *epidermidis*. Ces deux espèces du genre *Staphylococcus* sont deux cibles prioritaires pour le développement de la phagothérapie en raison de leur pouvoir pathogène, l'incidence de ces infections et leur niveau élevé de résistance aux antibiotiques.

La constitution de collections de phages à fort potentiel thérapeutique implique la sélection de phages présentant des spectres d'hôtes larges et complémentaires. Les déterminants bactériens de ce spectre d'hôte sont multiples et liés aux différentes étapes du cycle viral (adsorption, réplication, transcription, traduction, assemblage des virions et lyse bactérienne). La caractérisation de l'activité des phages doit également inclure l'évaluation de leur activité contre les bactéries au sein d'un biofilm, barrière mécanique et physiologique limitant l'activité des antibiotiques. Enfin, le développement d'outils permettant l'optimisation de l'activité des phages est un enjeu important pour éviter la répétition des erreurs commises avec les antibiotiques ayant abouti à la sélection de résistances.

Ce travail de thèse avait pour objectif d'étudier le potentiel thérapeutique des phages anti-*Staphylococcus* en répondant à ces enjeux, en combinant une approche translationnelle pour une application thérapeutique, et une approche fondamentale pour caractériser les déterminants de l'interaction et coévolution entre phages et bactéries.

Dans le cadre du premier axe, nous avons décrit la constitution d'une collection de trois genres de phages avec une activité large contre *S. aureus* et également différentes espèces de *S. non-aureus* sauf *S. epidermidis*. Nos travaux ont cependant souligné des différences de mesure d'activité *in vitro* selon les techniques utilisées. Nous avons proposé la combinaison de deux approches *in silico* pour identifier des déterminants génomiques bactériens de l'activité des phages anti-*S. aureus* à investiguer prioritairement dans de futures études expérimentales (approche orientée pour identifier des systèmes présentant une analogie avec des systèmes anti-phages décrits chez d'autres espèces bactériennes et approche sans *a priori* avec une analyse pan-génomique). Nous avons conduit la caractérisation de l'activité anti-biofilm de représentants des trois genres de phages en comparaison avec celles d'antibiotiques, mettant en évidence des effets synergiques entre phages et antibiotiques.

Le deuxième axe était consacré à l'étude d'outils de potentialisation de l'activité des phages. Tout d'abord, devant la faible activité des phages contre *S. epidermidis*, nous avons investigué la possibilité d'utiliser le protocole d'entraînement Appelmans, permettant de forcer la capacité naturelle des phages à s'adapter aux bactéries résistantes, pour élargir leur spectre d'hôte à cette espèce en alternative à l'isolement de nouveaux phages. Ceci était cependant associé à une importante spécificité d'action inter- et intra-*sequence type*. Enfin, nous avons étudié l'intérêt des combinaisons de phages anti-*S. aureus*. Nous avons identifié peu d'évènements synergiques, principalement pour les associations de phages de genres différents permettant de limiter l'émergence de mutants résistants.