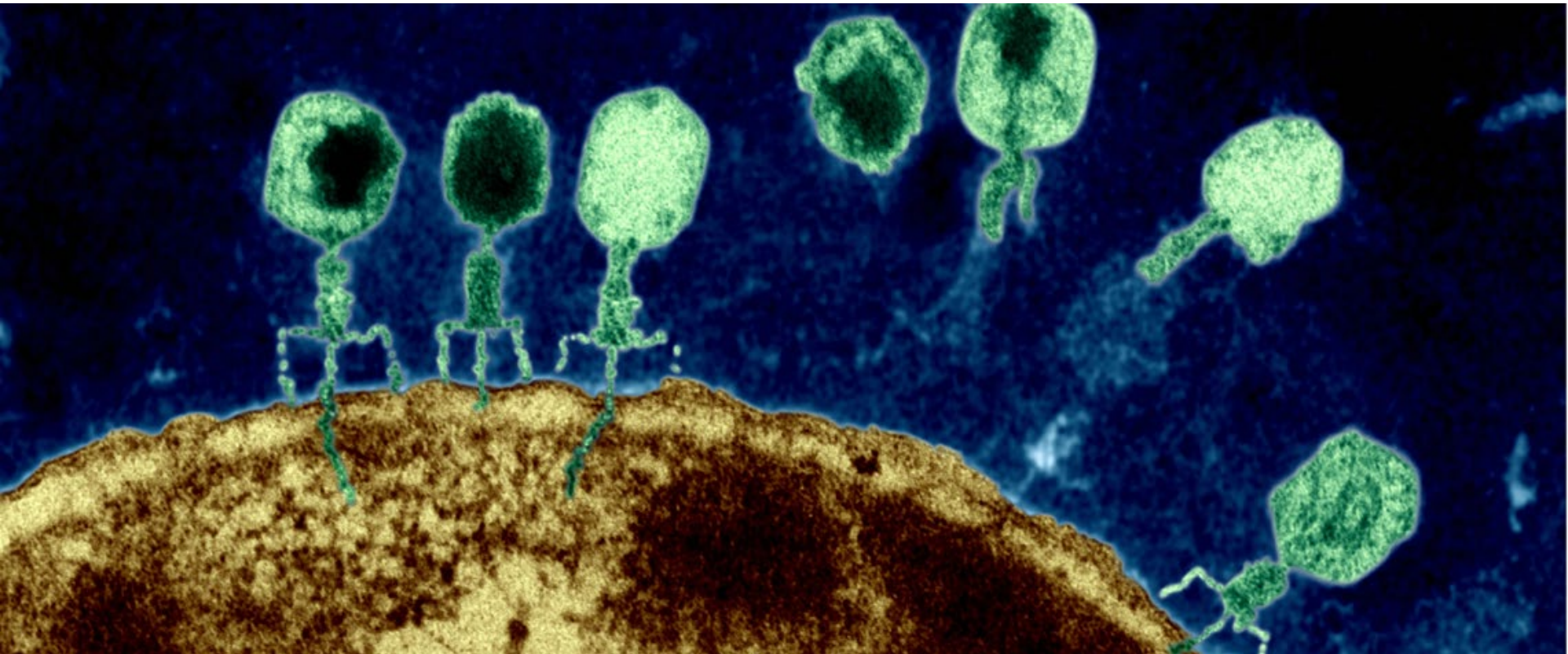


Les Bactériophages...

Retour vers le future !



Service de Réanimation
médico-chirurgicale
CH Henri Dubos
Pontoise



Nicolas Dufour

SPIF – 30 mars 2019

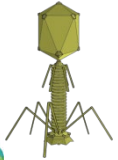
ASSISTANCE
PUBLIQUE  HÔPITAUX
DE PARIS

 **Inserm** 
Institut Pasteur

Les bactériophages en 10 points clés...



- Pourquoi ?



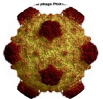
- Qu'est-ce donc ? D'où viennent-ils ?



- Les bactériophages aujourd'hui...



- Avantages, inconvénients...



- Des exemples...



- Innocuité ?



- Les utilisations pulmonaires



- Perspectives

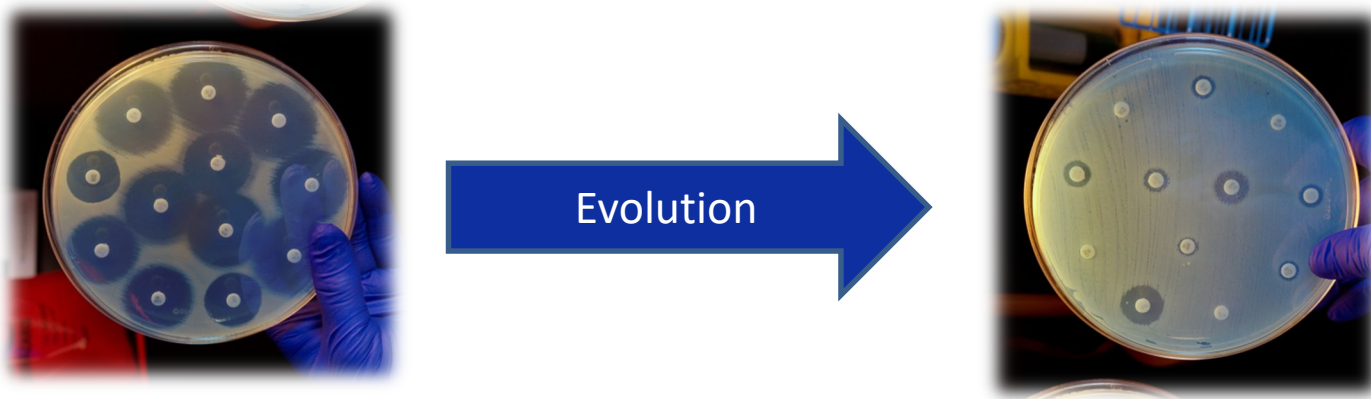
Les bactériophages...

① Pourquoi ?



Pourquoi ?

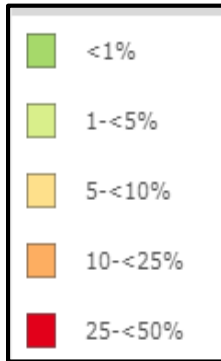
- La résistance bactérienne aux antibiotiques est une évolution normale... elle progresse...



- ... plus vite que l'apparition de nouveaux antibiotiques susceptibles de la contenir pendant quelques temps...

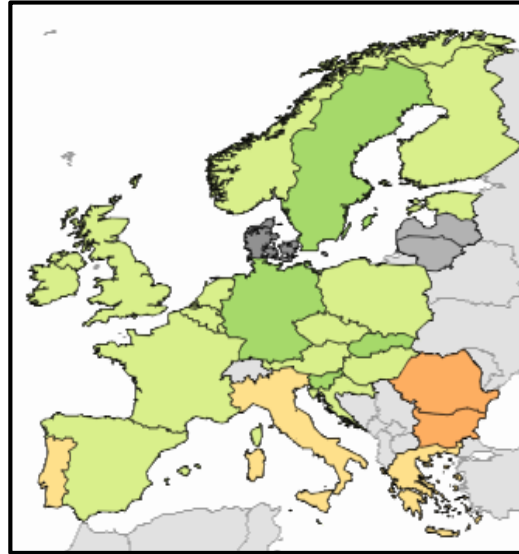
Antibioresistance - *E. coli*

Résistance (R+I) aux céphalosporines de 3^{ème} génération

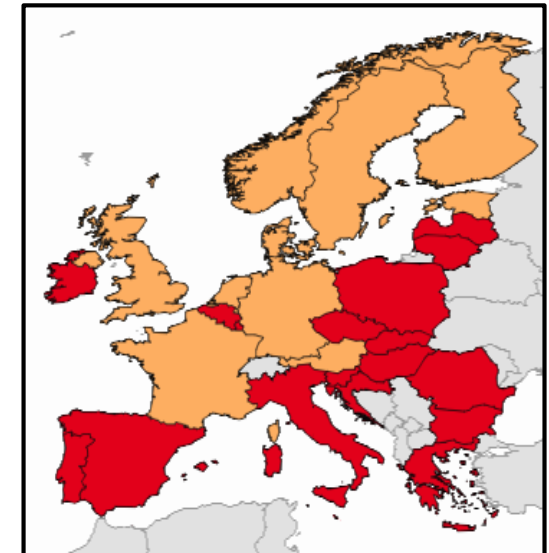
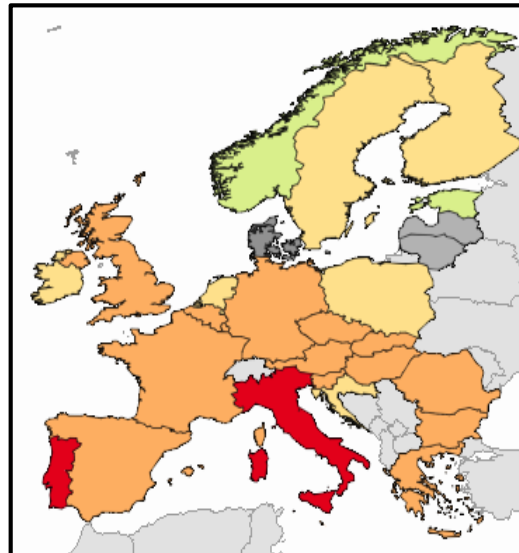
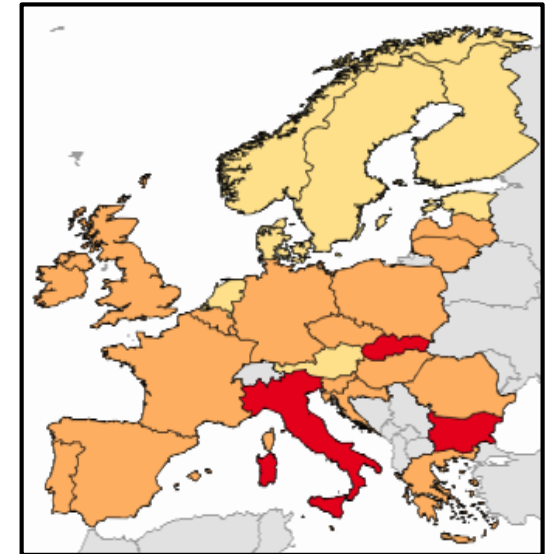


Résistance (R+I) aux fluoroquinolones

2003



2017



Source : *European Center for Disease Control*

Un fardeau de + en + lourd

+ Peu de nouveaux antibiotiques

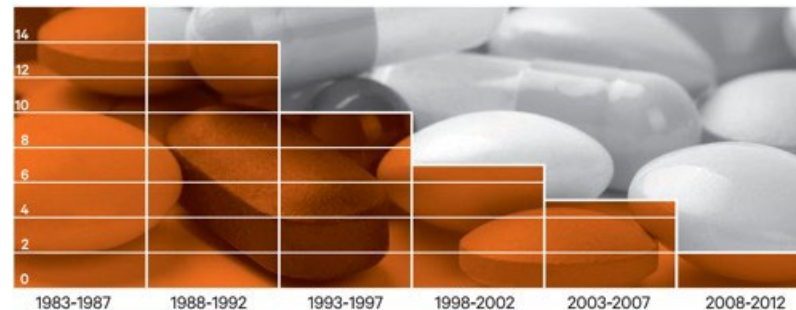
Estimated minimum number of illnesses and deaths caused by antibiotic resistance*:

At least  **2,049,442** illnesses,
 **23,000** deaths

**bacteria and fungus included in this report*

Le nombre de nouveaux antibiotiques ne cesse de diminuer

Nouveaux antibiotiques autorisés par la FDA, par période de 5 ans



Les bactériophages...

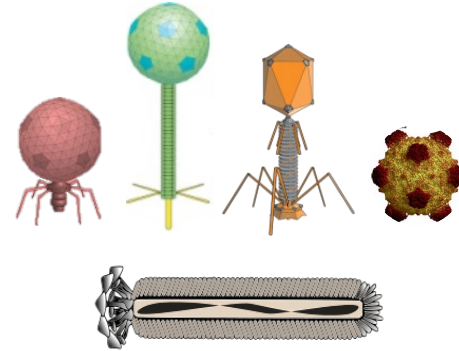
② Qu'est-ce que c'est ?



Les bactériophages : qui sont-ils ?

Des virus qui infectent
spécifiquement les bactéries

10^{30} bactériophages sur la planète
 10^8 génomes différents



De puissants régulateurs
de la biomasse
bactérienne

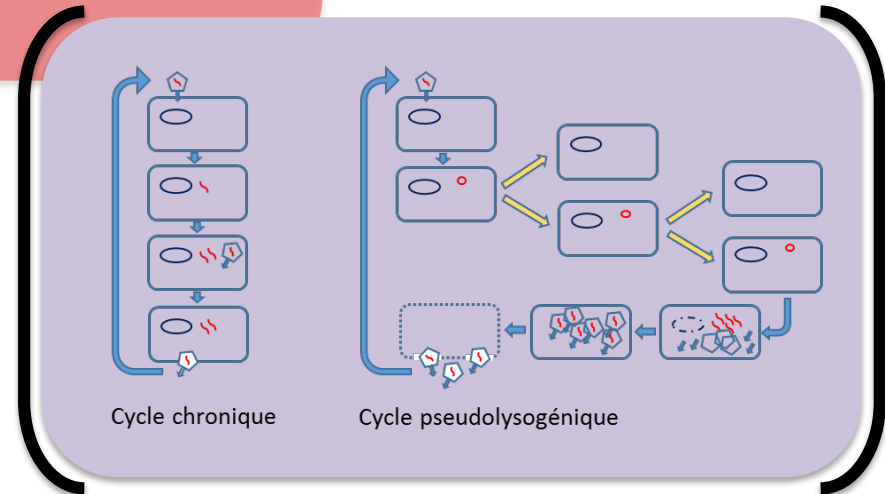
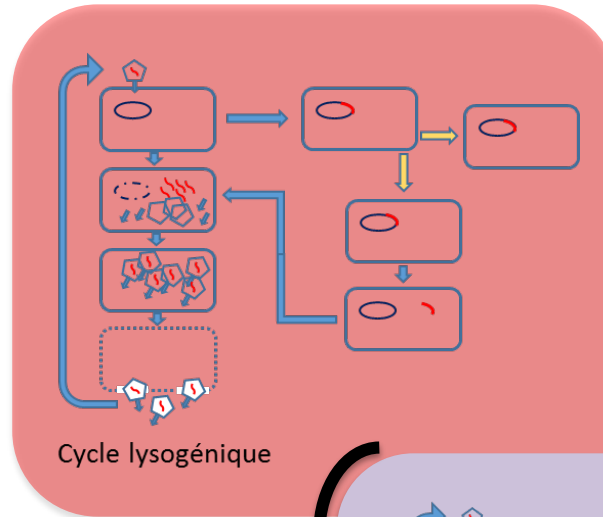
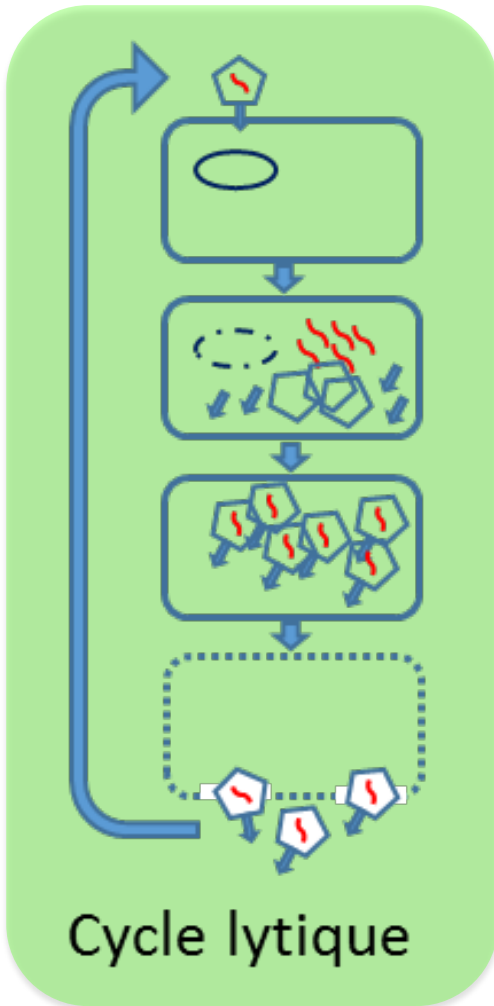


Des traitements anciens...
inscrits dans le Vidal
jusqu'en 1975...



Les différents cycles infectieux

(propres à chaque bactériophage)



○ Chromosome bactérien
⬇ Bactériophage

Cellule bactérienne

↳ Génome viral
➡ Division cellulaire



Le cycle lytique



Les bactériophages =
les seuls agents antibactériens dont la
concentration augmente sur le site
infectieux avec le temps

Adsorption

Injection du
matériel génétique

Réplication - Assemblage

Lyse bactérienne =
objectif du traitement



Lyse bactérienne et libération des virions = 9-30 minutes





Exemple du phage LM33_P1

Souche *E. coli* LM33 lysée en 9'
à 37°C, en libérant en moyenne
320 virions par cycle

Dufour et al., JAC, 2016

A. baumannii lysé par le phage vB-
GEC_Ab-M-G7. MEB, colorisé.

Leibniz Institute DSMZ, Allemagne

1 μ m

Éléments de comparaison

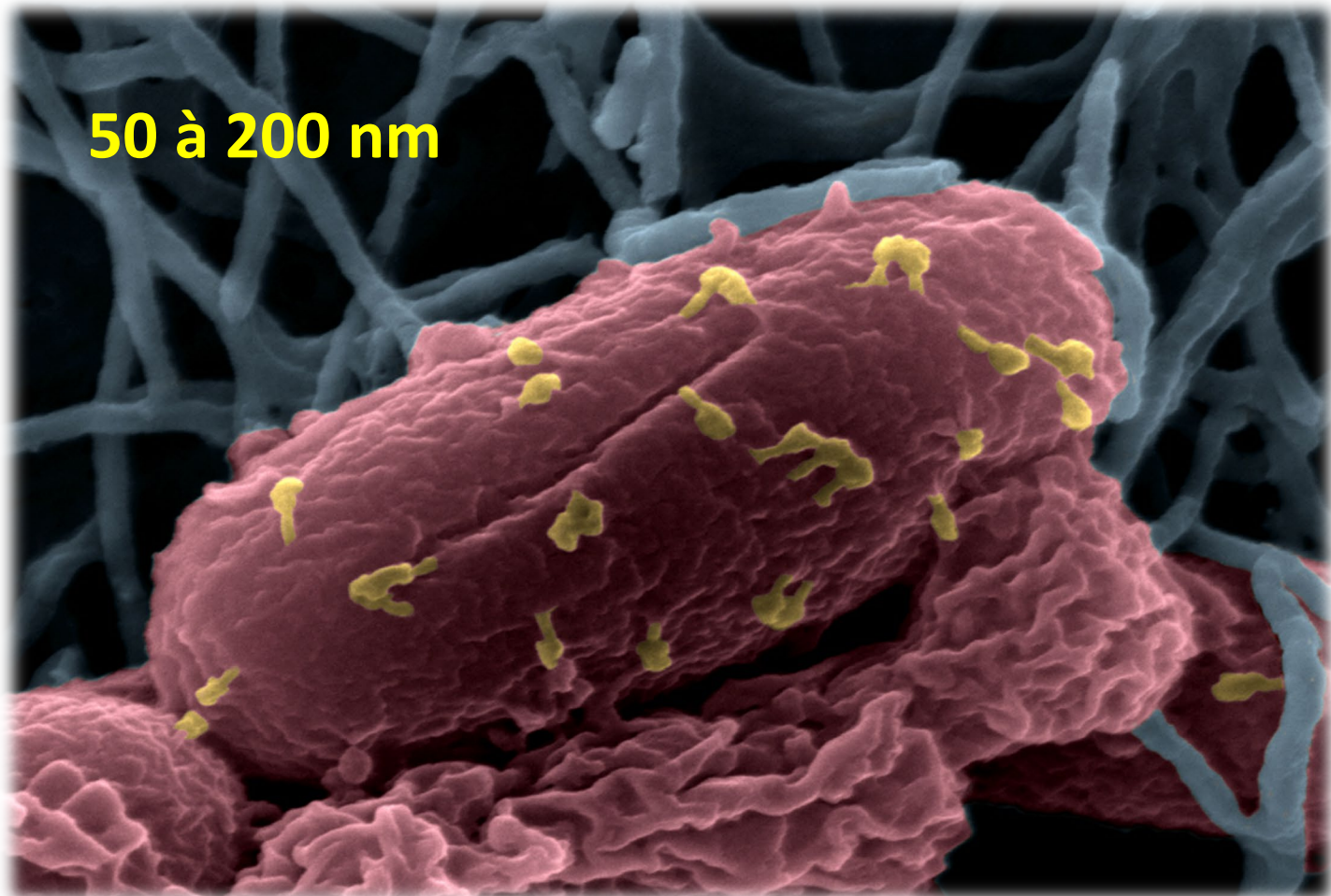
d'autres virus infectant les cellules eucaryotes

Temps pour lyser la cellule cible...

- *Herpesviridae* (Smith JD, J Virol, 1973)
 - HSV : 8 heures
 - CMV : 4 jours
- *Influenza* (Gürtler L, Influenza Report, 2006)
 - 6 heures
- *Ebola* (Nanbo A, Scientific Reports, 2013)
 - 36 - 48 heures



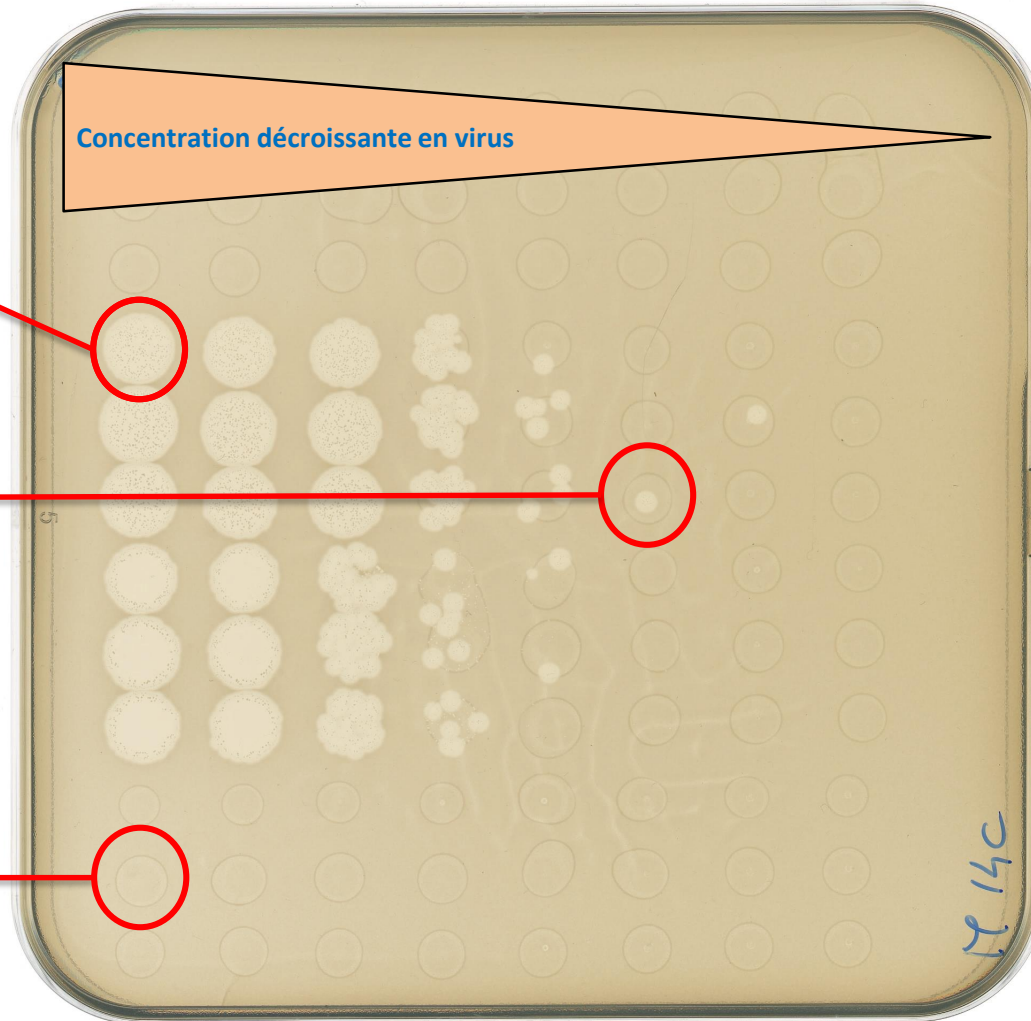
Quelle taille ?



L. Debarbieux, *Institut Pasteur* (MEB, colorisé)

“Plages de lyse”

aspect sur boîte (milieu gélosé)



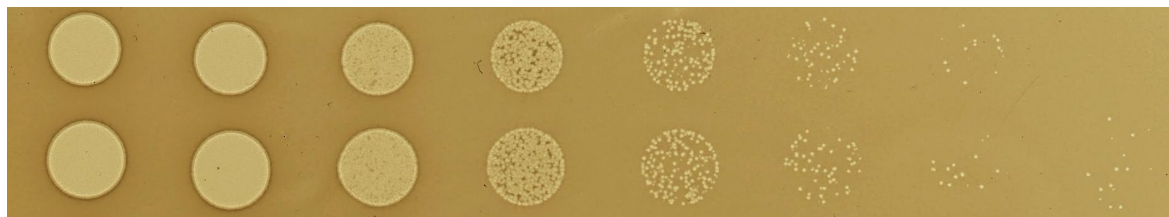
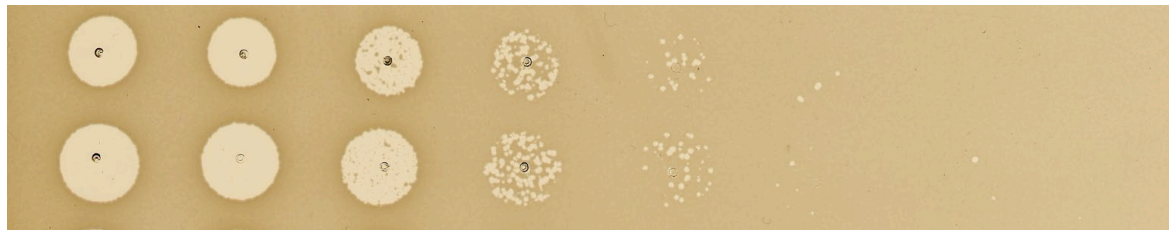
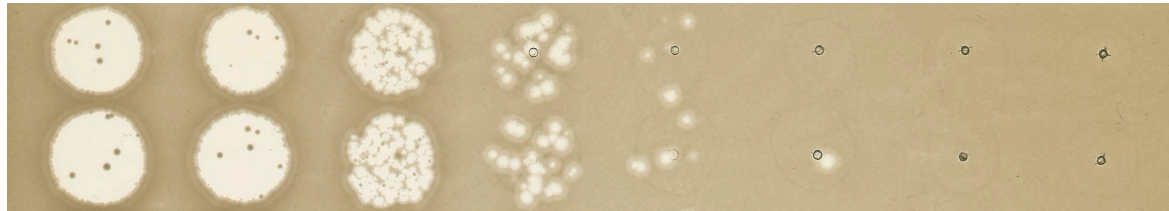
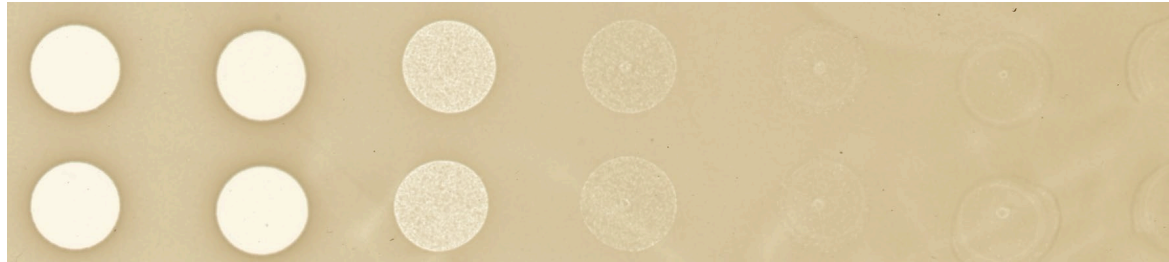
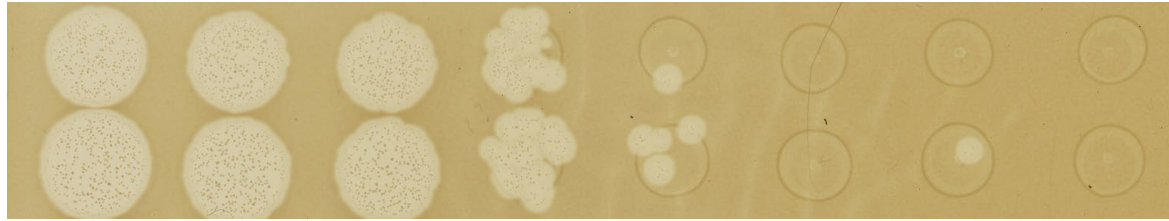
Plages
confluentes

Une unique
plage de lyse

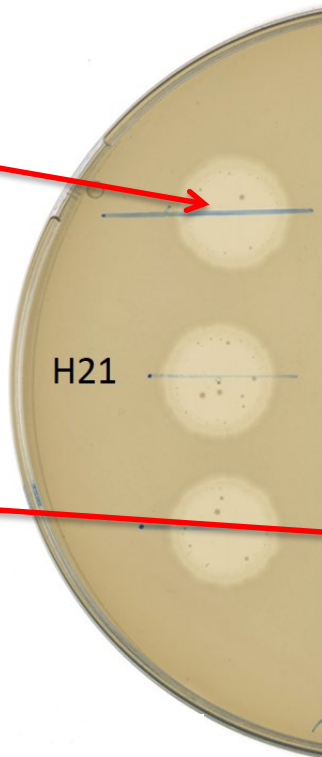
Dépôt d'un
phage qui n'a
pas d'activité
sur la souche
testée

La boîte de culture
est au préalable
recouverte d'une
couche de la
souche
bactérienne à
tester

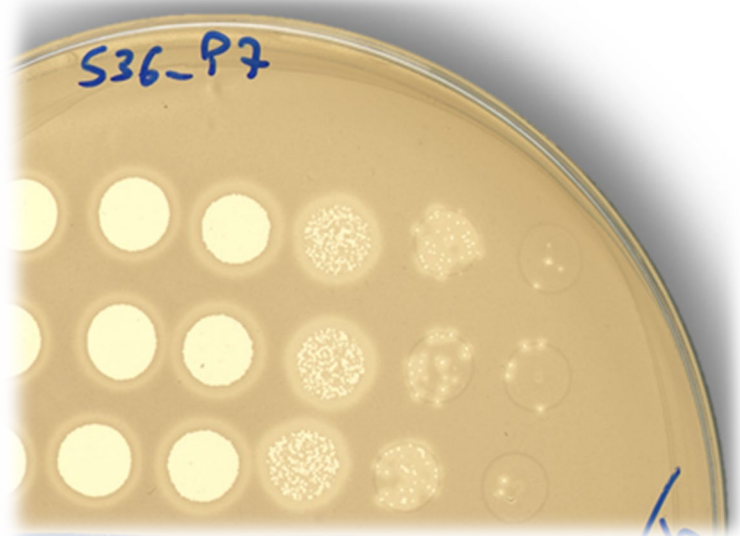
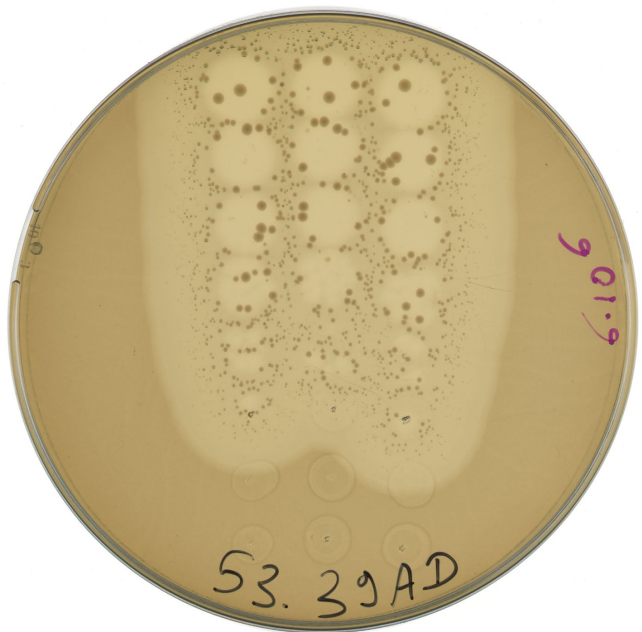
Plages de lyse : différentes morphologies



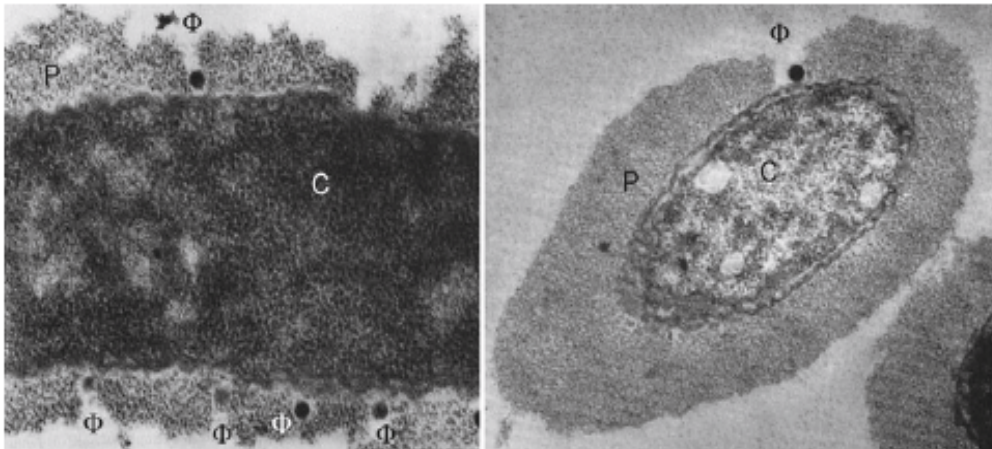
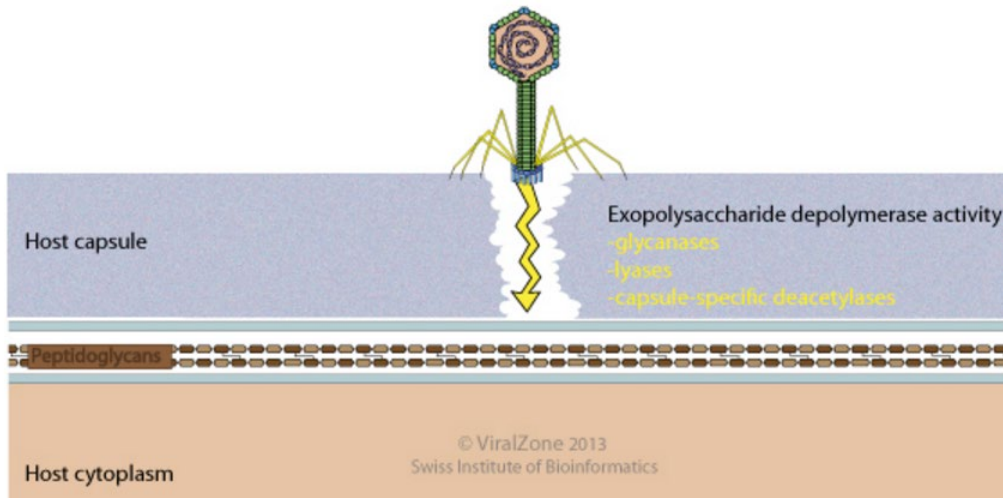
**Aire d'effacement
complet du biofilm
bactérien (lyse
complète)**



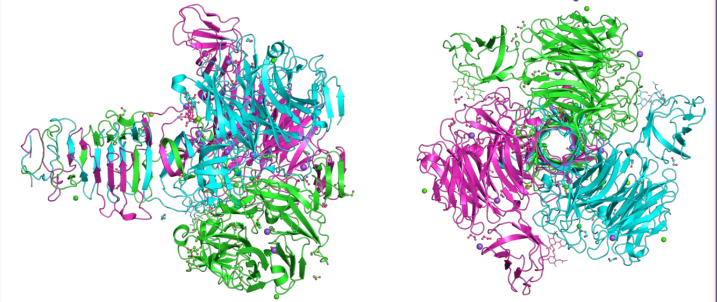
**Halo entourant la zone
centrale de lyse :
modifications du
biofilm**



Des fibres de queue qui possèdent une activité enzymatique...



Bayer et al., 1979



Extrémité de la fibre de queue du phage phi92
(activité endosialidase)

- Une action sur les germes capsulés
- Une activité hydrolytique contre le biofilm



- Infection ostéo-articulaire
- Matériel inextirpable
- ...

Les bactériophages...

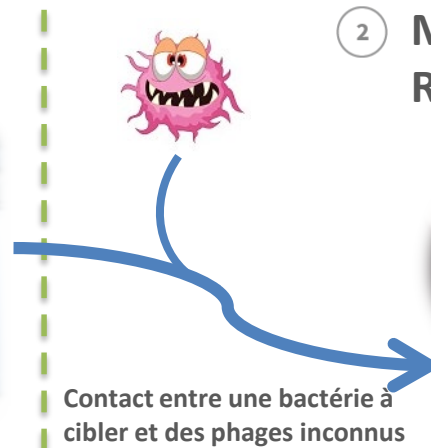
③ D'où viennent-ils?



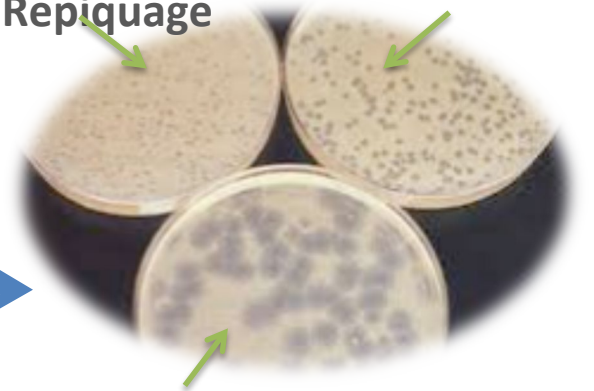
D'où viennent-ils ?

... de l'environnement !

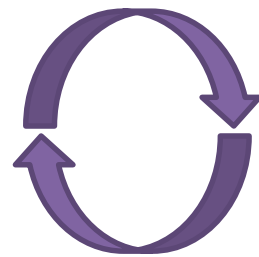
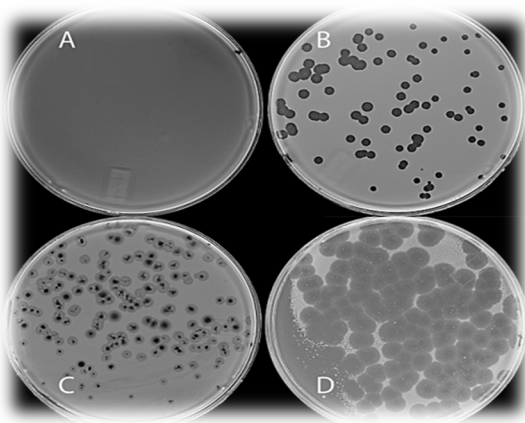
- ① Echantillon d'eau usée
(source de virus)



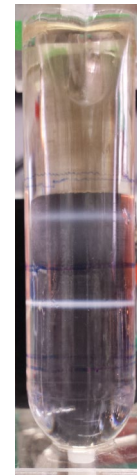
- ② Morphologies des plages de lyse
Repiquage



- ③ Purification des phages



Amplification
Concentration



Ultracentrifugations



Chromatographie

Les bactériophages...

④ Leur utilisation aujourd'hui



Les bactériophages aujourd'hui

- Utilisation dans l'agro-alimentaire



Exemple d'une utilisation en agro-alimentaire



Solution de bactériophages anti-*Listeria monocytogenes*



Implémentation dans le processus de
manufacture des aliments à risque



Les bactériophages aujourd'hui

- Utilisation dans l'agro-alimentaire
- Utilisation en soins courants
 - Géorgie, Pologne, Russie essentiellement
 - En France... ATU / hors ATU (ANSM)
- Utilisation en recherche fondamentale
- Utilisation en recherche clinique



Les bactériophages...

5 Leurs avantages et inconvénients

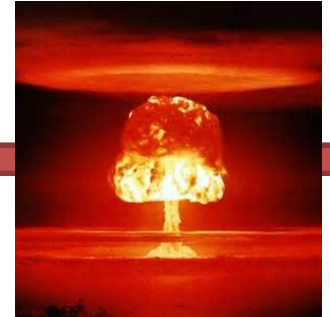


Un spectre étroit



Impact réduit sur le microbiote digestif

Imipénème



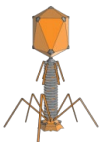
Cefotaxime



Amoxicilline
clavulanate



Amoxicilline

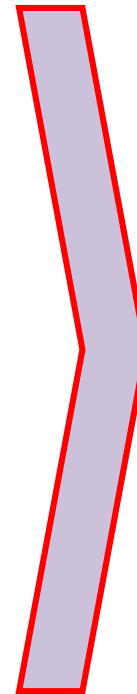


Un phage



Solution : augmenter la diversité des attaquants (cocktail de bactériophages)

- Une association en “cocktail” pour...



- élargir le spectre
- limiter l'apparition de résistance

Exemple...



L'association des bactériophages en cocktail : une sommation des spectres d'hôtes individuels

Bactéries (n=196)

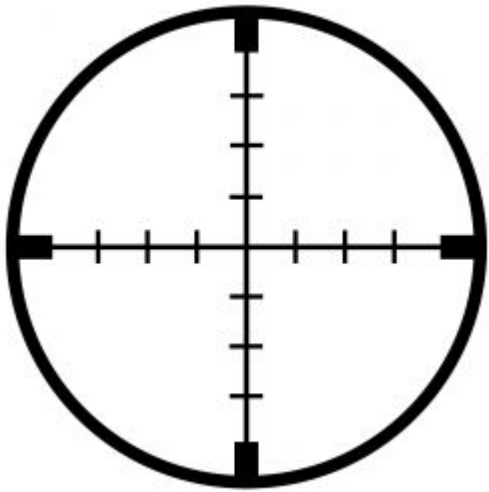
Exemple

71 bactériophages testés contre 196 souches d'*E. coli* responsables de pneumonies acquises sous ventilation mécanique

Bactériophages (n=71)

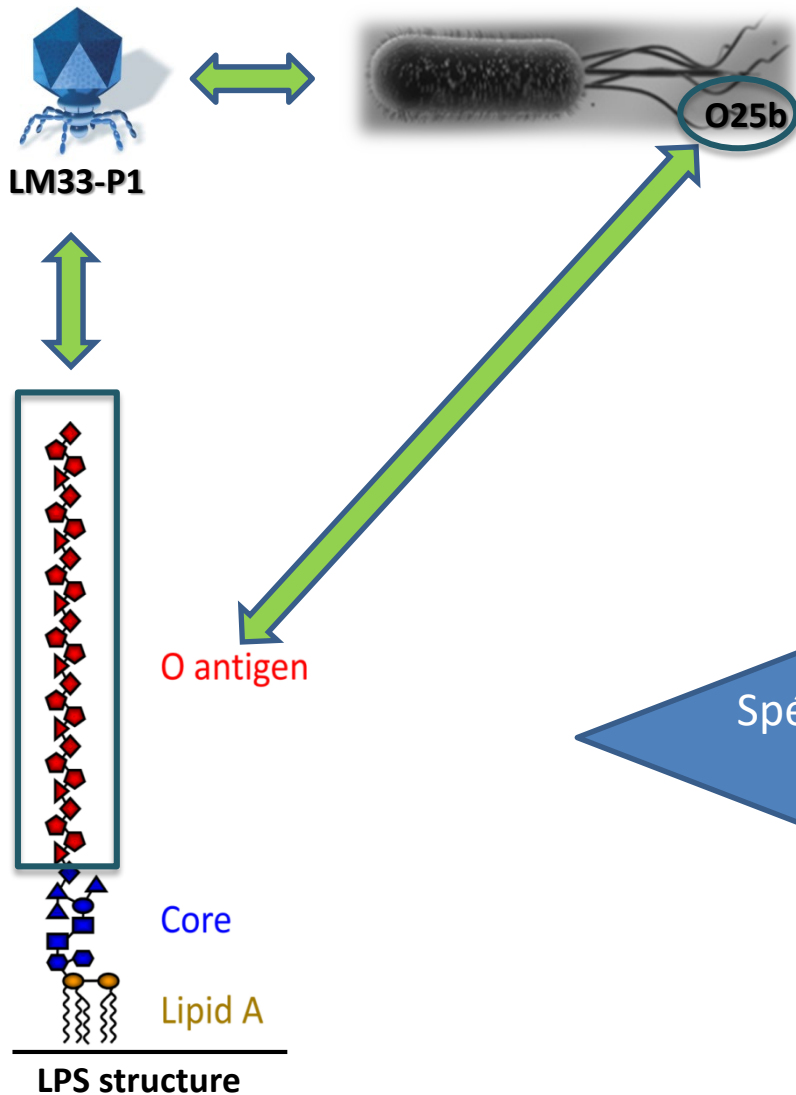
Bactériophage	Nombre de souches lysées par bactériophage	Couverture cumulée	
		absolue (n)	relative (%)
1 536-P3	78	79	40,3
2 LF73-P1	69	109	55,6
3 DIJ07-P1	67	118	60,2
4 LF110-P3	64	137	69,9
5 55989-P2	47	142	72,4
6 LM40-P1	17	145	73,9
7 LM33-P1	9	148	75,5

- Spectre étroit = permet un “ciblage” spécifique



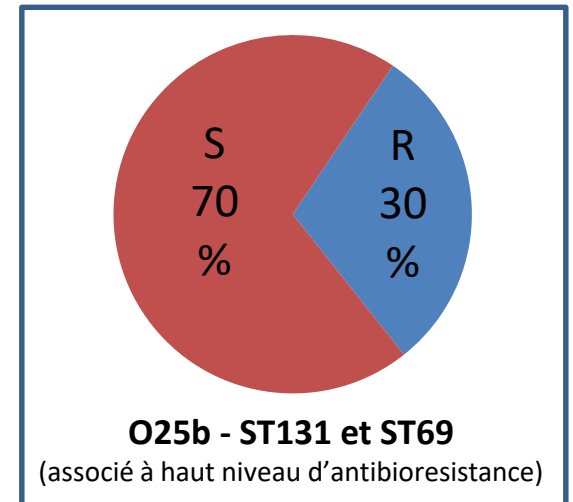
Exemple des souches O25b-ST131 chez *E. coli* et du phage LM33-P1

LM33-P1 : un bactériophage qui infecte spécifiquement ce complexe clonal !



LM33-P1 testé contre 283 souches de séro groupe connu (isolats cliniques, collections variées)

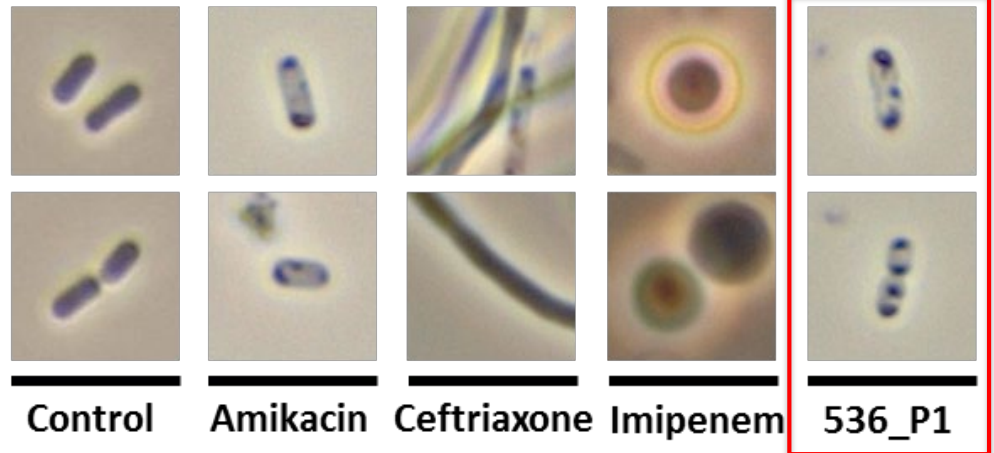
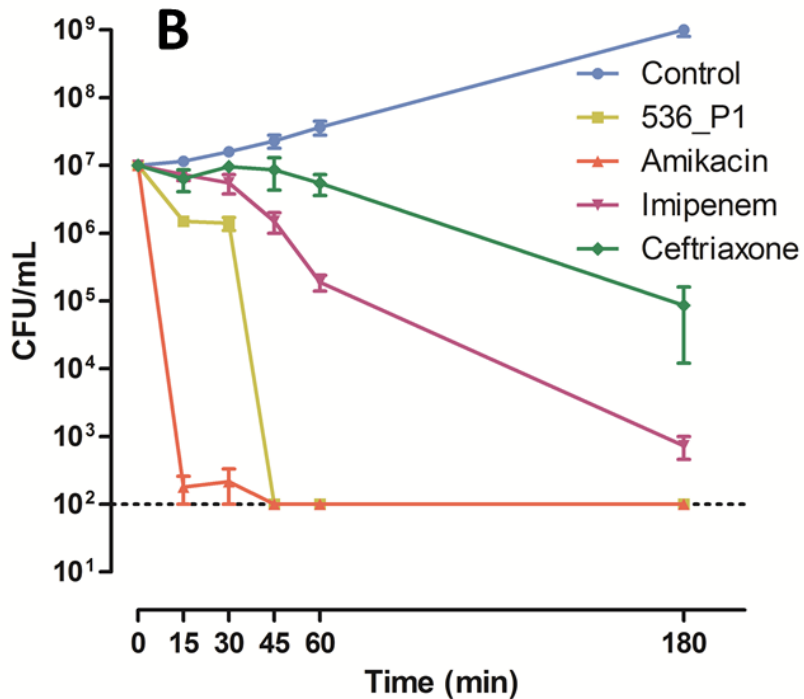
Spécificité :
100%



Une cinétique rapide

un mode d'action se rapprochant de celui des aminosides

In vitro
1 souche d'*E. coli*
+ 1 phage ou antibio.
A H3 de cultures à 37°C
C° antibio. = 8x la CMI



Les bactériophages...

⑥ Leur innocuité ?

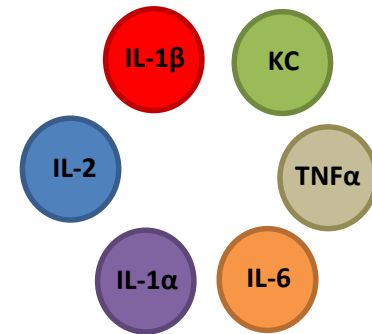


Les bactériophages : des molécules pro-inflammatoires ?

? Mise en jeu de **l'immunité innée** avec synthèse de molécules pro-inflammatoires ?

- *In vitro* : non
- *In vivo* chez l'animal : non
- *In vivo* chez l'homme : non

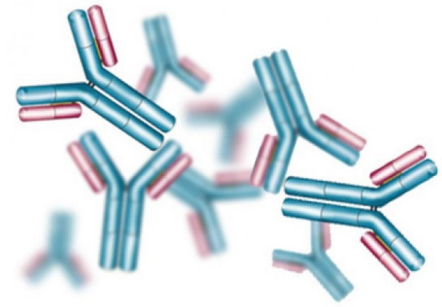
Sous réserve d'une préparation correctement purifiée



- Miedzybrodzki R, **Clinical aspects of phage therapy**, *Adv Virus Res*, 2012.
- Bruttin A, **Human volunteers receiving Escherichia coli phage T4 orally: a safety test of phage therapy**, *Antimicrob Agents Chemother*, 2005.
- McCallin S, **Safety analysis of a Russian phage cocktail: from metagenomic analysis to oral application in healthy human subjects**, *Virology*, 2013.
- Miernikiewicz P, **T4 phage and its head surface proteins do not stimulate inflammatory mediator production**, *PLoS One*, 2013.
- Dufour N, **Commentary: Morphologically Distinct Escherichia coli Bacteriophages Differ in Their Efficacy and Ability to Stimulate Cytokine Release In Vitro**, *Front Microbiol*, 2016.
- Dufour N, **Phage therapy treatment of murine pneumonia is not associated with an over inflammatory stimulation**, *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, under review.



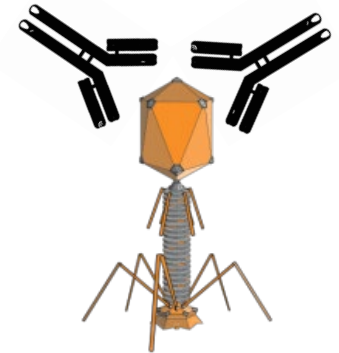
Mise en jeu de **l'immunité adaptative** avec
synthèse d'anticorps anti-bactériophages : **OUI !**



L'administration de bacteriophages **peut potentiellement
générer l'apparition d'Ac** anti-bactériophages

Une **limitation dans le cas des applications chroniques**

Une **potentielle réactivité croisée** entre phages ?



**Perte ou diminution de
l'activité anti-bactérienne**



**Neutralisation du
bactériophage**

- Dabrowska K, Immunogenicity studies of proteins forming the T4 phage head surface. *J Virol*, 2014
- Shiley JR, Immunogenicity and antimicrobial effectiveness of *Pseudomonas aeruginosa* specific bacteriophage in a human lung in vitro model, *Appl Microbiol Biotechnol*, 2017
- Krut O, Contribution of the Immune Response to Phage Therapy, *J Immunol*, 2018

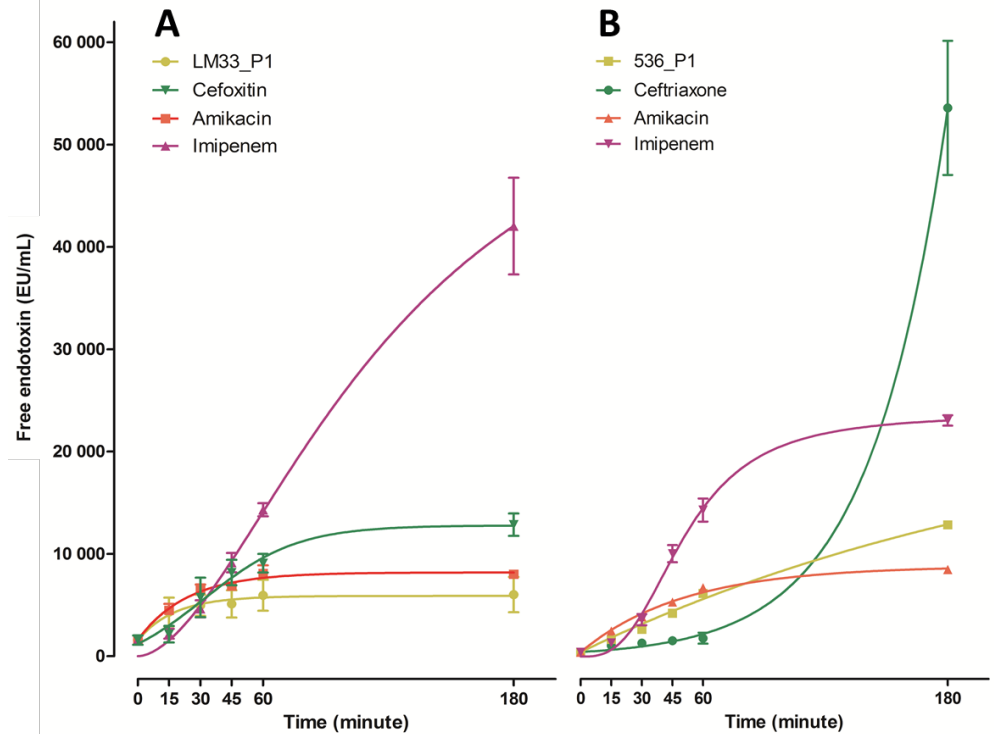
? Relargage d'endotoxine

The Lysis of Pathogenic *Escherichia coli* by Bacteriophages Releases Less Endotoxin Than by β -Lactams

Nicolas Dufour,^{1,2,3} Raphaëlle Delattre,^{1,3,4} Jean-Damien Ricard,^{2,3,5} and Laurent Debarbieux¹

- La lyse des BGN s'accompagne d'une libération d'endotoxine (LPS bactérien)
- Le LPS est un acteur clé dans la physiopathologie du choc septique
- Les antibiotiques sont responsables, selon leur type, d'une libération variable d'endotoxine
- **La crainte** : compte tenu de la rapidité avec laquelle les phages peuvent lyser les bactéries, ils pourraient générer une importante libération d'endotoxine avec des conséquences délétères

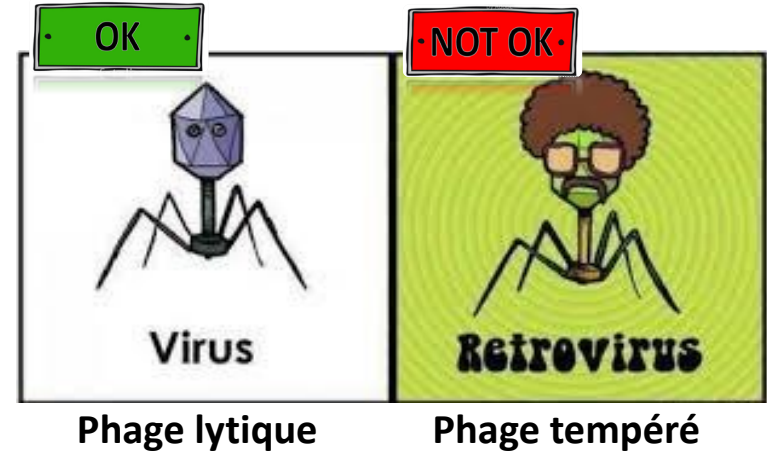
In vitro – Deux souches avec deux phages



? Et si j'ai peur des virus

Phages lytiques ≠ phages tempérés

- En phagothérapie, nous n'aimons pas les phages tempérés !
- Les phages tempérés sont capables de véhiculer des gènes codant pour des toxines ou des mécanismes de résistances aux antibiotiques



Des exemples que vous connaissez... !

S. aureus

Pneumonies nécrosantes

- Leucocidine de Panton-Valentine
- Gènes phiSLT et phiPVL portés par un prophage...

V. cholerae

Choléra

- Toxine cholérique
- Gènes CtxA et CtxB portés par le prophage CTX-Phi...

E. coli (O104:H4, O157:H7, ...)

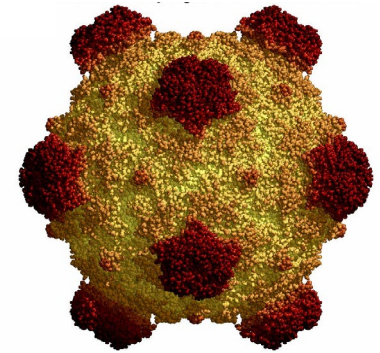
SHU, colites hémorragiques

- Shigatoxine
- Gène Stx1 et Stx2 portés par un prophage...

→ Utilisation de phages lytiques, exclusivement !



Injection de phages en IV ?



Bacteriophage PhiX174

Oui !!

Et ce n'est pas nouveau !

Clin Immunol Immunopathol. 1989 May;51(2):252-63.

Human antibody responses to bacteriophage phi X 174: sequential induction of IgM and IgG subclass antibody.

Pyun KH¹, Ochs HD, Wedgwood RJ, Yang XQ, Heller SR, Reimer CB.

Blood. 1992 Sep 1;80(5):1163-71.

Antibody responses to bacteriophage phi X174 in patients with adenosine deaminase deficiency.

Ochs HD¹, Buckley RH, Kobayashi RH, Kobayashi AL, Sorensen RU, Douglas SD, Hamilton BL, Hershfield MS.

J Infect Dis. 2000 Aug;182(2):435-41. Epub 2000 Jul 21.

Evaluation of CD4+ T cell function In vivo in HIV-infected patients as measured by bacteriophage phiX174 immunization.

Fogelman I¹, Davey V, Ochs HD, Elashoff M, Feinberg MB, Mican J, Siegel JP, Sneller M, Lane HC.

AIDS. 2000 Mar 10;14(4):F55-62.

Progressive specific immune attrition after primary, secondary and tertiary immunizations with bacteriophage phi X174 in asymptomatic HIV-1 infected patients.

Rubinstein A¹, Mizrahi Y, Bernstein L, Shliozberg J, Golodner M, Liu GQ, Ochs HD.



2000

Progressive specific immune attrition after primary, secondary and tertiary immunizations with bacteriophage $\Phi X174$ in asymptomatic HIV-1 infected patients

Arye Rubinstein^a, Yaffa Mizrachi^a, Larry Bernstein^a, Jenny Shliozberg^a, Mala Golodner^a, Geng-Qi Liu^a and Hans D. Ochs^b



FEMS Microbiol Lett. 2016 Feb;363(3). pii: fnv242. doi: 10.1093/femsle/fnv242. Epub 2015 Dec 20.

Safety and efficacy of phage therapy via the intravenous route.

Speck P¹, Smithyman A².

One-sentence summary:

“Phage therapy by the intravenous route, which historically has been found safe and effective, should be reconsidered in light of the increasing antimicrobial resistance of bacteria”.

Back to the past...

Injection intraveineuse de phage anti-*S. aureus*
dans les années 1930



Thérapie esthétique anti-ride, années 1930

1932-1935

*The American Journal of
the Medical Sciences*

ONE HUNDRED PATIENTS WITH STAPHYLOCOCCUS SEPTI-
CEMIA RECEIVING BACTERIOPHAGE SERVICE.*

BY WARD J. MACNEAL, M.D.,

PROFESSOR OF PATHOLOGY AND BACTERIOLOGY, NEW YORK POST-GRADUATE
MEDICAL SCHOOL AND HOSPITAL,

AND

FRANCES C. FRISBEE, A.B.,

ASSOCIATE IN BACTERIOLOGY, NEW YORK POST-GRADUATE MEDICAL SCHOOL
AND HOSPITAL, NEW YORK CITY.

- Non randomisé (pas de groupe contrôle), non aveugle
- Phagothérapie IV seule (pas d'antibiothérapie disponible)

25% de survie... bof... mais des infections sévères

➔ bactériémie à *S. aureus* à l'époque : 18% de survie (Skinner, *Arch Intern Med*, 1941)

25% de survie malgré :

- Des souches parfois résistantes au phage administré,
- Une préparation de bactériophages non "ISO 9001" = lysat bactérien "brut", stérilisée par filtration mais hautement concentrée en produit de dégradation bactérien !
- Une posologie parfois ridiculement faible (volume injecté limité par des "réactions sérieuses")

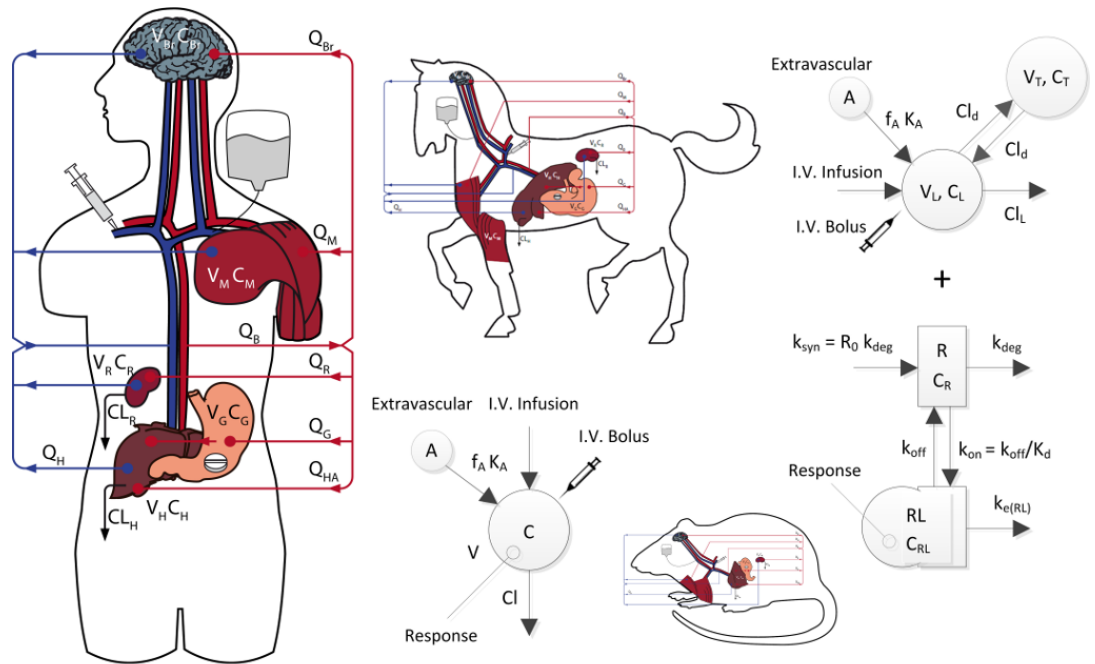
Une guérison obtenue pour des infections a priori non spontanément curables...

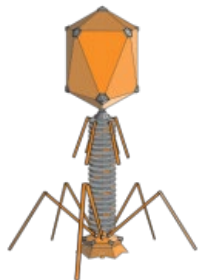
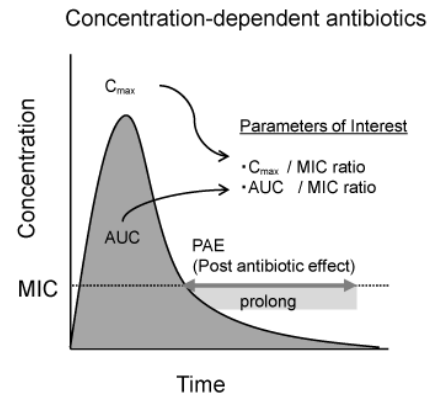
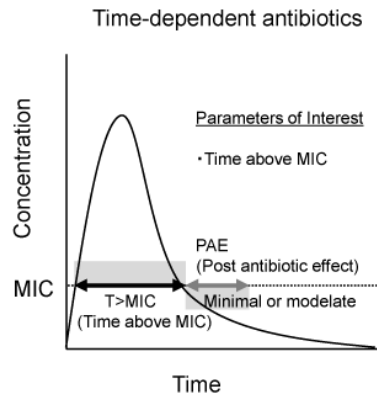
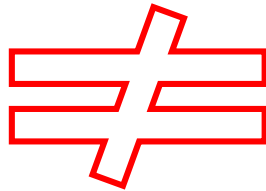
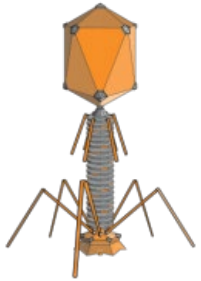
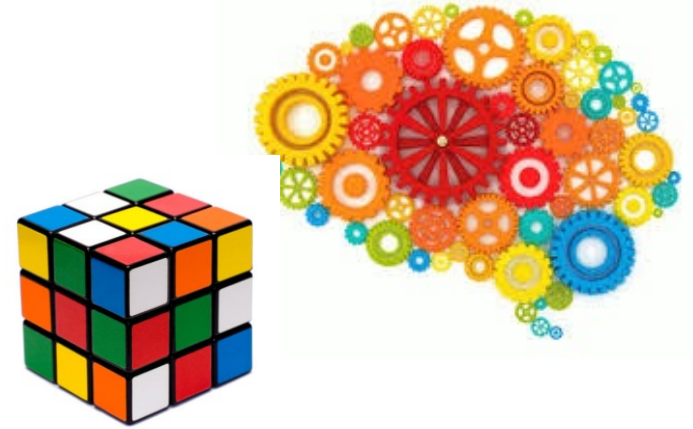
31	Sep. 23	LB	F	8	Sep. 18, pansinusitis; sepsis	Sep. 18	None	Oct. 5
32	Oct. 5	MU	M	21	Sep. 19, fracture of sternum; mediastinitis	Oct. 5	Oct. 6	Recovery
33	Oct. 17	BO	F	61	Oct. 1, sacral carbuncle; diabetes	None	Oct. 15	Oct. 19
34	Oct. 20	GT	F	47	Oct. 10, carbuncle; diabetes	Oct. 10	Oct. 14	Nov. 5
35	Nov. 10	HL	M	15	Oct. 7, osteomyelitis of femur	Oct. 16	Oct. 11	Recovery
56	July 1	AR	F	49	June 29, renal abscess	Many	June 29	Recovery
57	July 10	AN	M	57	June 9, abscess of left knee; osteitis	Yes	July 8	Oct. 8
58	July 15	HK	M	19	June 25, carbuncle on neck	June 25	July 11	July 16
59	July 18	AW	M	39	July 10, cryptogenic fever	None	July 12	Recovery
60	Aug. 3	JM	M	11	July 12, polyarthritis; heart murmur	None	July 21	Aug. 25
61	Aug. 7	HP	M	13	July 31, baseball injury to thigh	None	Aug. 4	Aug. 18
62	Aug. 21	LB	M	36	Leukemia and terminal sepsis	None	Aug. 10	Aug. 26
63	Aug. 26	GK	M	36	Aug. 2, infected finger; pyemia	Aug. 22	Aug. 24	Aug. 28
64	Aug. 31	HC	M	41	Aug. 25, meningitis; endocarditis	None	Aug. 28	Aug. 31
65	Sep. 2	DM	M	23	Aug. 5, carbuncle on forearm; pneumonia	None	Aug. 31	Recovery
66	Sep. 3	MC	F	8	Aug. 28, cellulitis of face	None	Aug. 29	Recovery
67	Sep. 13	LM	M	33	Sep. 5, osteomyelitis for 20 years	Sep. 11	Sep. 13	Sep. 16
68	Sep. 15	MP	F	25	Aug. 12, childbirth; Aug. 14, chill	None	Aug. 17	Recovery
69	Sep. 23	AM	M	37	Sep. 14, furuncle of nasal septum	None	Sep. 20	Sep. 23
70	Sep. 26	SG	M	21	Aug. 14, furunculosis	None	Sep. 14	Oct. 5
71	Oct. 10	TH	M	29	Sep. 21, compound fracture of ankle	Oct. 4	Oct. 6	Recovery
72	Oct. 28	LW	F	19	Oct. 16, purulent arthritis of hip	Oct. 26	Oct. 26	Oct. 31
73	Nov. 3	RS	F	31	Nov. 1, severe headache and fever	None	Nov. 1	Nov. 3
74	Nov. 13	FD	M	16	Nov. 10, fever of cryptic origin	Nov. 11	Nov. 10	Recovery
75	Nov. 14	CW	M	0	Ill since birth on Oct. 21	None	Nov. 11	Nov. 16
76	Nov. 14	RL	F	3	Oct. 23, pneumonia	None	Nov. 1	Recovery
77	Nov. 17	RW	M	5	Nov. 8, osteomyelitis of leg	Nov. 15	Nov. 15	Recovery
78	Nov. 25	FD	M	27	Nov. 9, cryptic fever with cough; empyema	None	Nov. 20	Recovery
79	Nov. 29	JK	M	8	Nov. 21, cryptic fever; appendectomy	Nov. 23	Nov. 27	Recovery
80	Nov. 30	RM	M	31	Nov. 22, furuncle of nose	None	Nov. 20	Dec. 1
81	Dec. 6	RJ	M	53	Mitral endocarditis since May	None	Sep. 10	June 4
82	Dec. 10	AK	M	40	Nov. 1, ruptured appendix	Nov. 1	Dec. 8	Dec. 12
83	Dec. 22	AE	F	6	Nov. 7, osteomyelitis of ilium	Nov. 17	Nov. 14	Dec. 31
84	Dec. 25	CT	F	14	Dec. 23; chills, fever; endocarditis	None	Dec. 25	Dec. 26
1034								
85	Jan. 9	EO	F	24	Dec. 30, furuncle on face	Jan. 7	Jan. 6	Jan. 18
86	Jan. 24	VC	F	12	Jan. 16, fever blister on lip	None	Jan. 22	Jan. 26
87	Jan. 26	VH	F	12	Jan. 7, osteomyelitis of heel	Several	Jan. 15	June 20
88	Jan. 27	CB	M	64	Jan. 1, cryptogenic septicemia	None	Jan. 17	Recovery
89	Feb. 21	EM	M	28	Jan. 16, recurrent old osteomyelitis	Feb. 1	Feb. 17	Recovery

Bacteriophages...

7

Leurs propriétés pharmacologiques (PK / PD)





Des agents antibactériens dont la concentration augmente sur le site infectieux au cours du temps

Bacteriophages administrés chez la souris par 3 voies différentes

Sans
bactérie

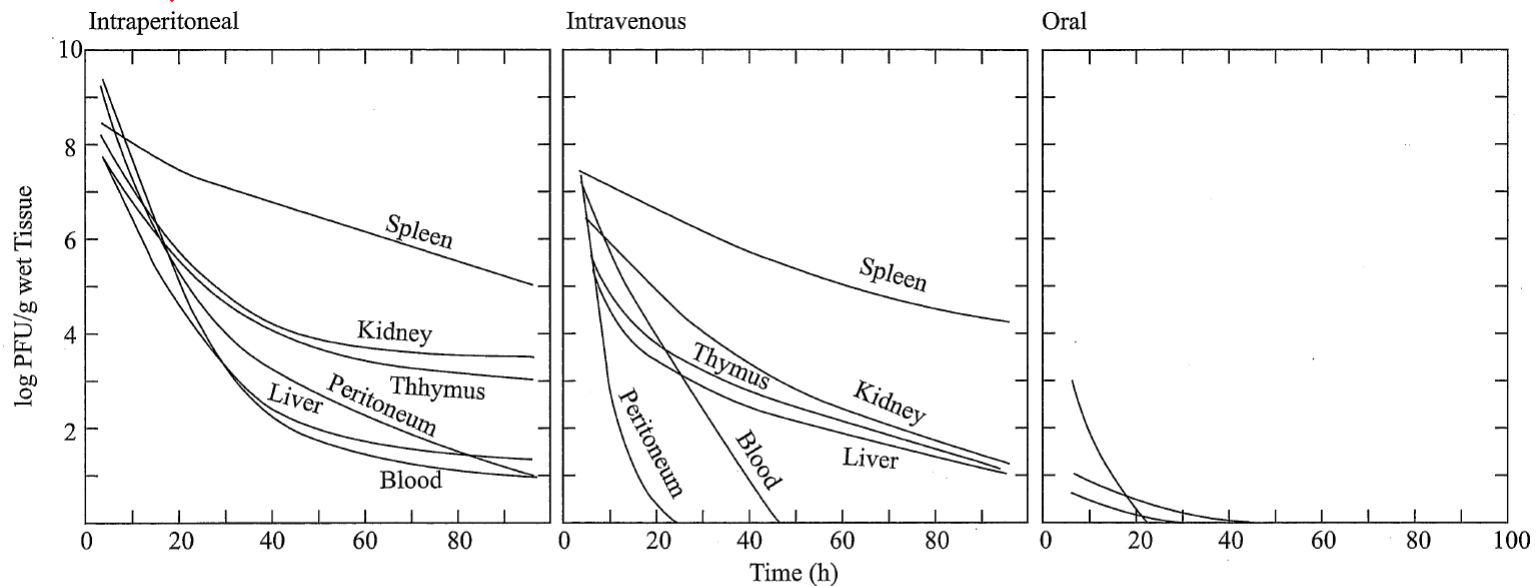
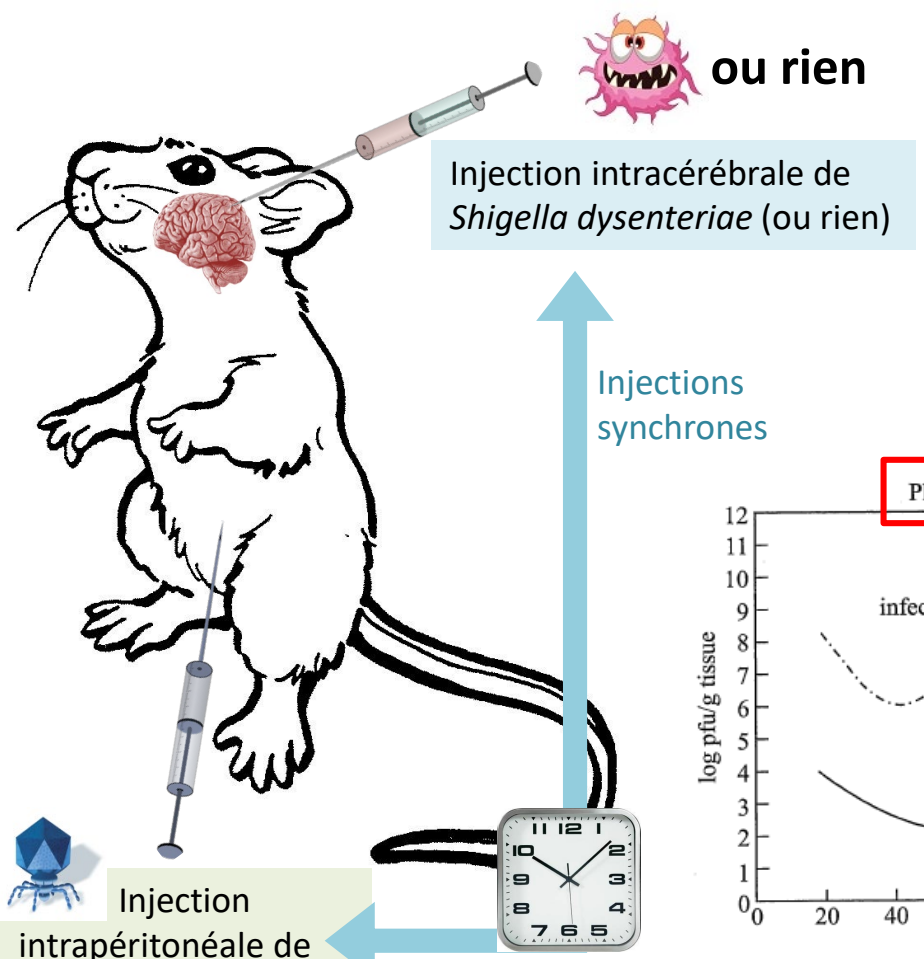


Figure 48-2 The distribution of phage plaque forming units in mice following various routes of administration. This graph was adapted from data from a 1973 experiment in which germ-free mice were inoculated with a single dose of 2×10^{12} plaque forming units (PFU) of λ phage. In these experiments oral administration of phage resulted in the detection of a systemic level of phage tissue titers that were 7 to 8 orders of magnitude lower than that achieved by systemic administration of phage (30).

Adapted from: Geier MR, Fate of bacteriophage lambda in non-immune germ-free mice. *Nature* 1973; 246: 221-3.



Avec les bactéries ciblées

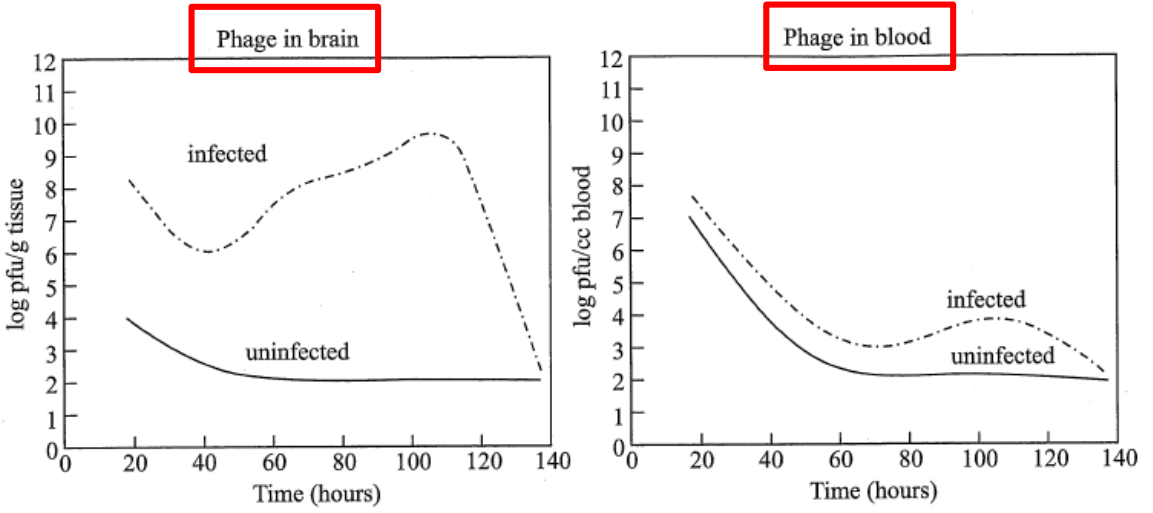
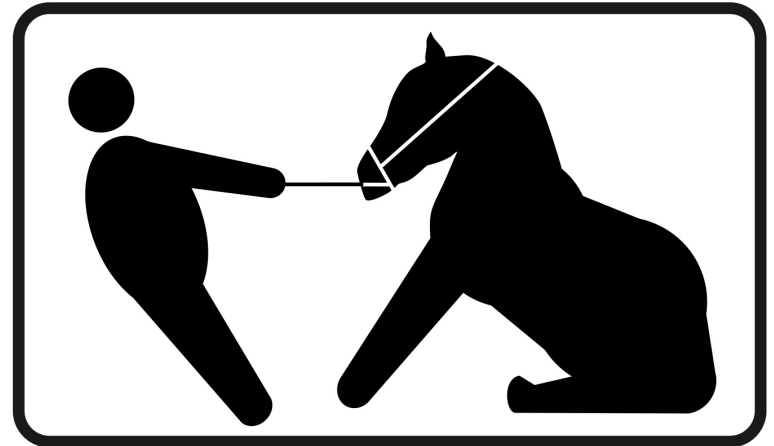


Figure 48-3 Graphical representation of data from the 1943 infectious disease model in which mice inoculated by intracerebral injection of the bacteria *Shigella dysenteriae* (at an LD₅₀ level) were compared with uninfected control mice. All the mice in this experiment were injected with 10⁹ plague forming units (PFU) of phage intraperitoneally which was administered at the same time as the bacterial inoculation. The bacteriophage level in the blood of the uninfected animals was compatible with the dilution of the phage concentration in the total fluid volume of the mouse and the lower levels in the brain reflect the relatively smaller blood content in the brain. However, in the infected animals the phage particles are observed to increase at the site of the infection, the brain, while the blood levels of phage appear to be a “reflection of the events occurring in the brain.”

Adapted from: **Dubos RJ**, The Multiplication of Bacteriophage in Vivo and Its Protective Effect against an Experimental Infection with *Shigella Dysenteriae*. *J Exp Med*, 1943; 78: 161-8.

Les bactériophages...

- 8 Et la résistance des bactéries aux phages



La résistance aux phages

- Comme avec les antibiotiques, les bactéries peuvent devenir résistantes aux bactériophages
- Phénomène dépendant :
 - de la quantité de phage
 - de la bactérie
 - du phage



- Intérêt de l'association en cocktail
- Intérêt de l'adaptation des bactériophages à ces résistances

Exemple de synergie entre deux bactériophages sur l'apparition de clones résistants

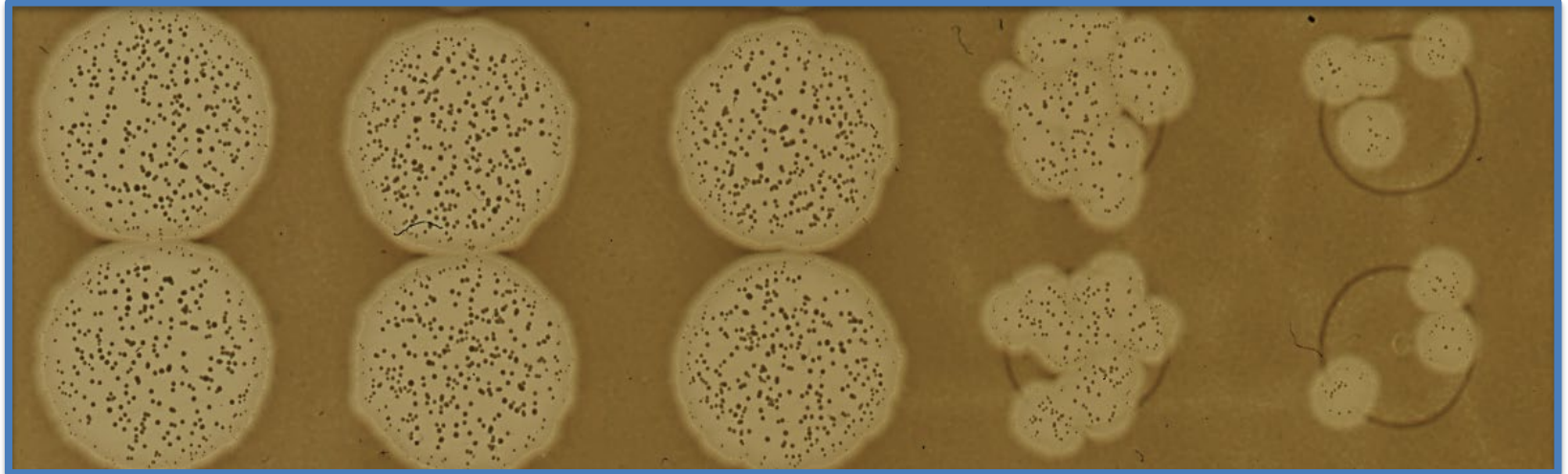
10^5

10^4

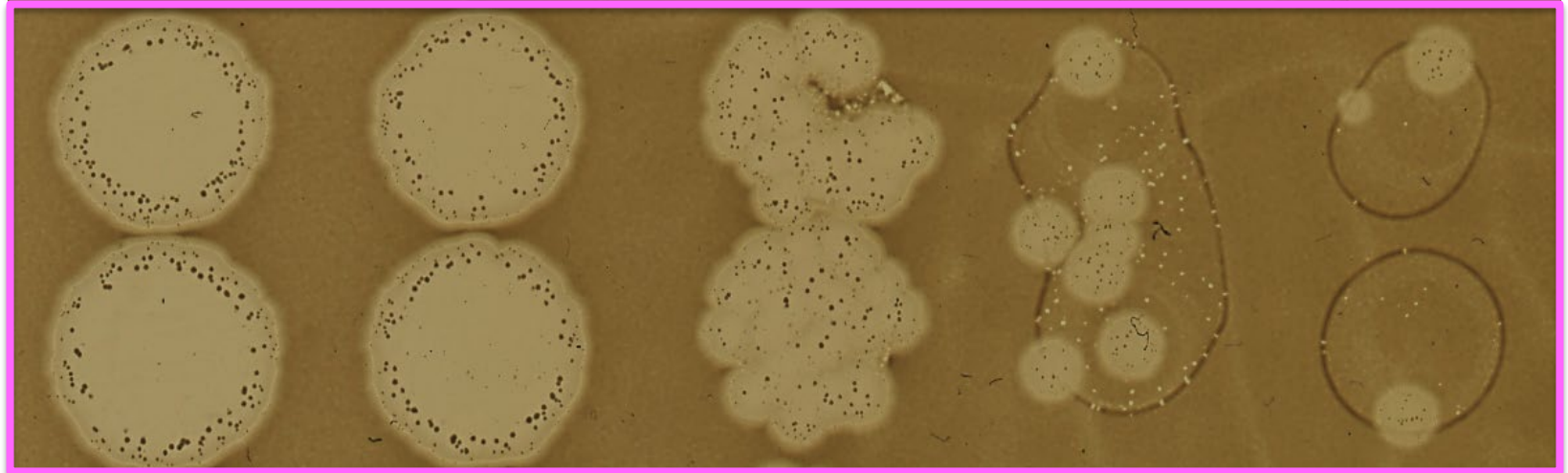
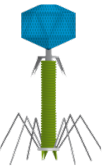
10^3

10^2

10^1 pfu/mL



+



Les bactériophages...

9 Et les infections pulmonaires



Phagothérapie dans différents modèles de pneumonie chez l'animal (jusqu'en 2015)

Bactérie	Animal	Infection / Traitement	Principaux résultats (effet du traitement par bactériophages)	Référence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Souris	IN / IN	Réduction de la charge bactérienne (évaluée par bioluminescence)	Alemayehu, 2012
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Souris	IN / IN	Réduction de la charge bactérienne (évaluée par bioluminescence et compte), augmentation de la survie, moindre inflammation	Debarbieux, 2010
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Souris	IN / IN	Réduction de la charge bactérienne (compte), augmentation de survie. Efficacité curative et préventive.	Morello, 2011
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Souris	IN / IN	Etude de la corrélation entre activité in vitro/in vivo. Réduction de la charge bactérienne, augmentation de la survie	Henry, 2013
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Souris	IN / IP	Réduction de la charge bactérienne. Diminution de l'inflammation. Effet d'une formulation liposomale sur l'approche préventive	Singla, 2015
<i>Escherichia coli</i>	Souris	IN / IN	Réduction de la charge bactérienne (évaluée par bioluminescence et compte), augmentation de la survie, moindre inflammation	Dufour, 2015
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Vison	IN / Aér. ou IN	Réduction de charge bactérienne (compte), augmentation de la survie, absence de toxicité par doses répétées	Cao, 2015
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Souris	IN / IN	Réduction de la charge bactérienne, diminution de l'inflammation	Pabary, 2015

Bactérie	Animal	Infection / Traitement	Principaux résultats (effet du traitement par bactériophages)	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Souris	IN/ IP	Souris neutropénique. Réduction de la charge bactérienne (compte), augmentation de la survie, moindre inflammation	Takemura-Uchiyama, 2014
<i>Escherichia coli (APEC)</i>	Poulet	IT / IT, eau, IO	Pas d'effet sur la mortalité, pas d'effet sur les lésions histologiques macroscopiques	Tsonos, 2014
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	Souris	IT / IN ou IP	Réduction de la charge bactérienne (compte), moindre inflammation	Carmody, 2010
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	Souris	Aér. / Aér. ou IP	Souris neutropéniques. Réduction de la charge bactérienne. Effet nul par voie IP	Semler, 2014
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Souris	IN / IP	Réduction de la charge bactérienne (compte)	Chhibber, 2008
<i>Escherichia coli (APEC)</i>	Poulet	IPulm / IM	Réduction de la mortalité, réduction de lésions macroscopiques	Huff, 2004
<i>Escherichia coli (APEC)</i>	Poulet	Infection spontanée / eau et Aér.	Réduction de mortalité dans un essai grandeur nature en élevage (batterie de 5000-10000 poulets)	Oliveria, 2010
<i>Escherichia coli (APEC)</i>	Poulet	IT / IT	Réduction de mortalité, réduction de la charge bactérienne, réduction de morbidité (perte de poids)	Lau, 2010

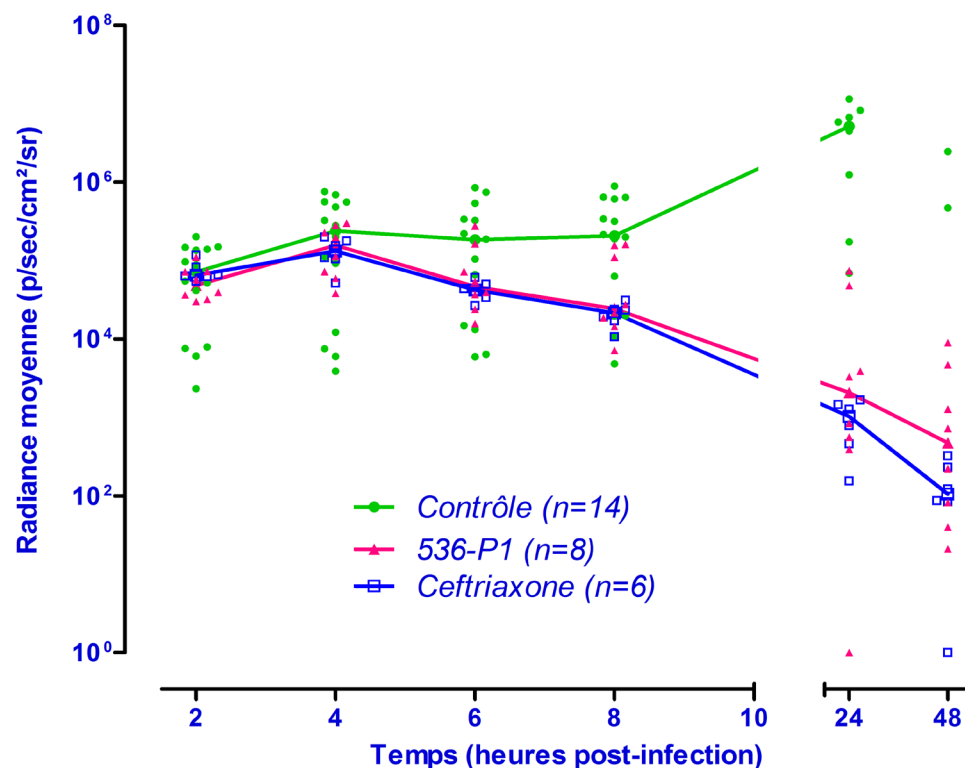
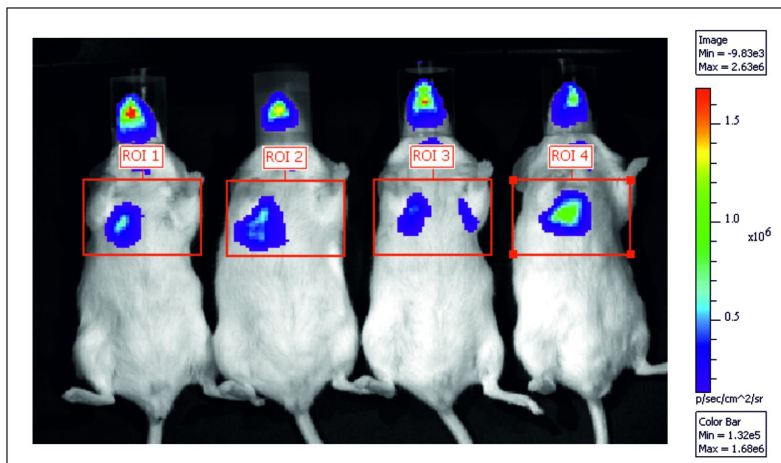
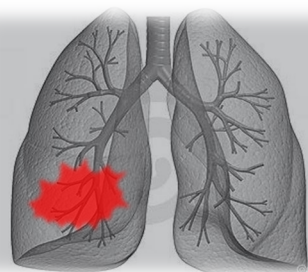
Dufour N. , Bulletin de l'AAEIP, 2016



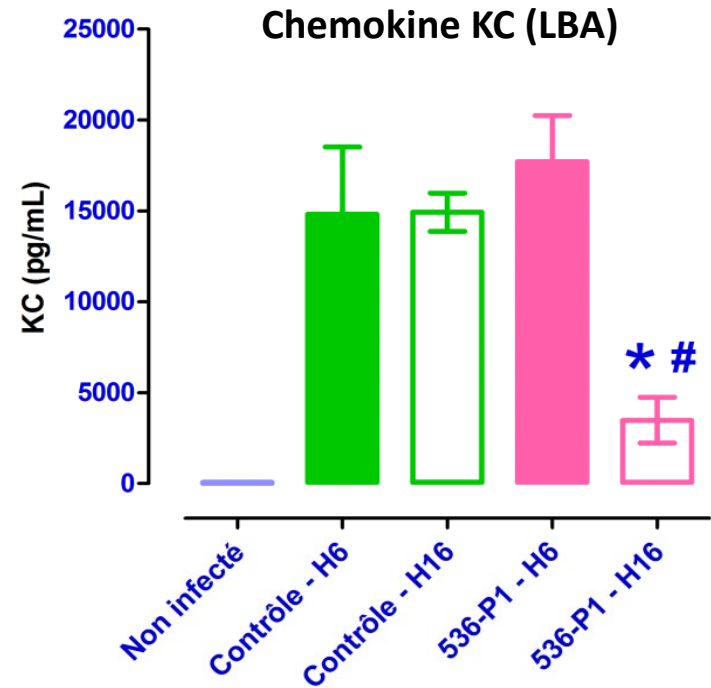
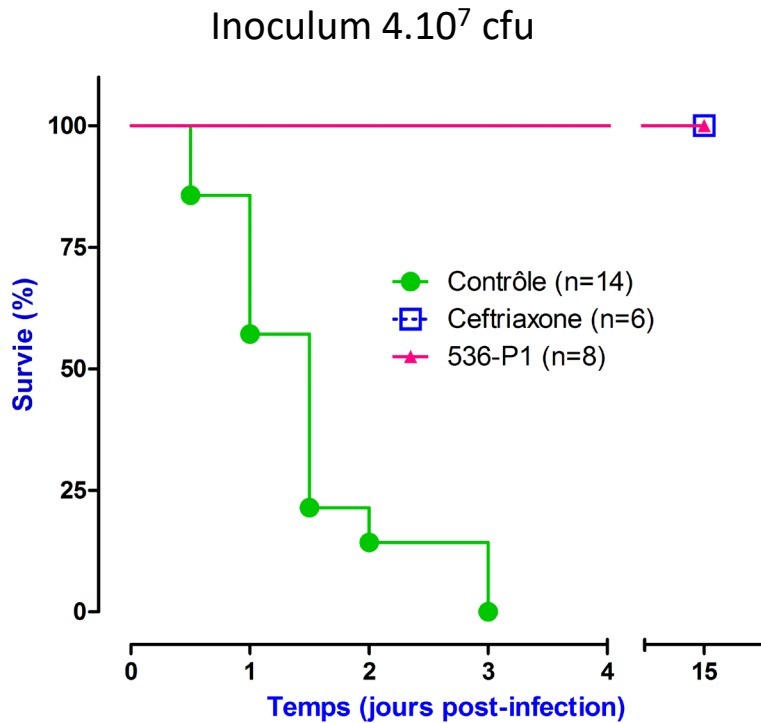
- ❶ Réduction de la charge bactérienne
- ❷ Réduction de la mortalité
- ❸ Réduction de l'inflammation

Treatment of Highly Virulent Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Pneumonia With Bacteriophages

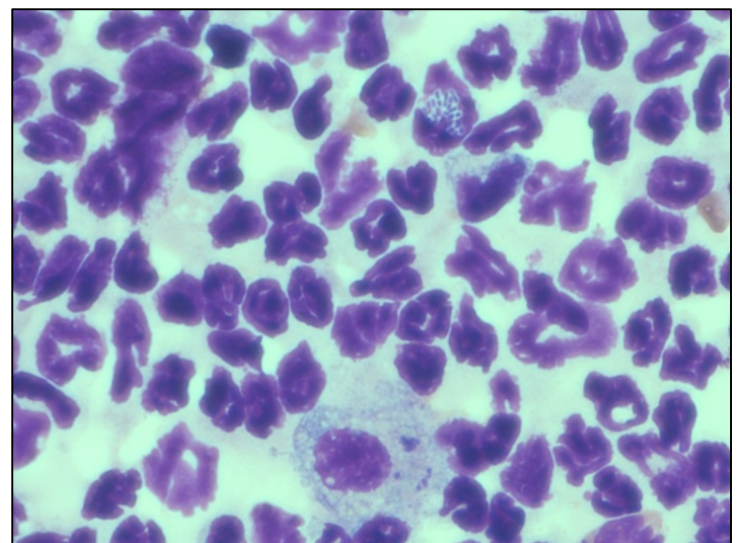
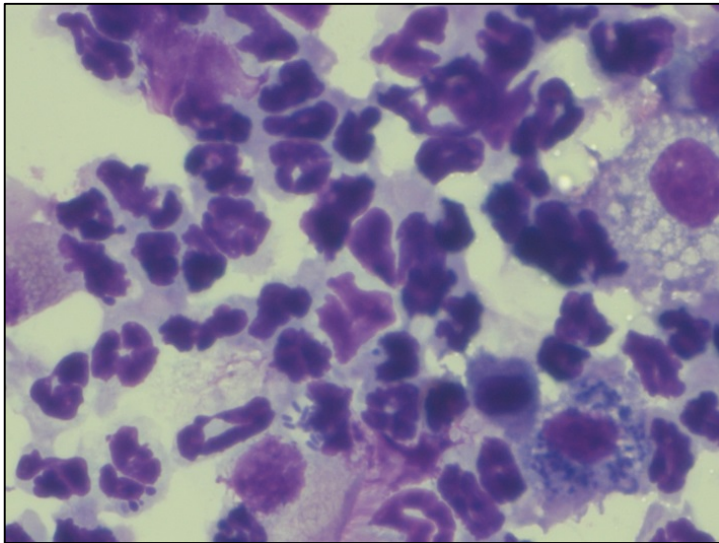
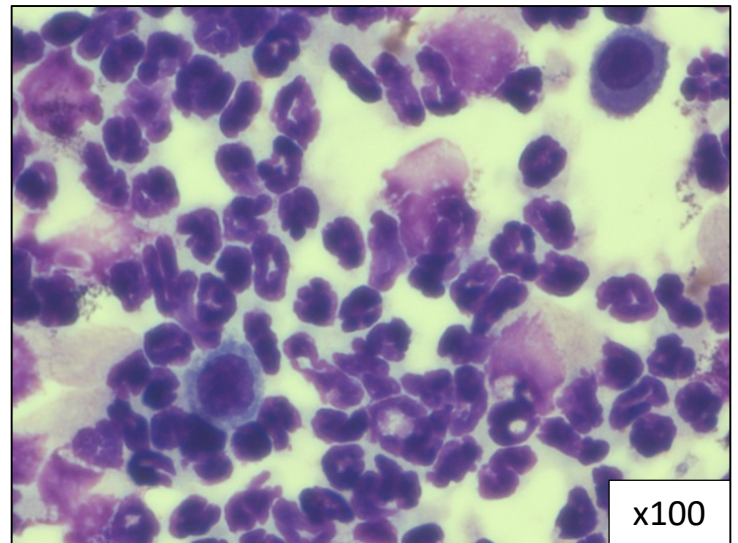
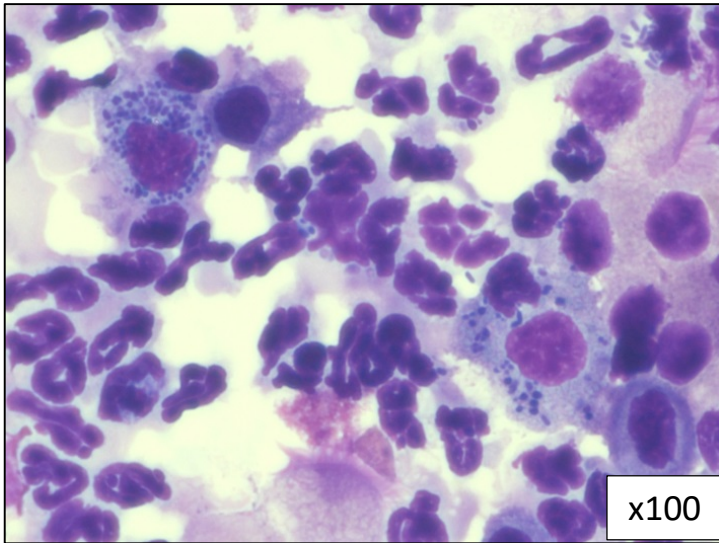
Dufour et al., Crit Care Med, 2015



Un traitement curatif Une réduction de l'inflammation



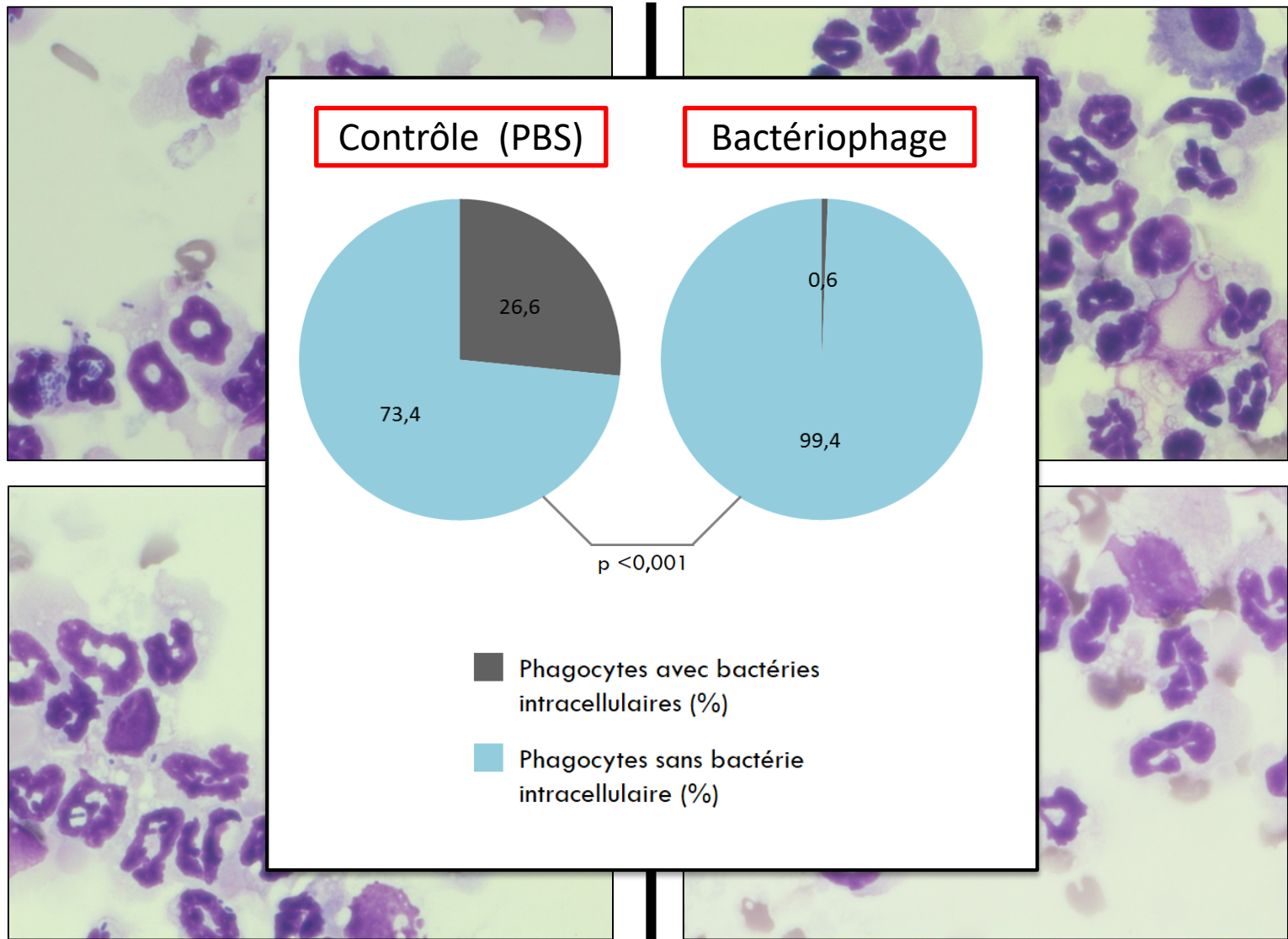
BLA — H6 post-infection



Control (PBS)

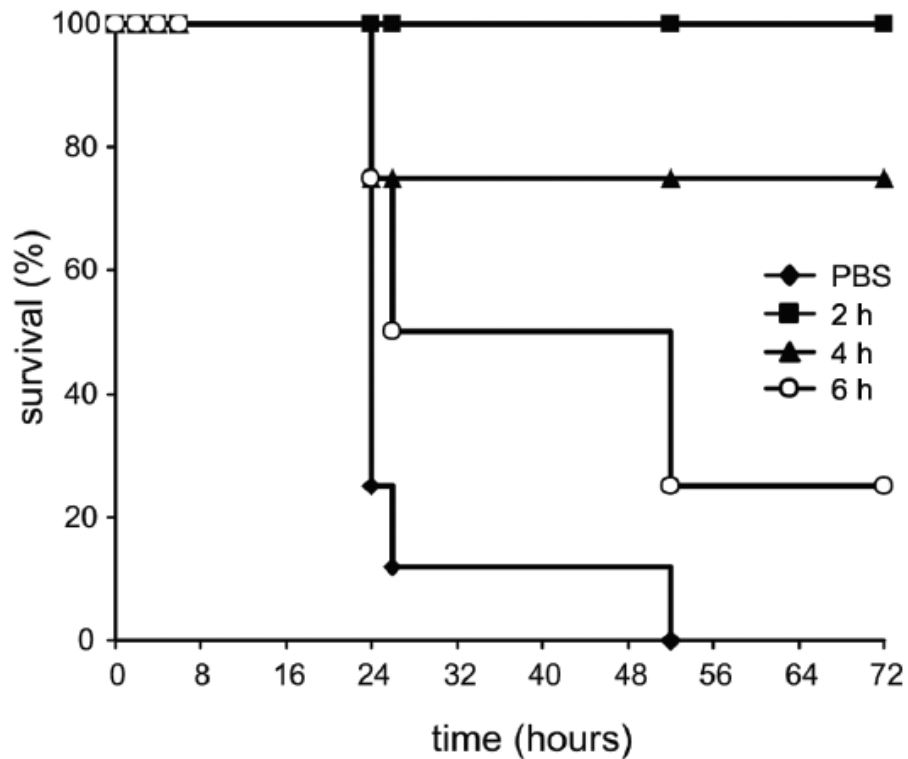
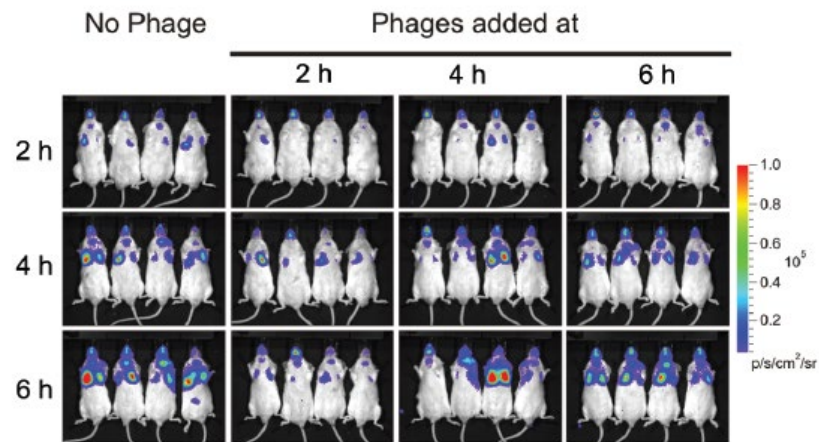
536-P1

LBA – H16 post-infection – Observations cytologiques

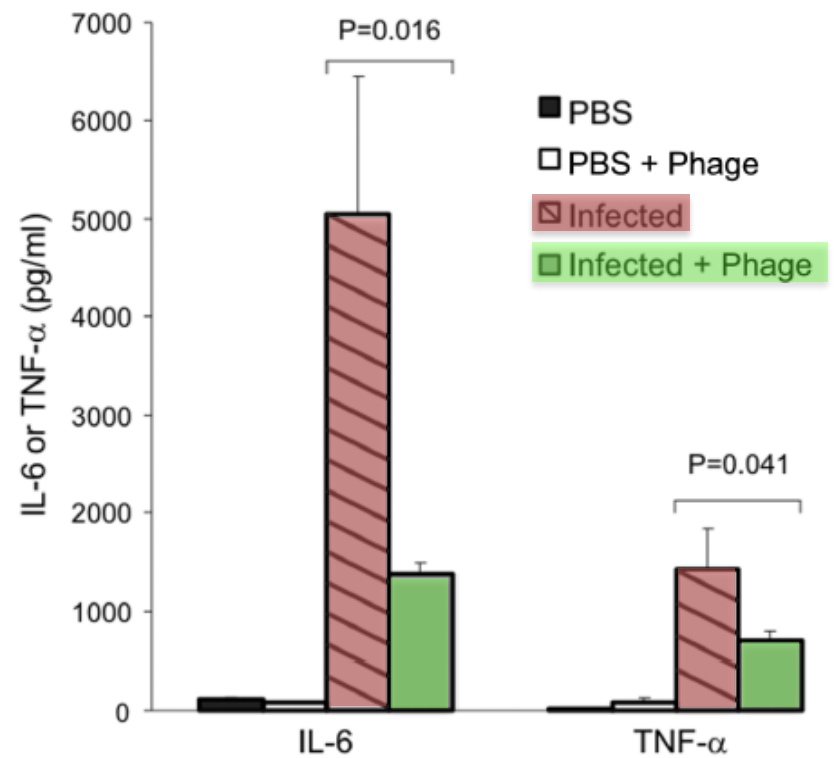


Contrôle (PBS)

536-P1



À H24 de l'infection, LBA



Les bactériophages...

10 Perspectives

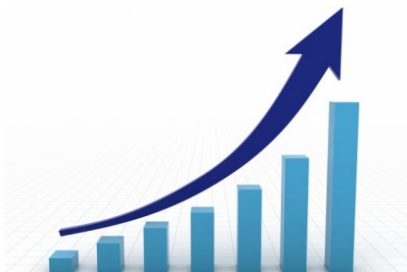


Une diversité incommensurable dans laquelle puiser



- Diversité de spectre
- Diversité de cinétique
- Diversité d'équipement enzymatique
- Plasticité : un grand potentiel d'adaptation

Une diversité supérieure à celle des antibiotiques



Développer de larges collections de
bactériophages bien caractérisés :
phagothèques thérapeutiques



Perspectives

- **“CNR” de la Phagothérapie (bien public ?)**
 1. Elaboration de cocktails d’urgence par pathologie
 2. Disposer d’une phagothèque bien caractérisée
 3. Isolement de phages pour des thérapies individualisées
 4. Eviter les erreurs commises avec les antibiotiques
- **Poursuite des essais cliniques (ATUn / ANSM)**
- **Législation à adapter à cette nouvelle thérapeutique**
- **Impact écologique à long terme inconnu : à évaluer**



Tom's story

Tom Patterson, psychiatre (faculté de médecine de San Diego), 69 ans, fin 2015.

- Pancréatite aiguë lors d'un voyage en Egypte
- Rapatriement sur San Diego
- Coulées de nécrose, infections multiples, réanimation lourde
- Septicémie - infection intra-abdominale à *A. baumannii* multi-R
- Echecs de multiples antibiothérapies
- Traitement par Phages en administration locale **et IV**

> **Guérison**



EXPERIMENTAL THERAPEUTICS

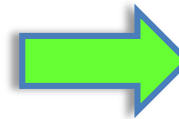
Oct. 2017 - Schooley, R. T.



AMERICAN
SOCIETY FOR
MICROBIOLOGY

**Antimicrobial Agents
and Chemotherapy[®]**

**Development and Use of Personalized
Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails
To Treat a Patient with a Disseminated
Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection**



Décembre 2015



Mai 2018



Remerciements



- Les labos d'accueil :
 - **Institut Pasteur** / Département de Microbiologique, Unité Interaction Bactérie-Bactériophage chez l'Animal : **Laurent Debarbieux et son équipe**
 - **INSERM** / Unité IAME : **Erick Denamur, Jean-Damien Ricard et son équipe**
- Les financeurs : Institut Pasteur & AP-HP
(poste d'accueil pour Praticien Hospitalier)

Merci de votre attention !

