

Phagothérapie : de la théorie ... à la pratique

Pr Frédéric LAURENT

Institut des Agents Infectieux, Hôpital de la Croix Rouse, Hospices Civils de Lyon

Centre Internationale de Recherche en Infectiologie – INSERM U1111, CNRS UMR5308, Université Lyon 1,
ENS de Lyon - Equipe "Pathogénèse des infections à staphylocoques"

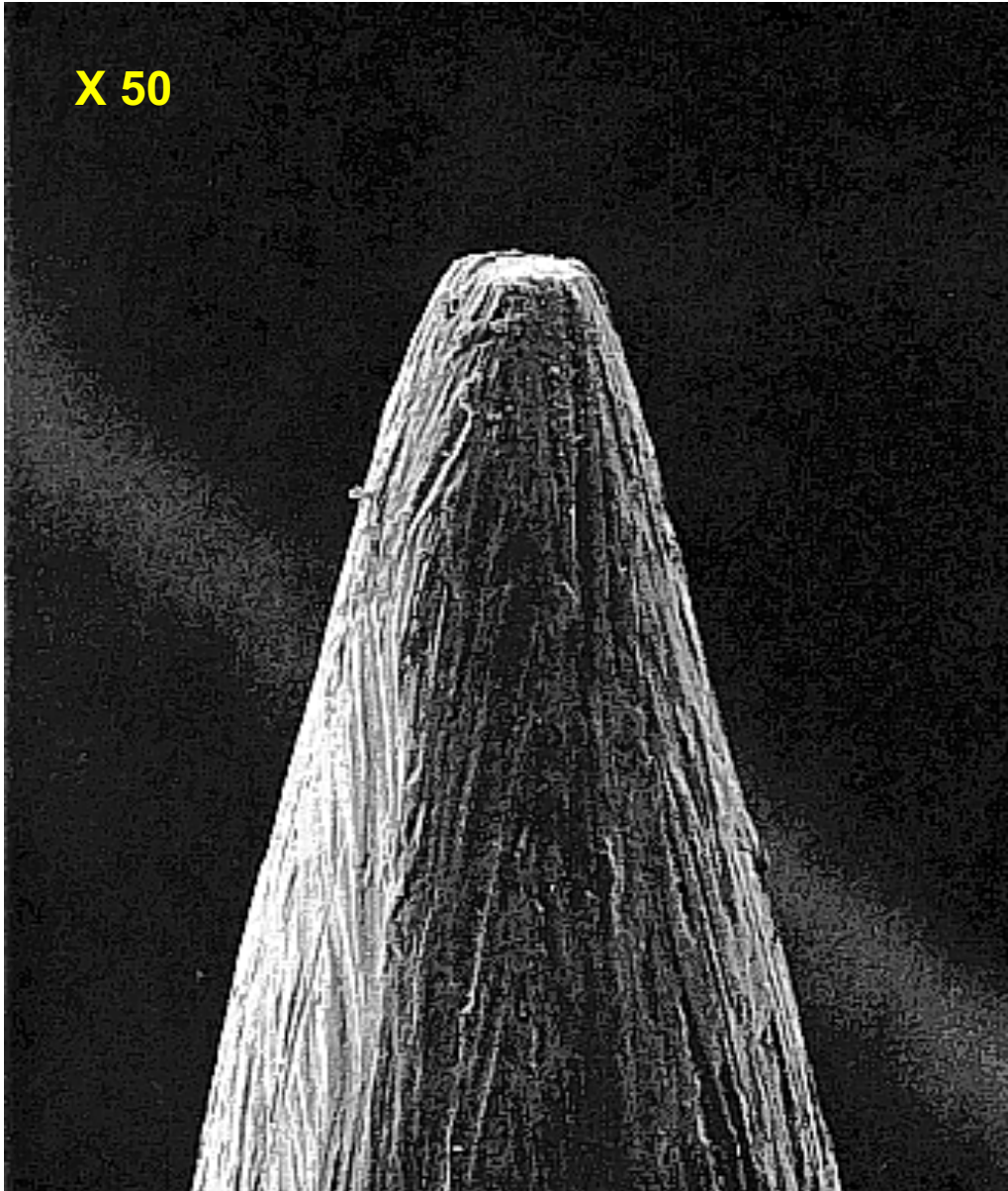
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lyon, Département de Microbiologie-Mycologie



Un phage: qu'est ce que c'est ?

Un phage : qu'est ce que c'est ?

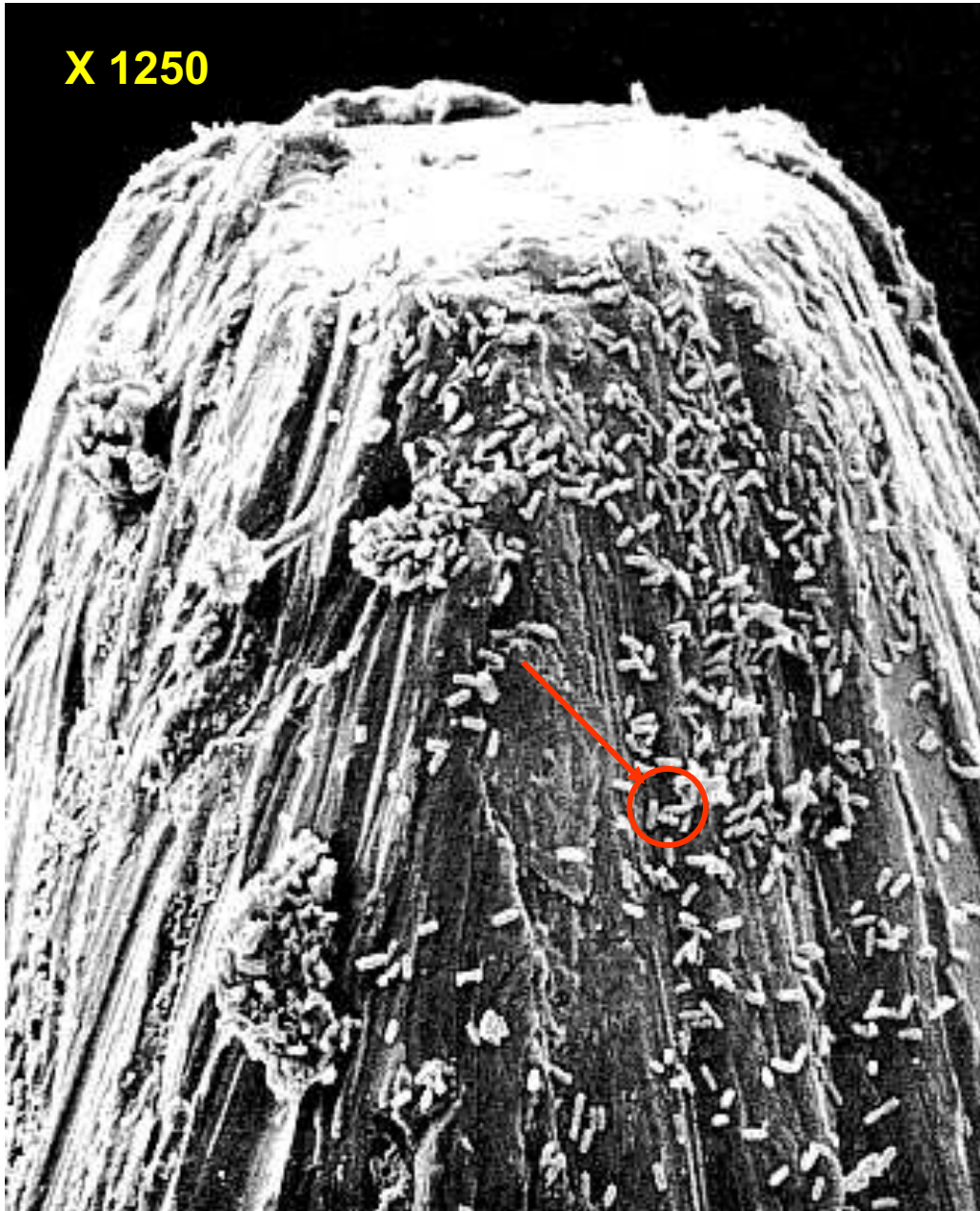
X 50



Zoomons sur une tête d'épingle

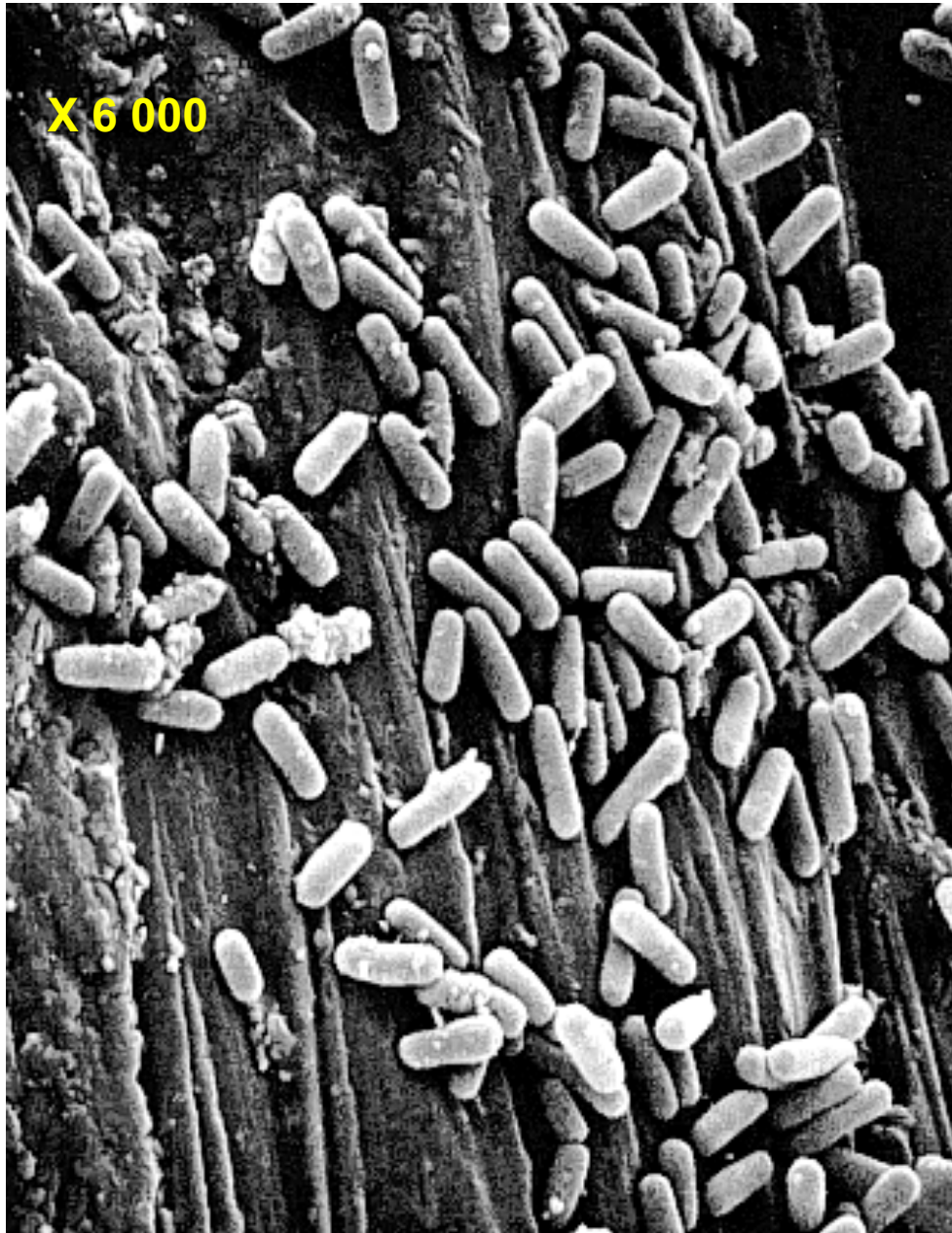
Un phage : qu'est ce que c'est ?

X 1250



Zoomons sur une tête d'épingle

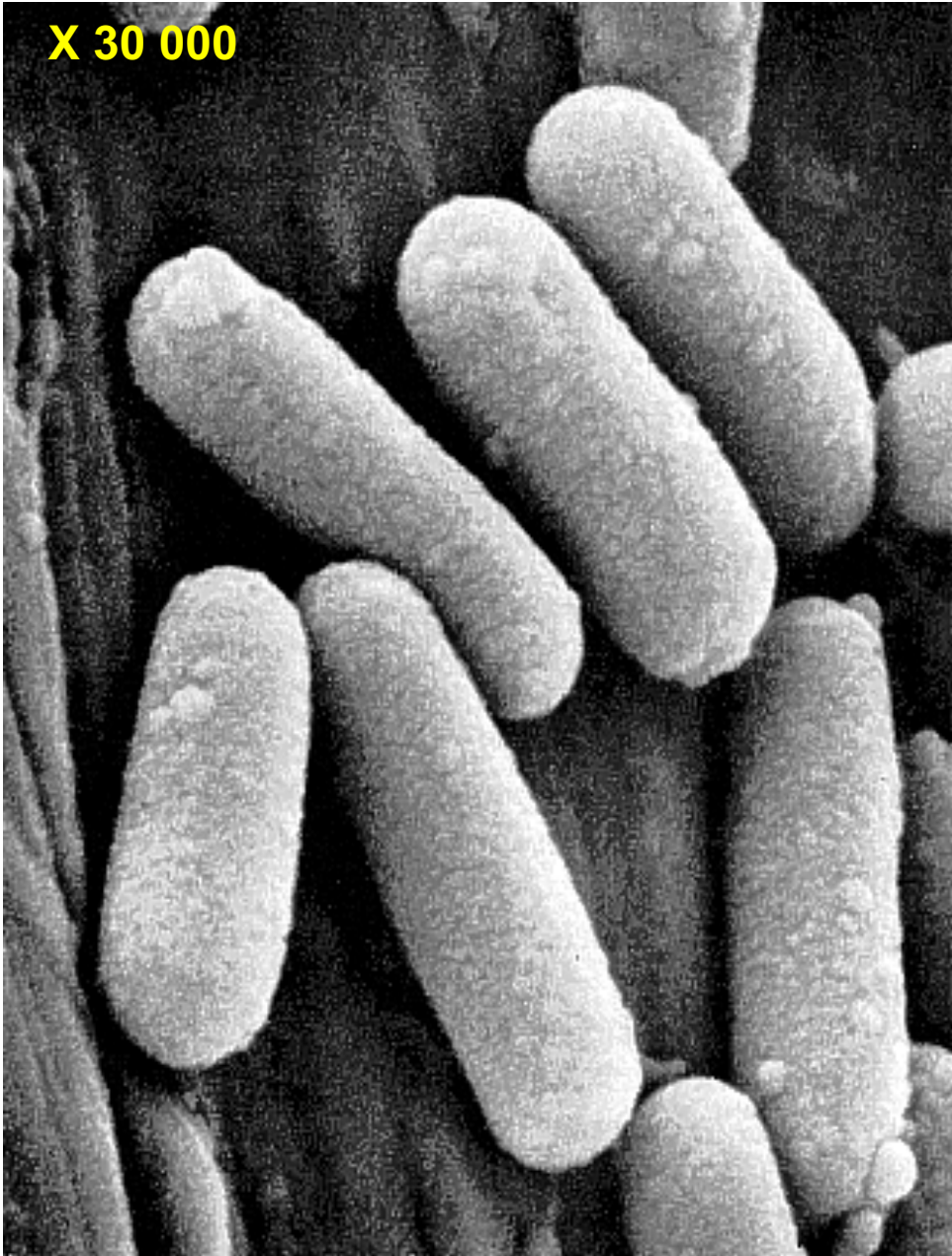
Un phage : qu'est ce que c'est ?



Zoomons sur une tête d'épingle

Un phage : qu'est ce que c'est ?

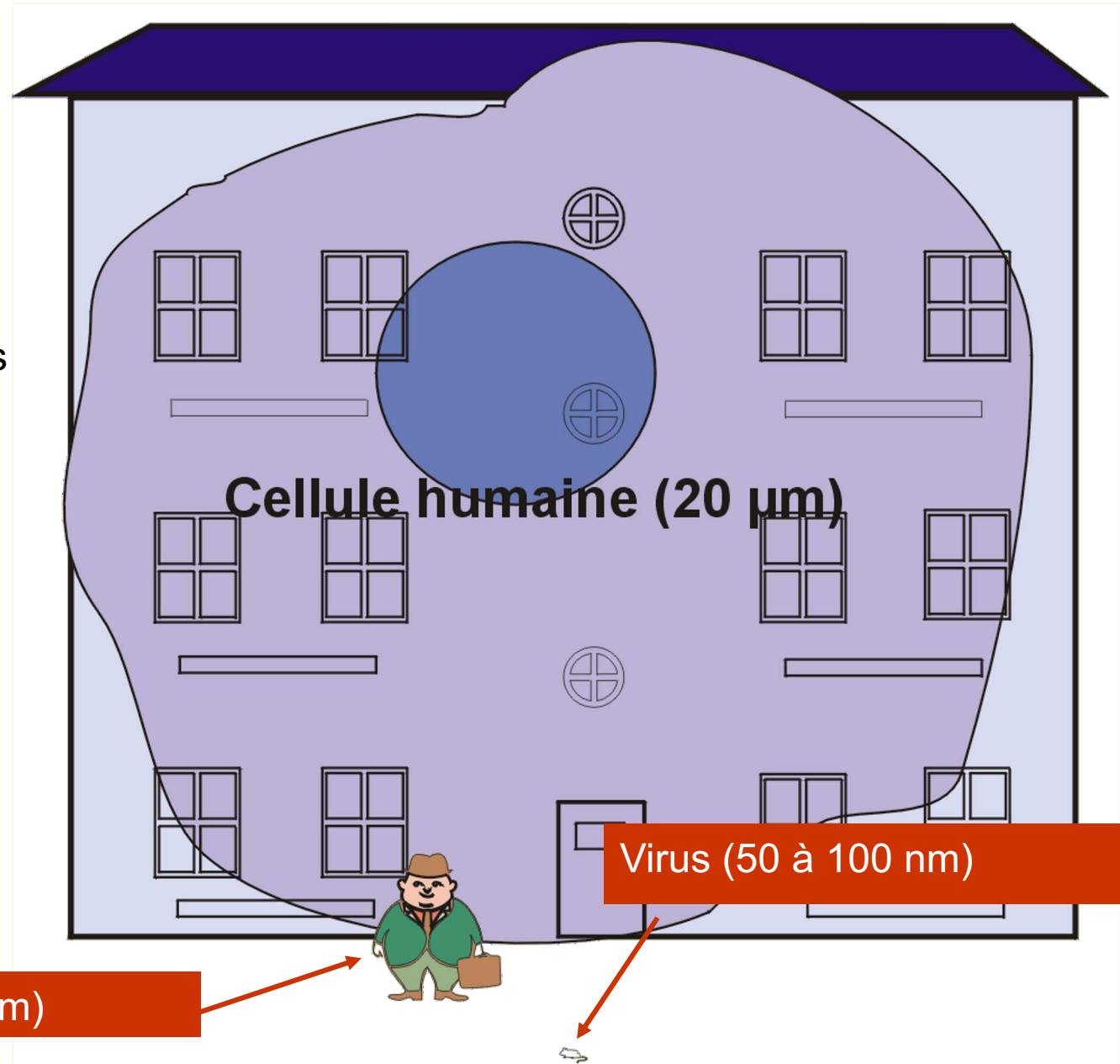
X 30 000



Zoomons sur une tête d'épingle

Un phage : qu'est ce que c'est ?

Si une cellule épithéliale humaine avait la taille d'un immeuble de 3 étages et 6 logements

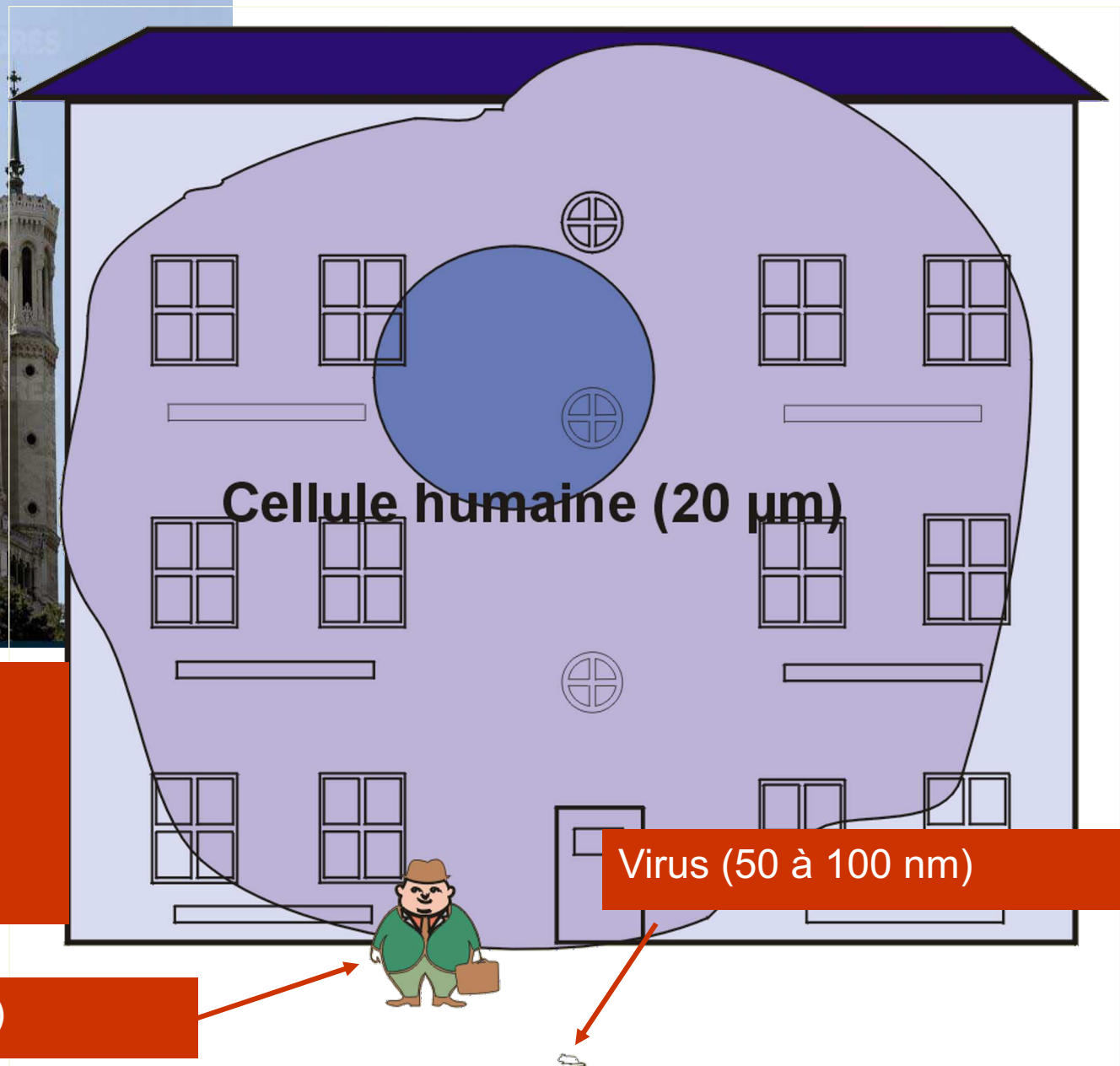


Un phage : qu'est ce que c'est ?



Kyste de toxoplasme
ou tête aspergillaire
d'*Aspergillus*
(100 μm)

Bactérie (2 μm)



Cellule humaine (20 μm)

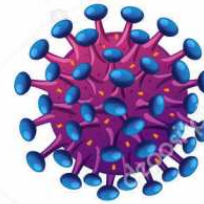
Virus (50 à 100 nm)

Un phage : qu'est ce que c'est ?

C'est un virus !

DÉBUT DE L'ÉPIDÉMIE DE GRIPPE ...

Qui qui c'est... qui a OUBLIÉ
DE SE FAIRE VACCINER ???



HIV



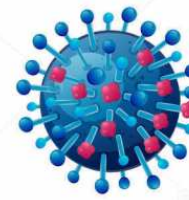
Hepatitis B



Ebola Virus



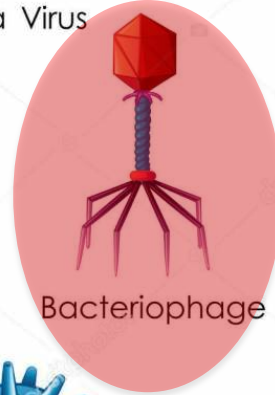
Adenovirus



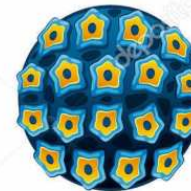
Influenza



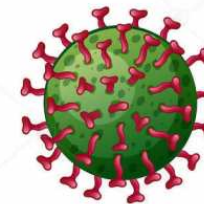
Rabies Virus



Bacteriophage



Papillomavirus



Rotavirus

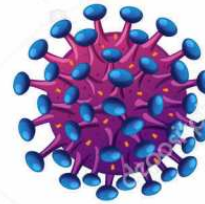


Herpes Virus

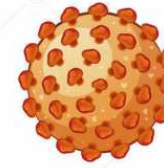
Un phage : qu'est ce que c'est ?

DÉBUT DE L'ÉPIDÉMIE DE GRIPPE ...

Qui qui c'est... qui a OUBLIÉ
DE SE FAIRE VACCINER ???



HIV



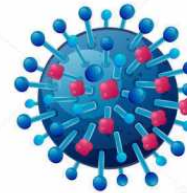
Hepatitis B



Ebola Virus



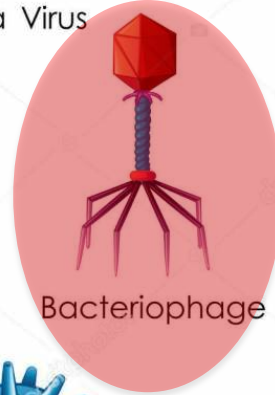
Adenovirus



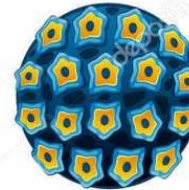
Influenza



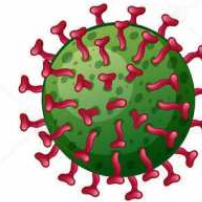
Rabies Virus



Bacteriophage



Papillomavirus



Rotavirus



Herpes Virus

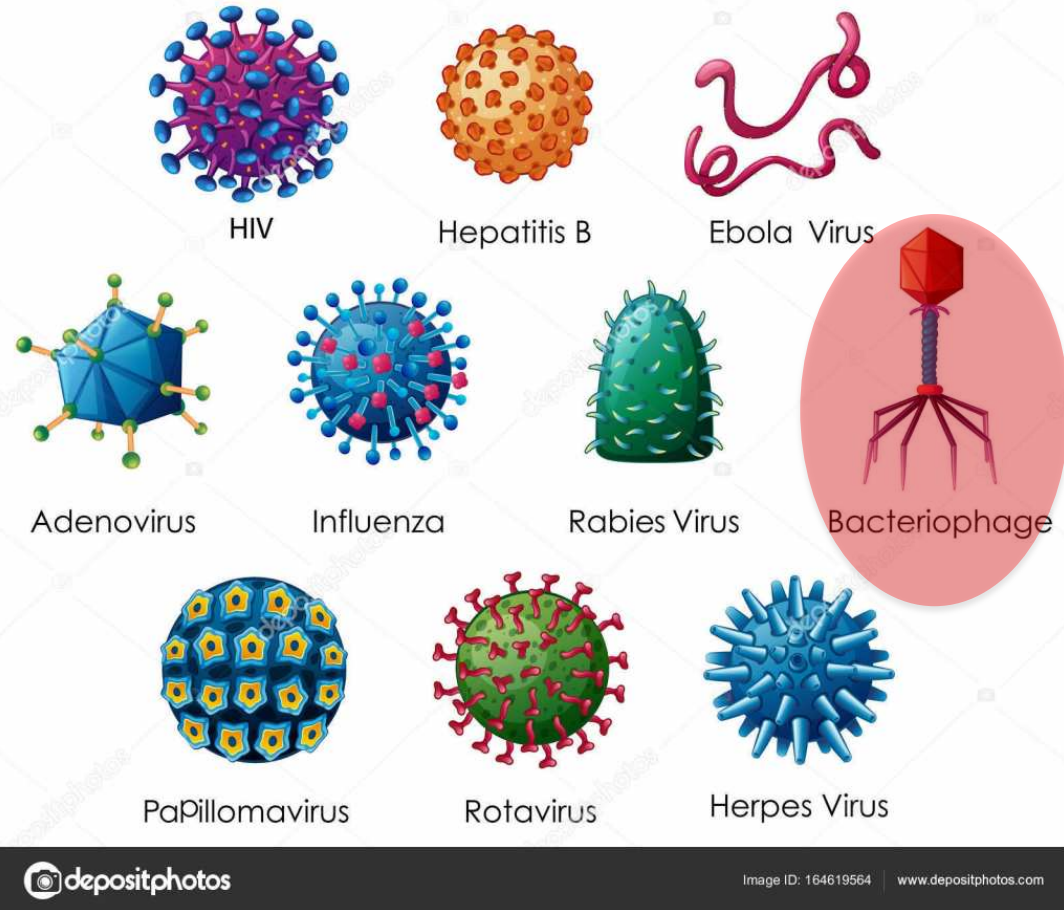
C'est un virus !

Un phage : qu'est ce que c'est ?

C'est un virus !

DÉBUT DE L'ÉPIDÉMIE DE GRIPPE ...

Qui qui c'est... qui a OUBLIÉ
DE SE FAIRE VACCINER ???



Bactériophage

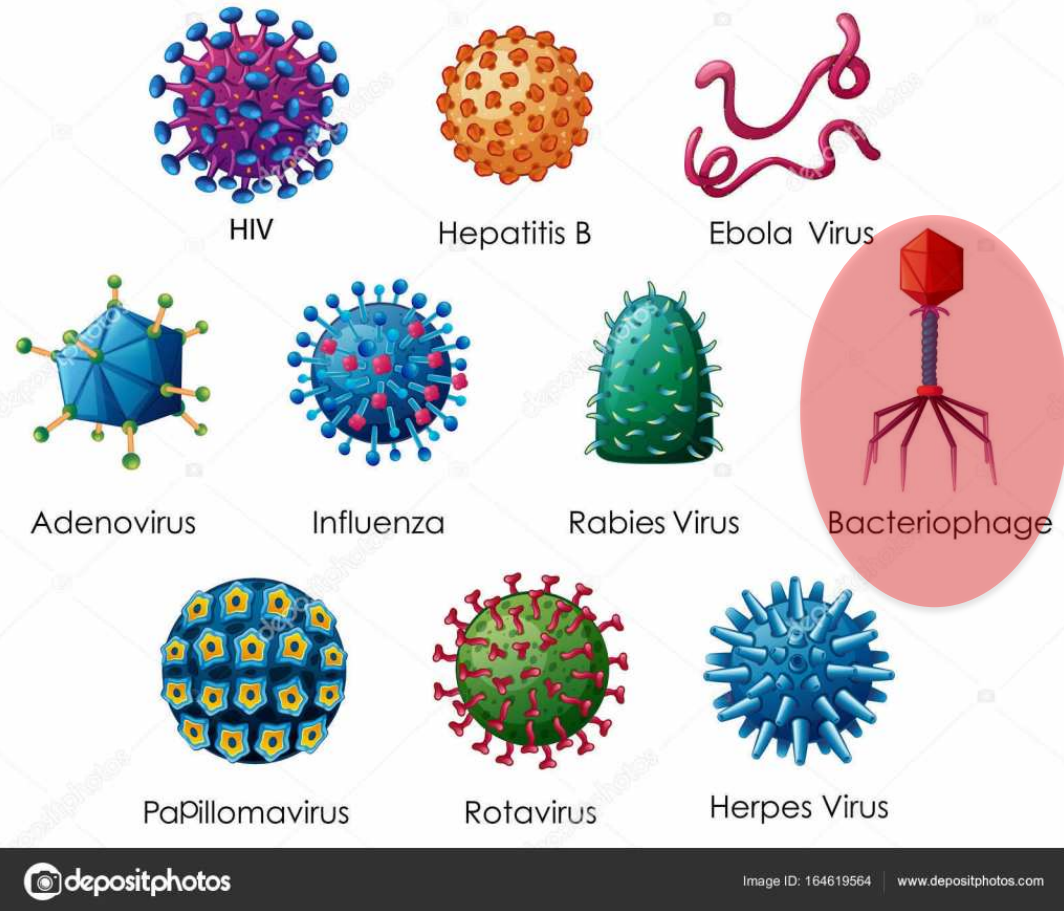
- de *baktêria*/βακτηρία = bâton pour la marche » : formes des 1^{ères} bactéries
- de *phagos*/φάγος = « glouton » / *phagein* « manger »

Un phage : qu'est ce que c'est ?

C'est un virus !

DÉBUT DE L'ÉPIDÉMIE DE GRIPPE ...

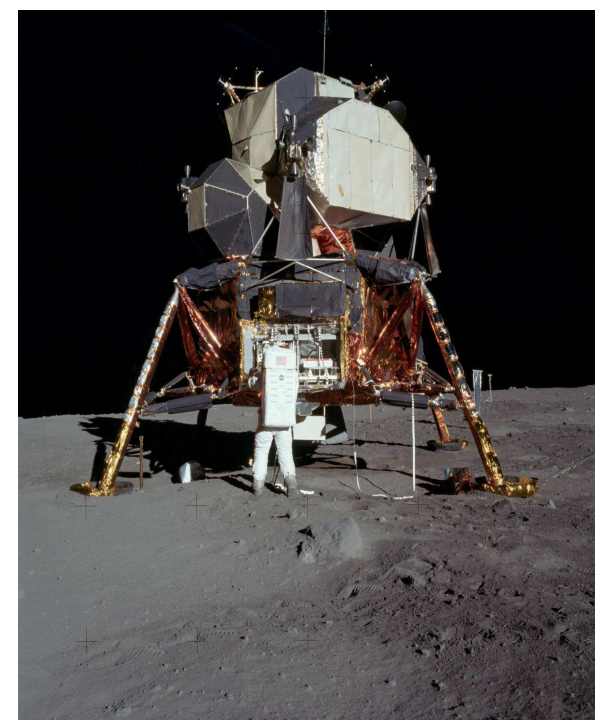
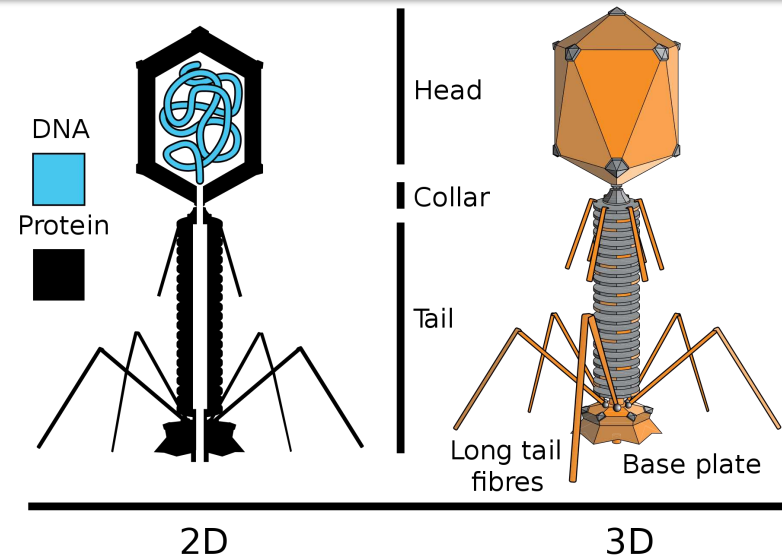
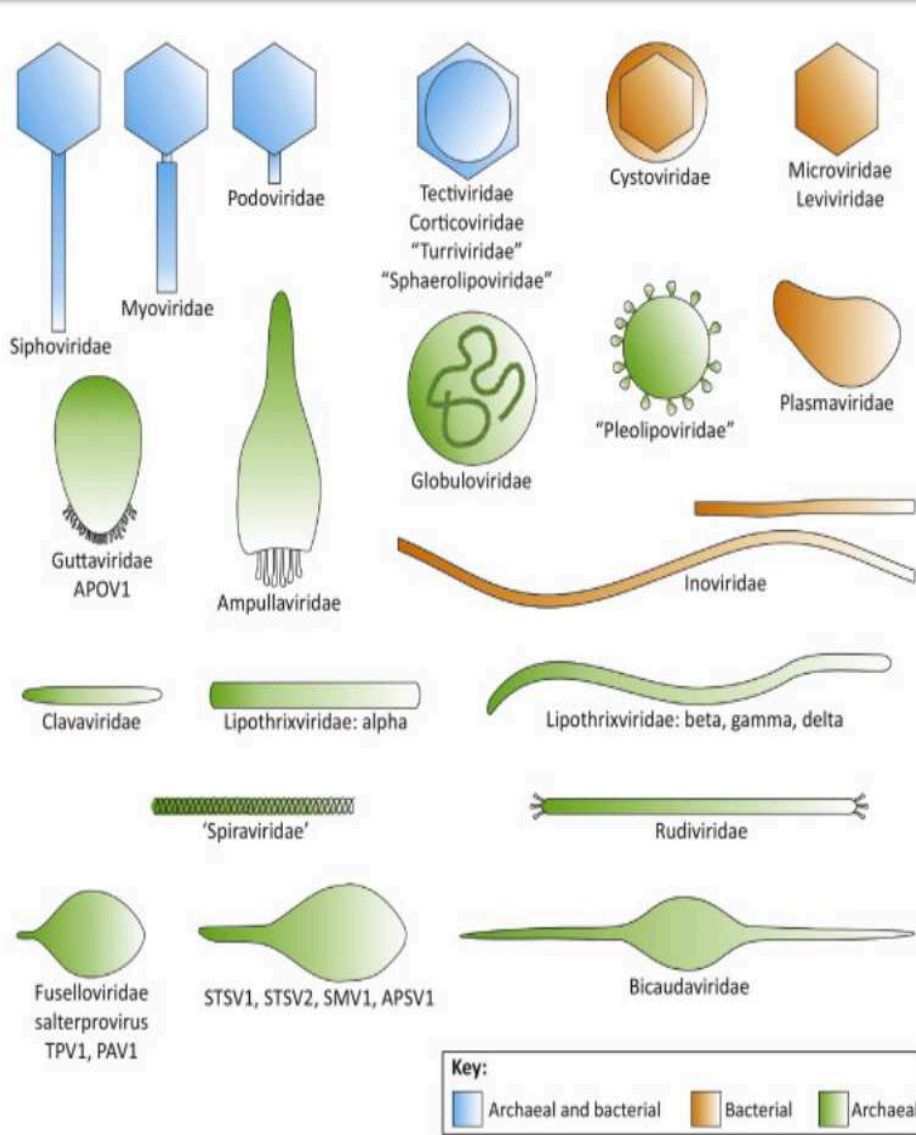
Qui qui c'est... qui a OUBLIÉ DE SE FAIRE VACCINER ???



Bactériophage

- de *baktêria*/βακτηρία = bâton pour la marche » : formes des 1^{ères} bactéries
- de *phagos*/φάγος = « glouton » / *phagein* « manger »
= virus n'infectant QUE les bactéries
Donc SANS DANGER pour l'Homme

Un phage : qu'est ce que c'est ?

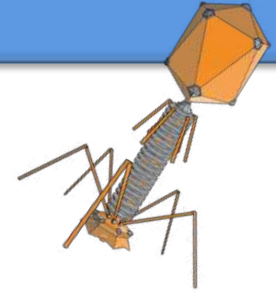


Classification des bactériophages

Phages : où sont-ils ?

Ils sont partout ! Et en grand nombre !

- Présents dans l'ensemble de la biosphère
- Quantité importante dans les excréments, les lacs, eaux stagnantes, mer, océan, le sol et les eaux d'égout



**X milliards de
bactériophage_S !**

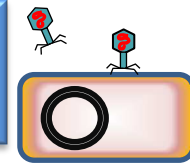


Phages : comment ça marche ?

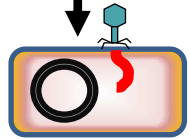


Michel Chevalet – Journaliste scientifique

Phages : mécanisme d'action

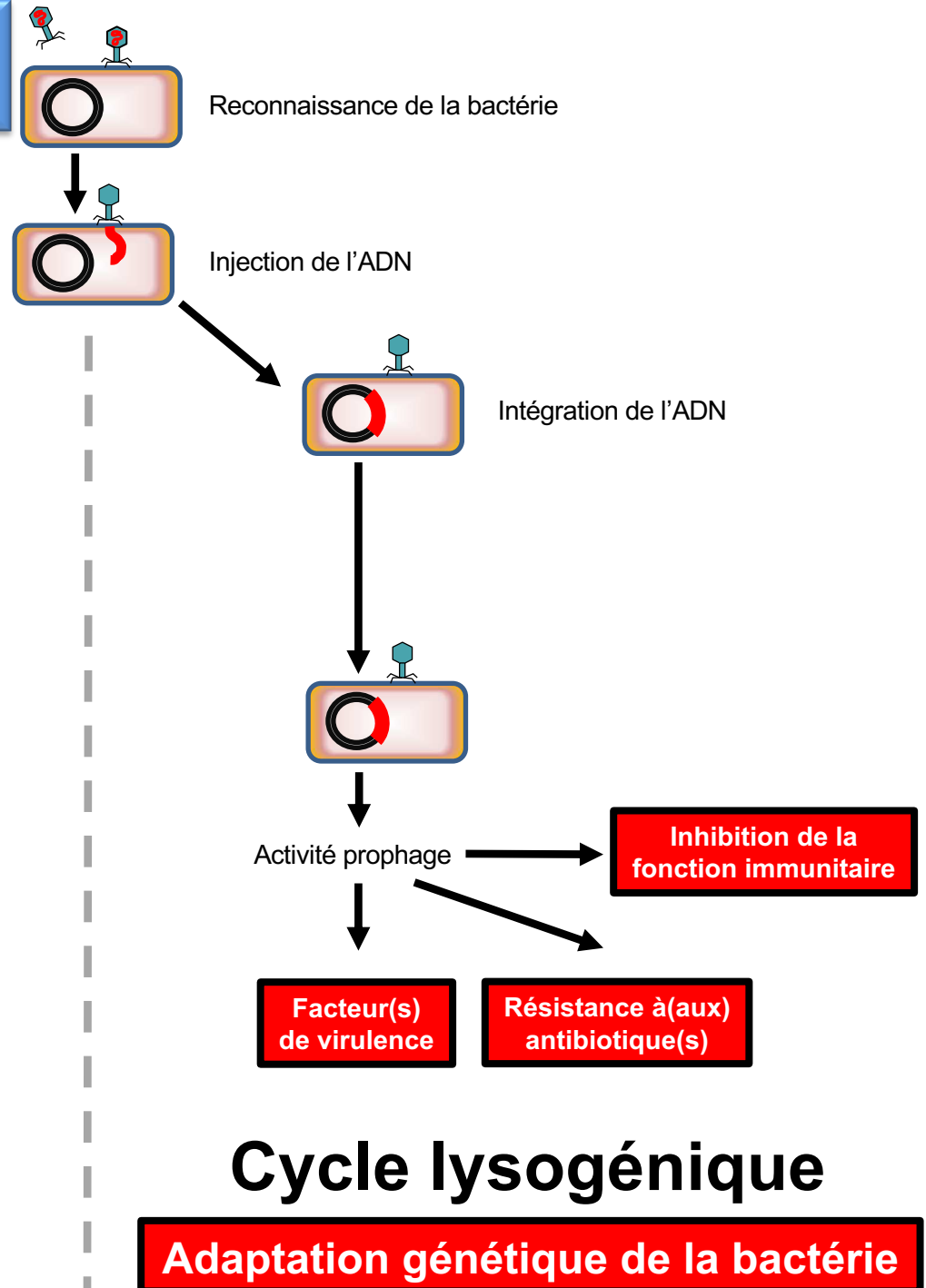


Reconnaissance de la bactérie

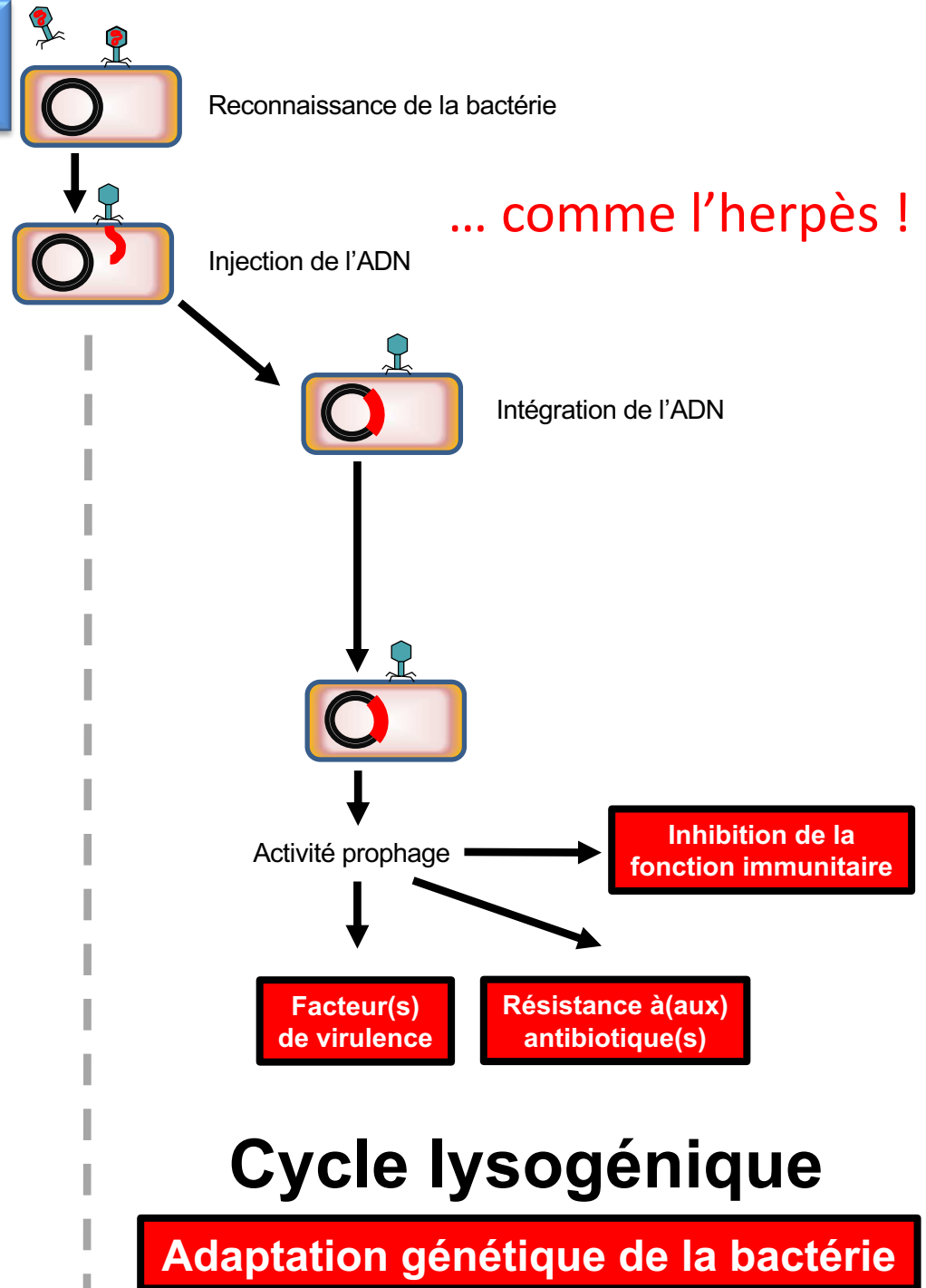


Injection de l'ADN

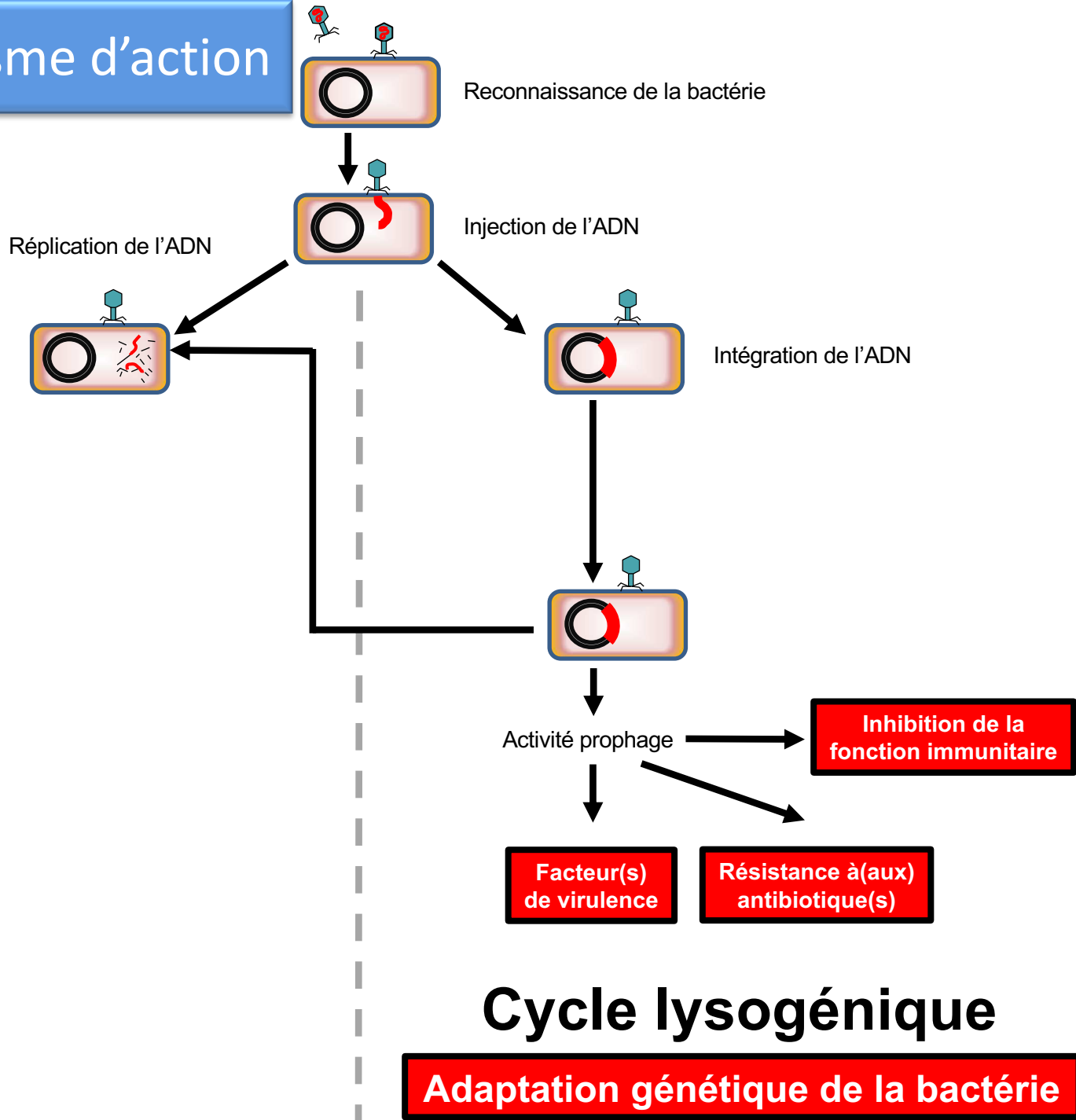
Phages : mécanisme d'action



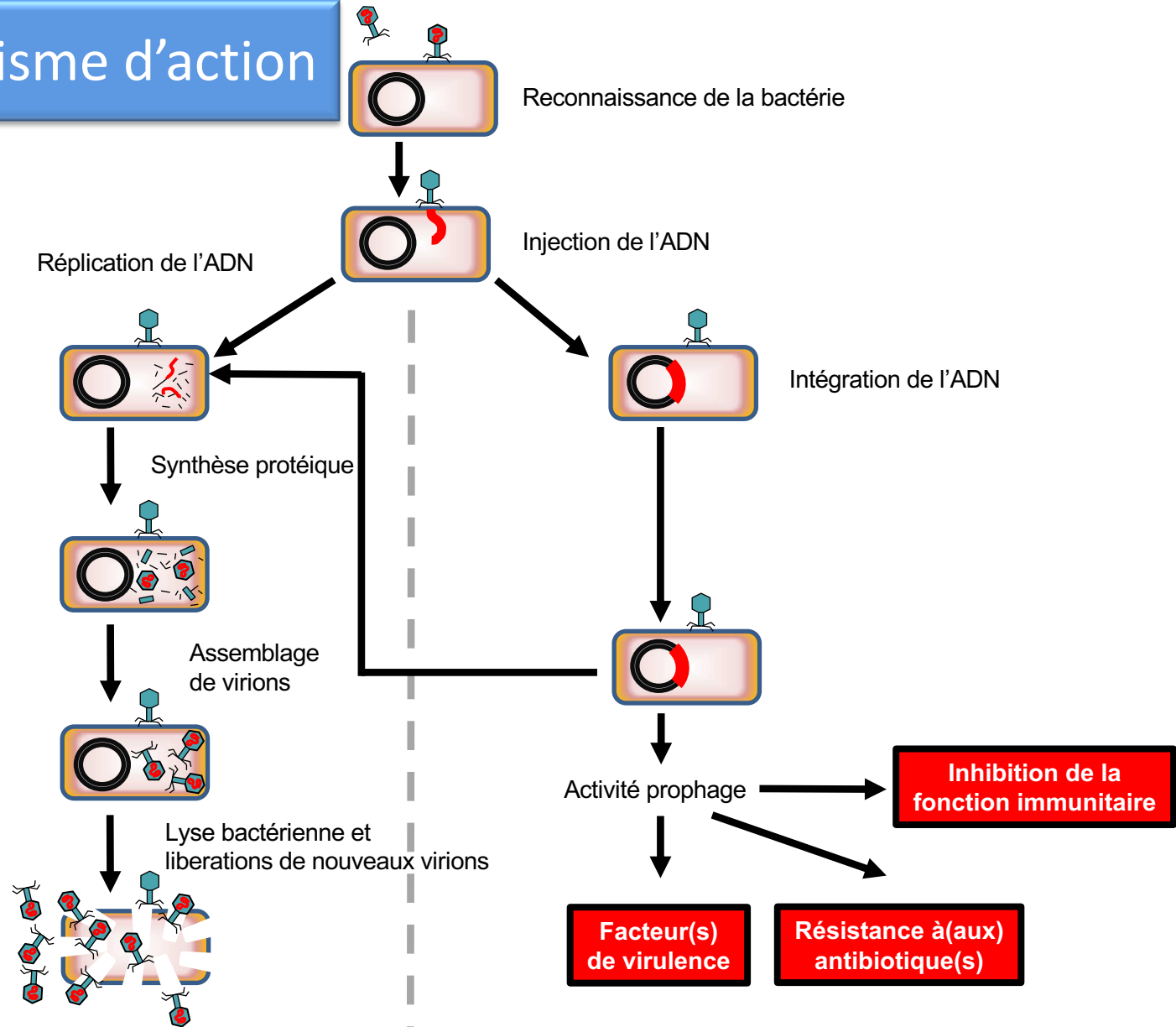
Phages : mécanisme d'action



Phages : mécanisme d'action



Phages : mécanisme d'action



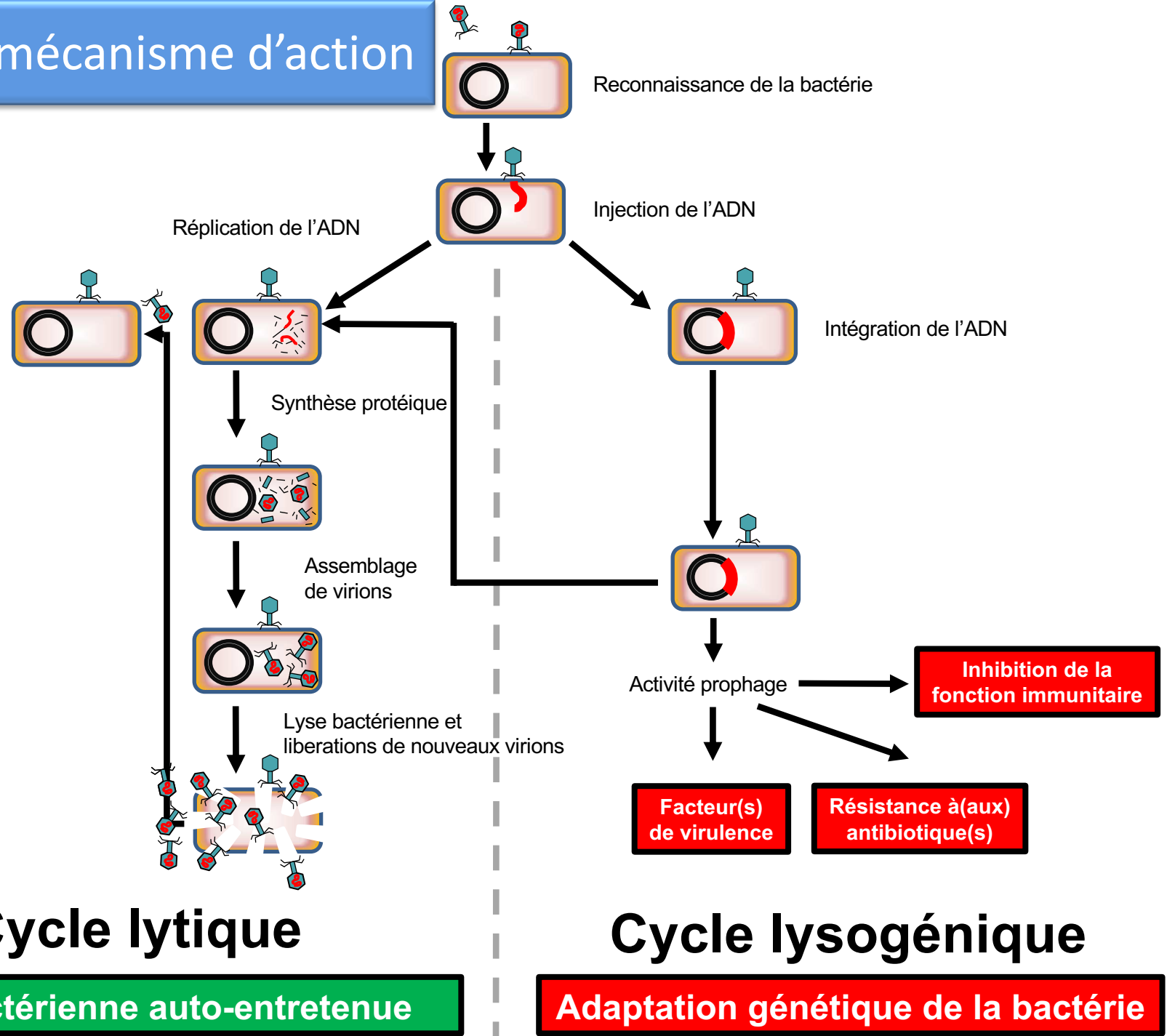
Cycle lytique

Cycle lysogénique

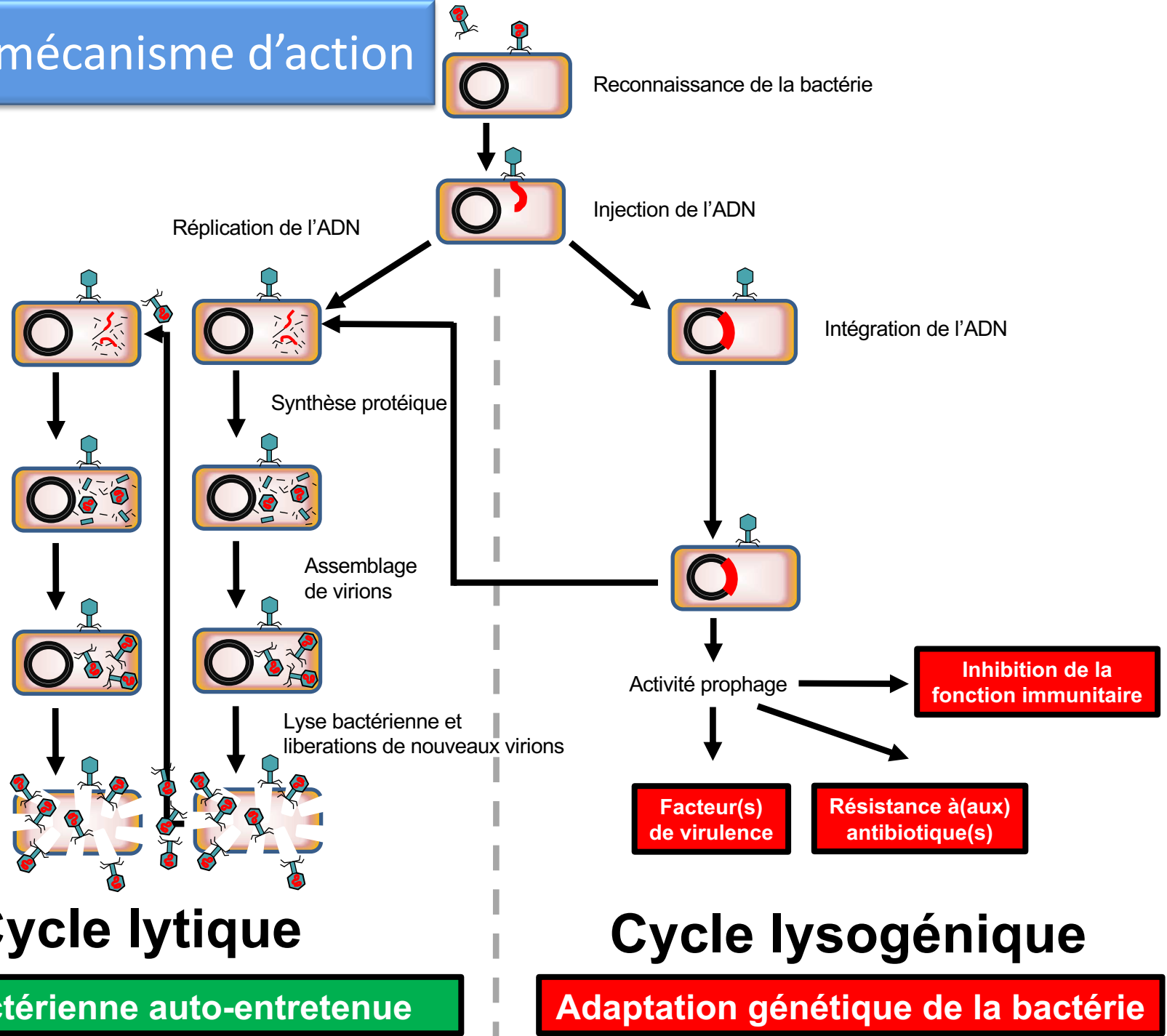
Lyse bactérienne auto-entretenu

Adaptation génétique de la bactérie

Phages : mécanisme d'action

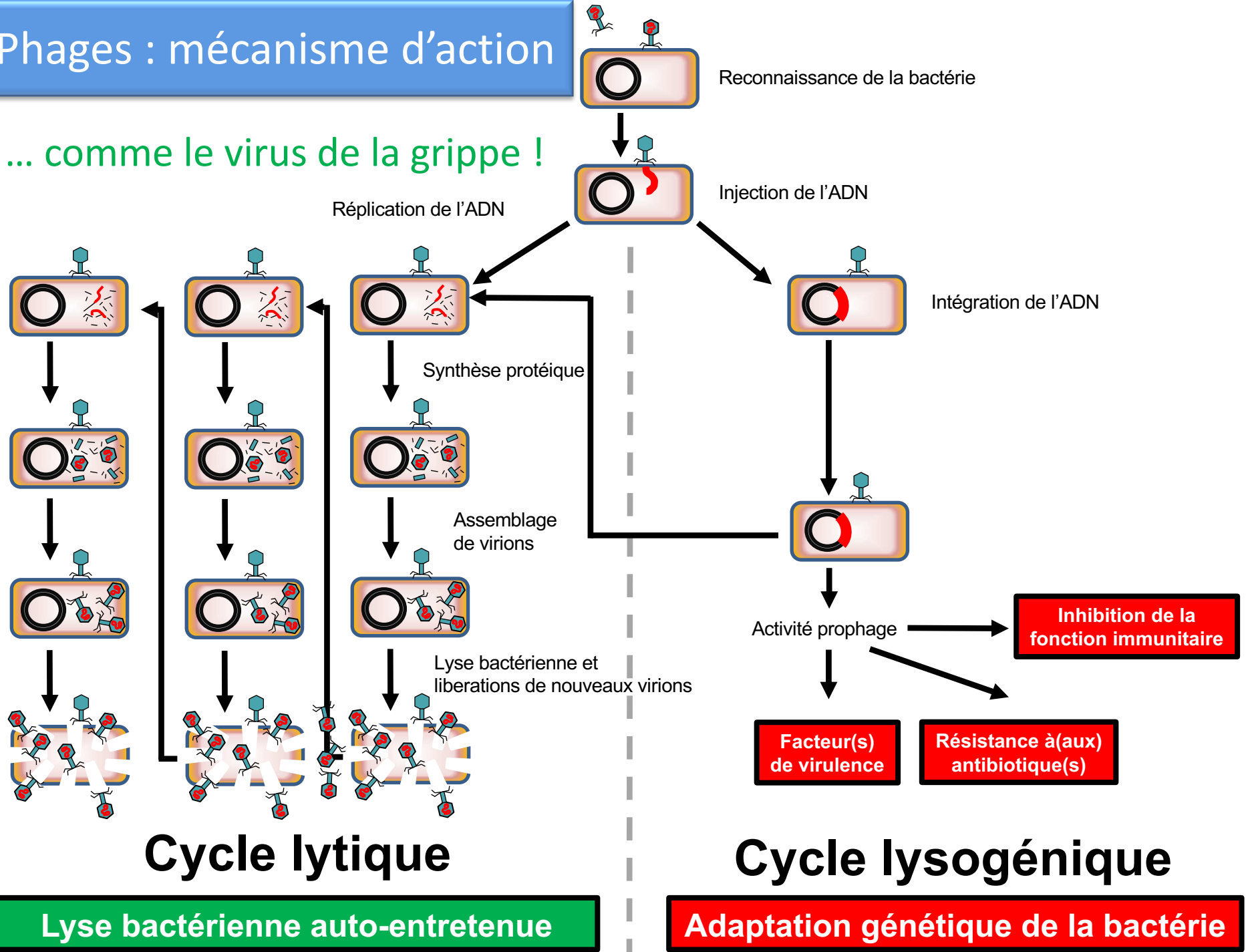


Phages : mécanisme d'action

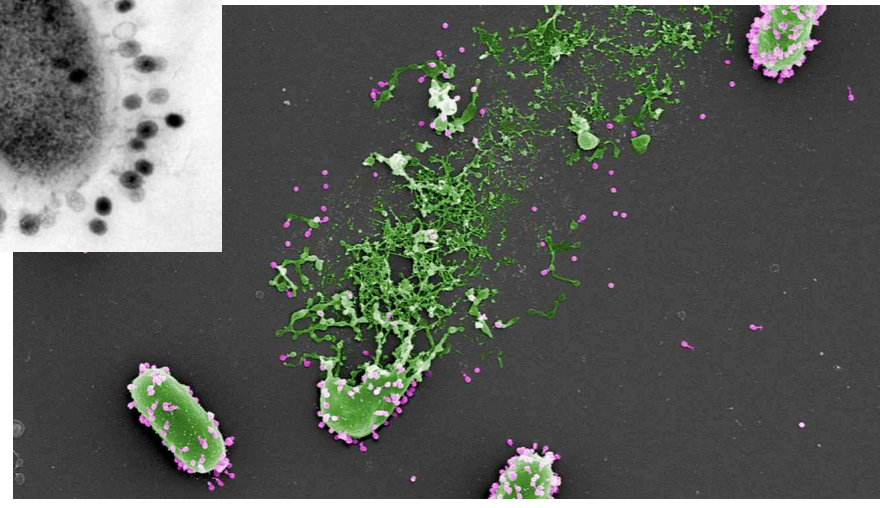
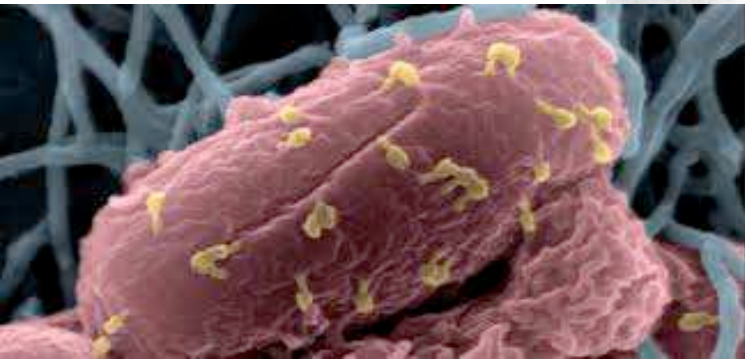
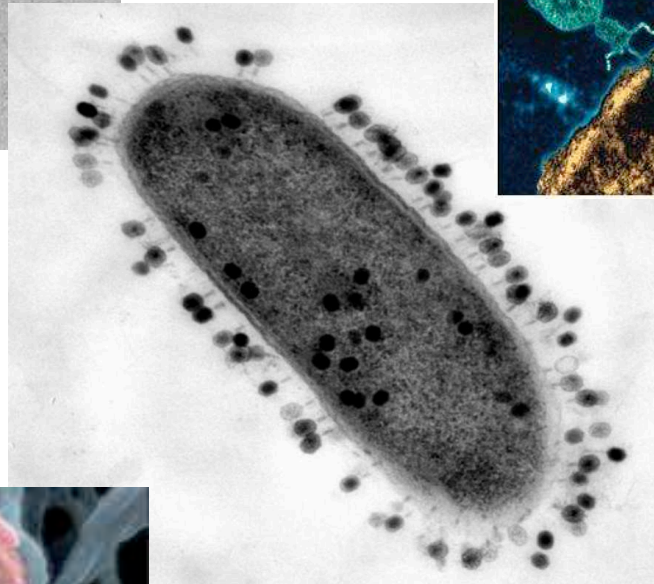
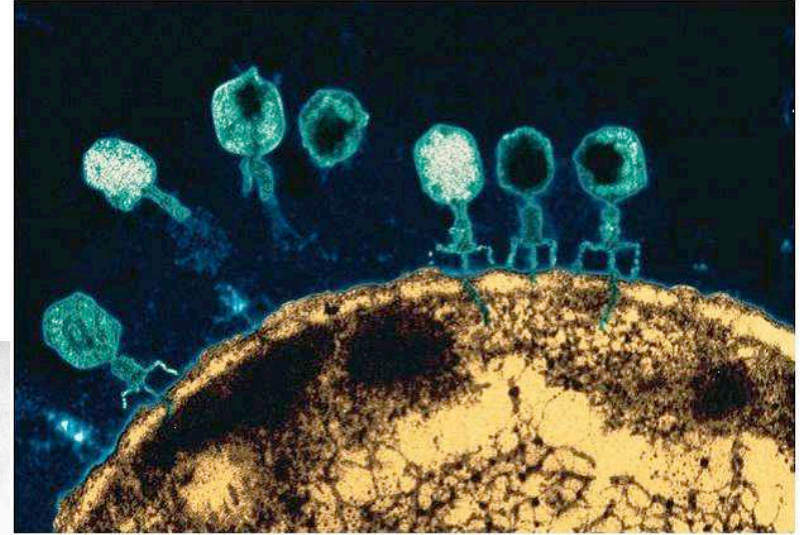
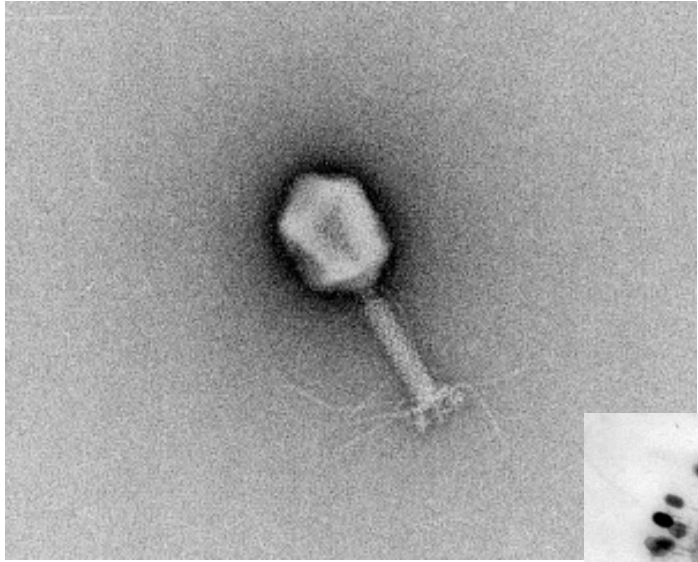


Phages : mécanisme d'action

... comme le virus de la grippe !

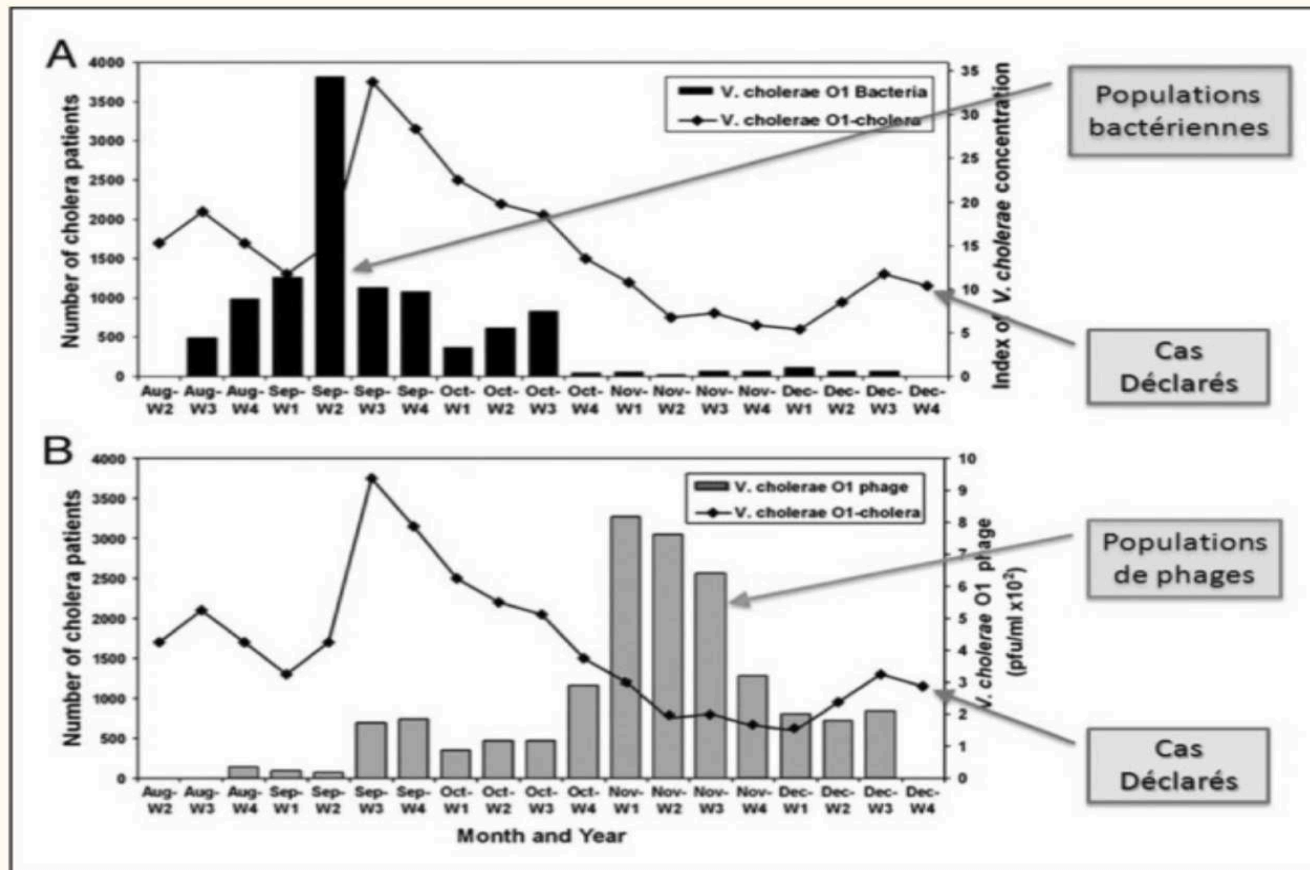


Phages : mécanisme d'action



Phages : à quoi servent-ils dans la nature ?

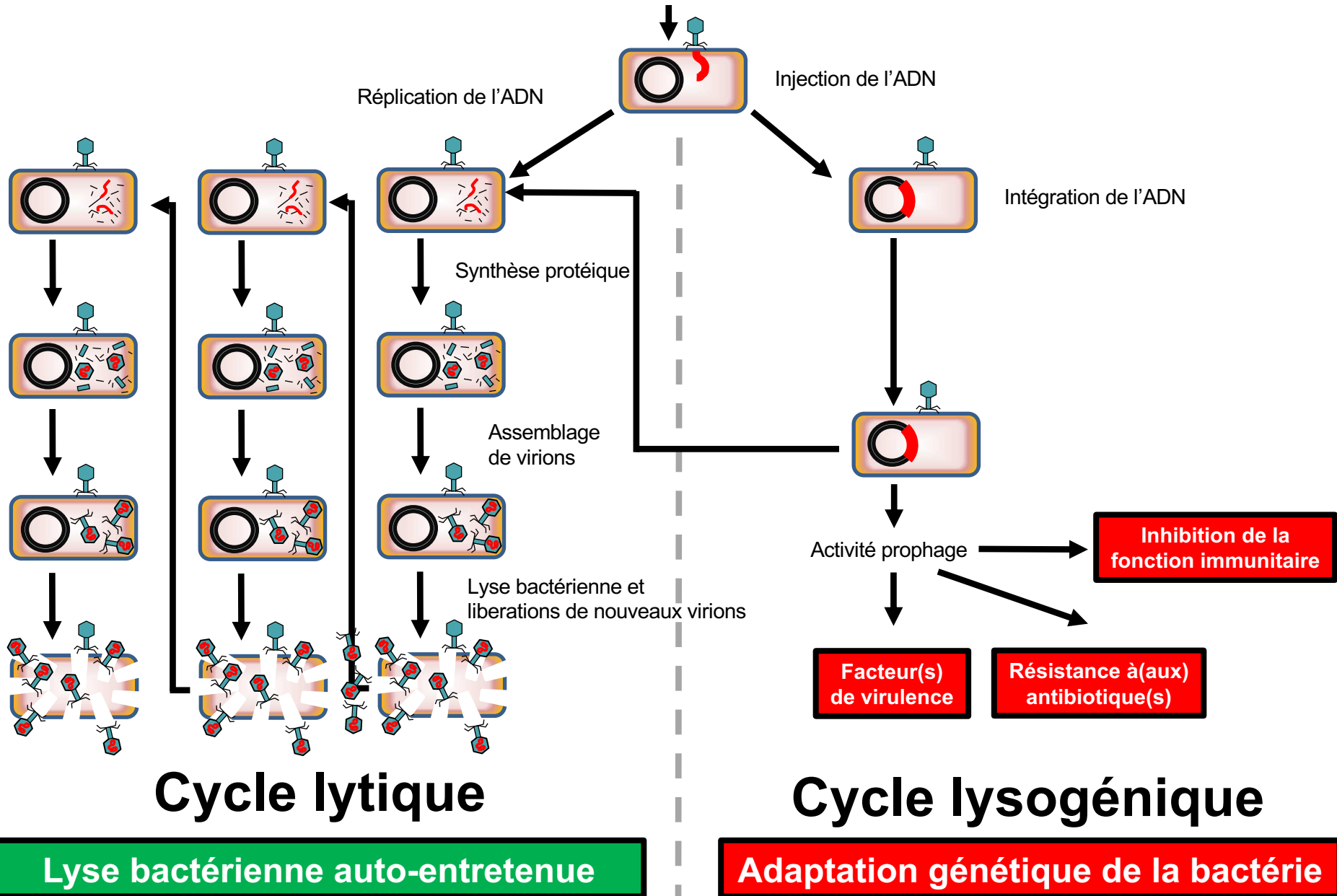
Co-evolution bactérie / phages



Faruque et al., 2005, PNAS. **Seasonal epidemics of cholera inversely correlate with the prevalence of environmental cholera phages.**

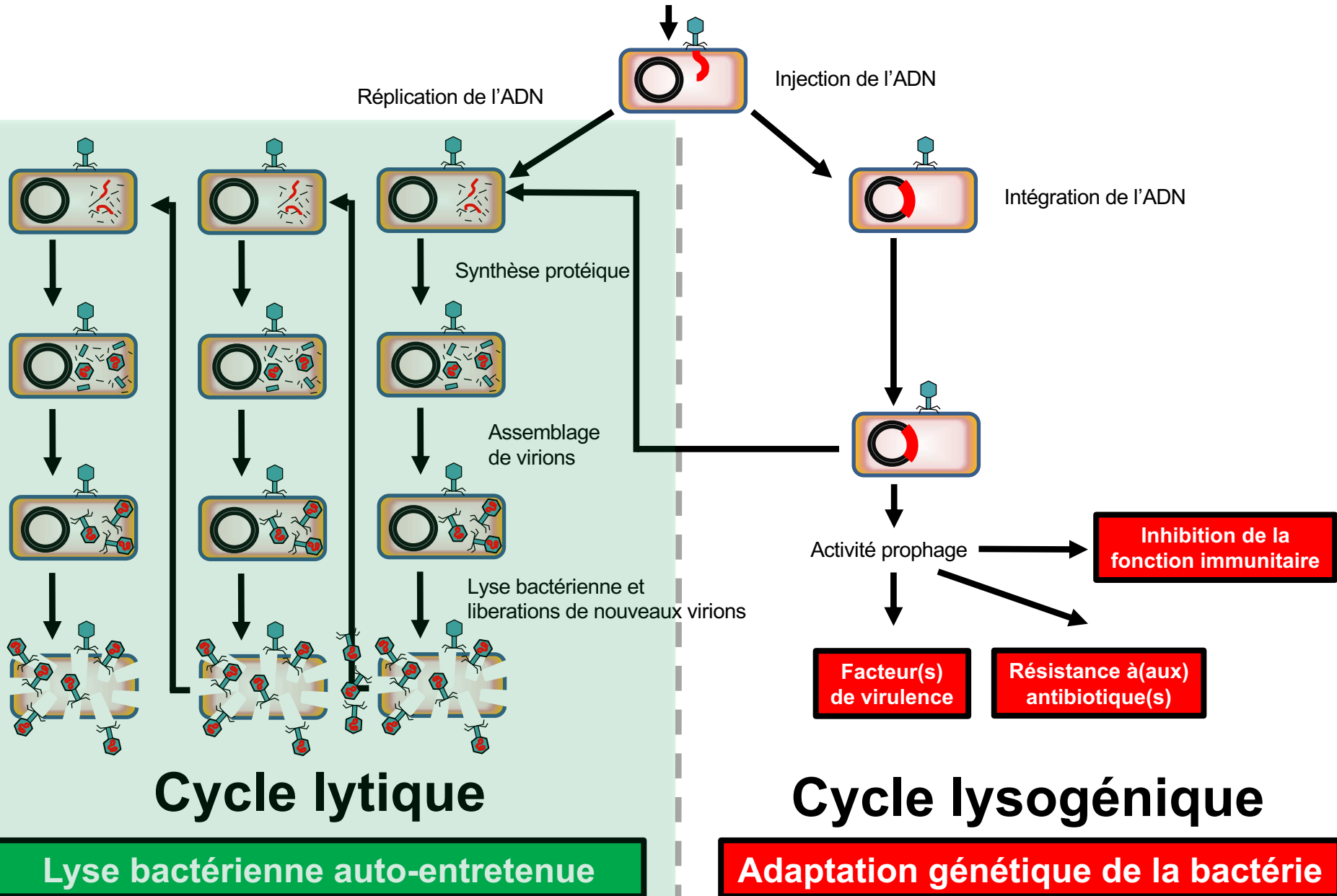
Phagothérapie

= utilisation de phages pour traiter des infections
= tuer les bactéries !



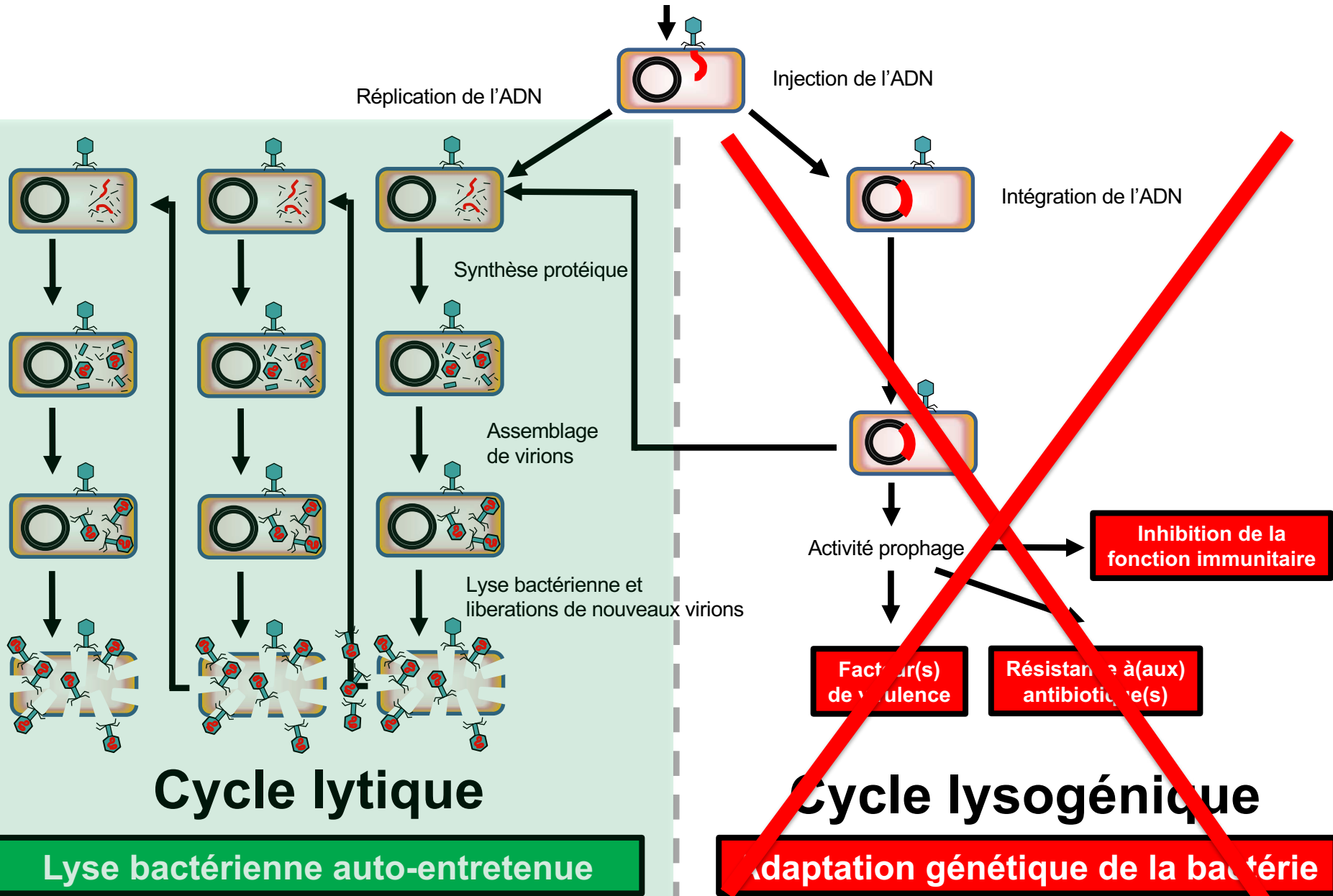
Phagothérapie

= utilisation de phages pour traiter des infections
= tuer les bactéries !

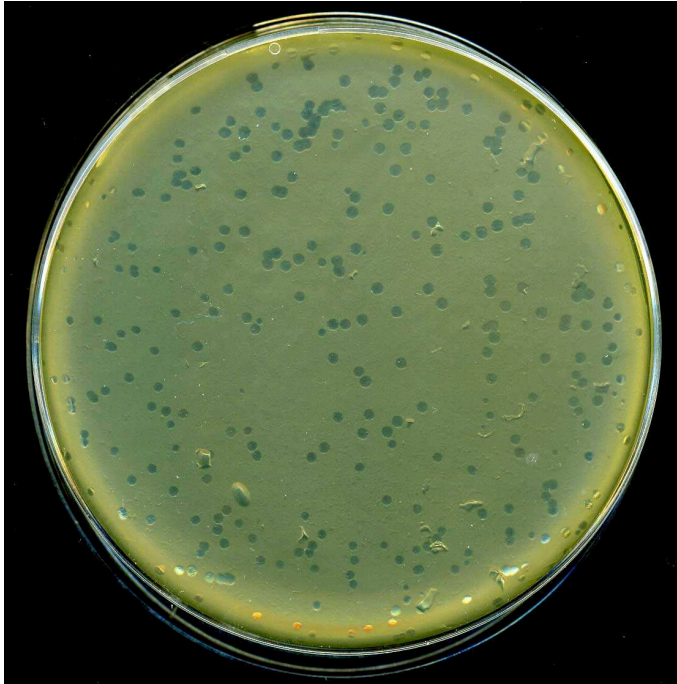


Phagothérapie

= utilisation de phages pour traiter des infections
= tuer les bactéries !



Phagothérapie = utilisation de phages pour traiter des infections
= tuer les bactéries !

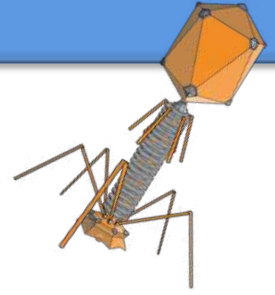


Bactéries tuées
= plages de lyse



Bactéries tuées
= éclaircissement du trouble bactérien

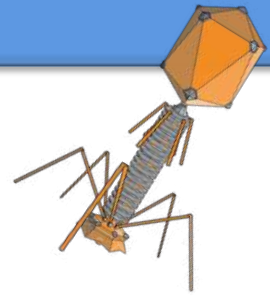
Phages : le challenge ?!



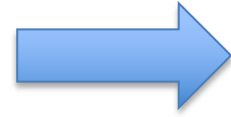
X milliards de
BactériophageS !



Phages : le challenge ?!



X milliards de
Bactériophage_S !



$>10^{10}$ bactériophage/mL

Modèle d'infection pulmonaire à *Pseudomonas*

Bacteriophages Can Treat and Prevent *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infections

JID 2010

Laurent Debarbieux,¹ Dominique Leduc,² Damien Maura,¹ Eric Morello,¹ Alexis Criscuolo,¹ Olivier Grossi,³
Viviane Balloy,² and Lhousseine Touqui²

- *Pseudomonas aeruginosa* - Souche bioluminescente
- Instillation nasale
- Phage PAK-P1 vs PBS en aerosol à 2h pi

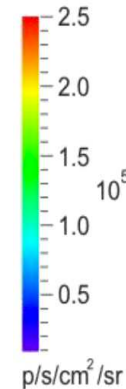
Modèle d'infection pulmonaire à *Pseudomonas*

Bacteriophages Can Treat and Prevent *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infections

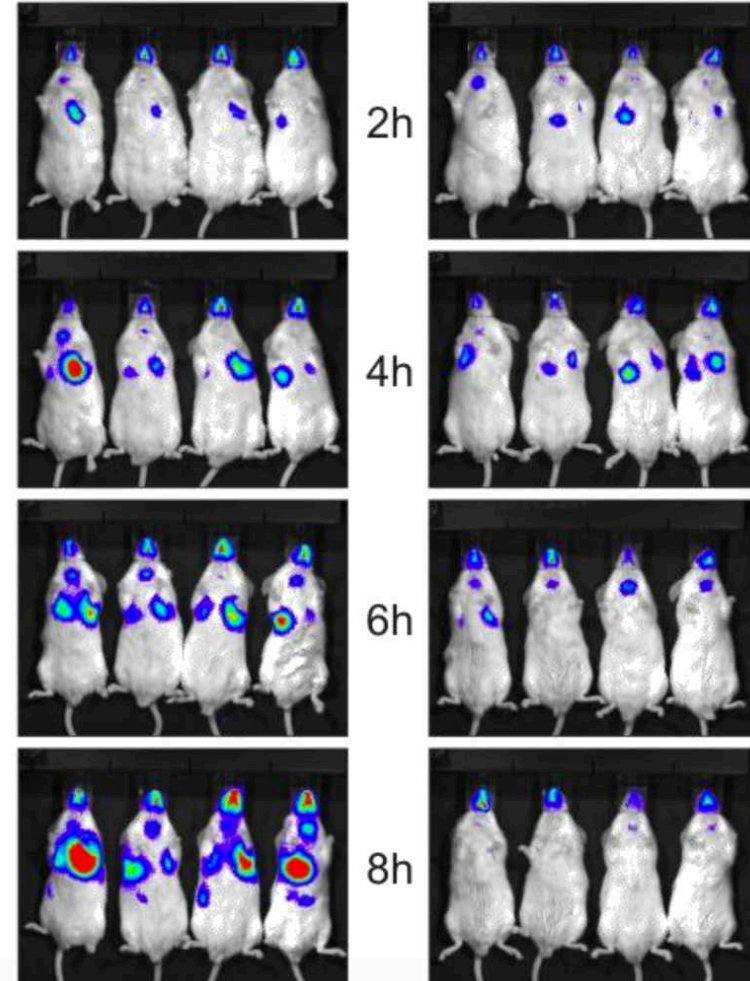
JID 2010

Laurent Debarbieux,¹ Dominique Leduc,² Damien Maura,¹ Eric Morello,¹ Alexis Criscuolo,¹ Olivier Grossi,³ Viviane Balloy,² and Lhousseine Touqui²

- *Pseudomonas aeruginosa* - Souche bioluminescente
- Instillation nasale
- Phage PAK-P1 vs PBS en aerosol à 2h pi



Infection à t=0 par 1×10^7 bactéries
sans bactériophages avec bactériophages



Traitement PBS

Traitement phages

Phagothérapie : modèles animaux

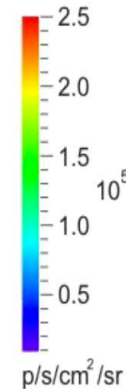
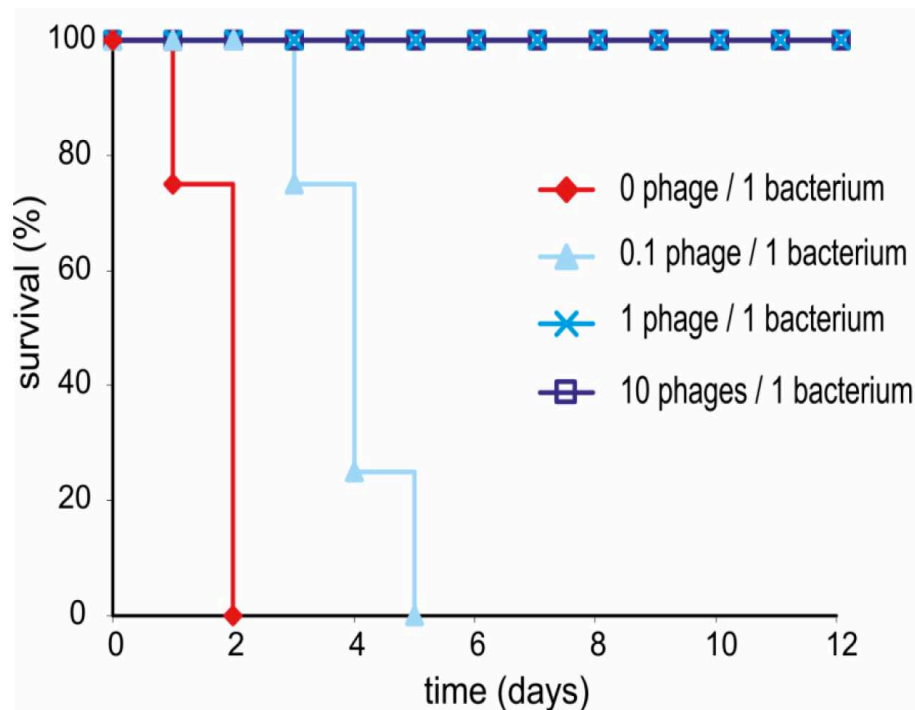
Modèle d'infection pulmonaire à *Pseudomonas*

Bacteriophages Can Treat and Prevent *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infections

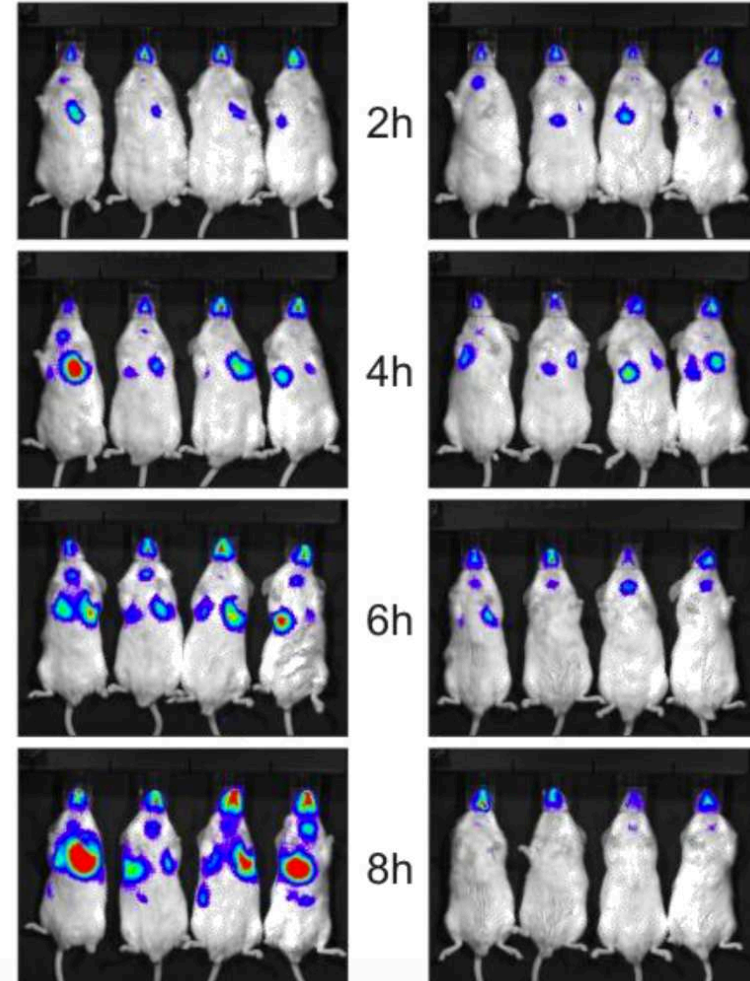
JID 2010

Laurent Debarbieux,¹ Dominique Leduc,² Damien Maura,¹ Eric Morello,¹ Alexis Criscuolo,¹ Olivier Grossi,³ Viviane Balloy,² and Lhousseine Touqui²

- *Pseudomonas aeruginosa* - Souche bioluminescente
- Instillation nasale
- Phage PAK-P1 vs PBS en aerosol à 2h pi



Infection à t=0 par 1×10^7 bactéries
sans bactériophages avec bactériophages



Traitement PBS

Traitement phages

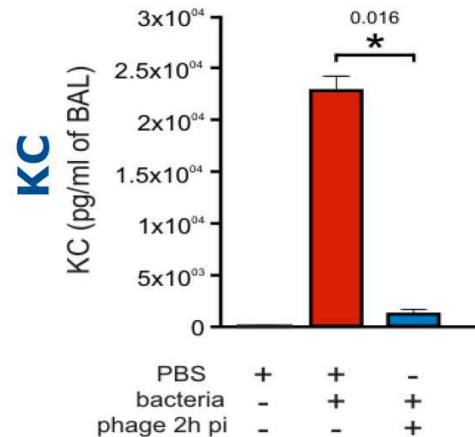
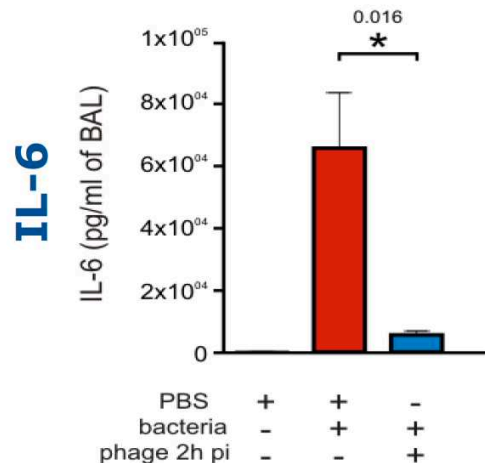
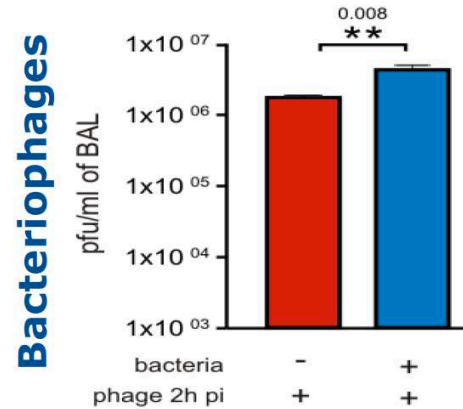
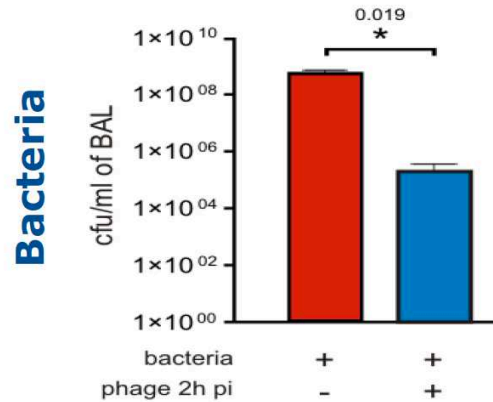
Phagothérapie : modèles animaux

Modèle d'infection pulmonaire à *Pseudomonas*

Bacteriophages Can Treat and Prevent *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infections

JID 2010

Laurent Debarbieux,¹ Dominique Leduc,² Damien Maura,¹ Eric Morello,¹ Alexis Criscuolo,¹ Olivier Grossi,³ Viviane Balloy,² and Lhousseine Touqui²



Bactéries ↘

Bactériophages ↗

Inflammation ↘

Survie ↗

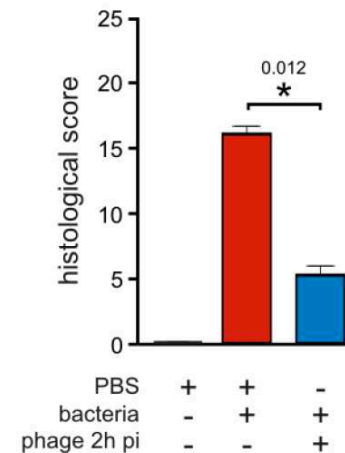
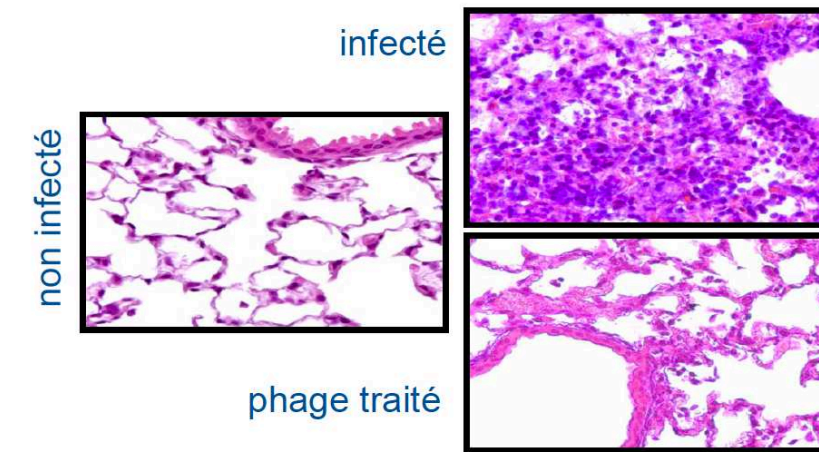
Phagothérapie : modèles animaux

Modèle d'infection pulmonaire à *Pseudomonas*

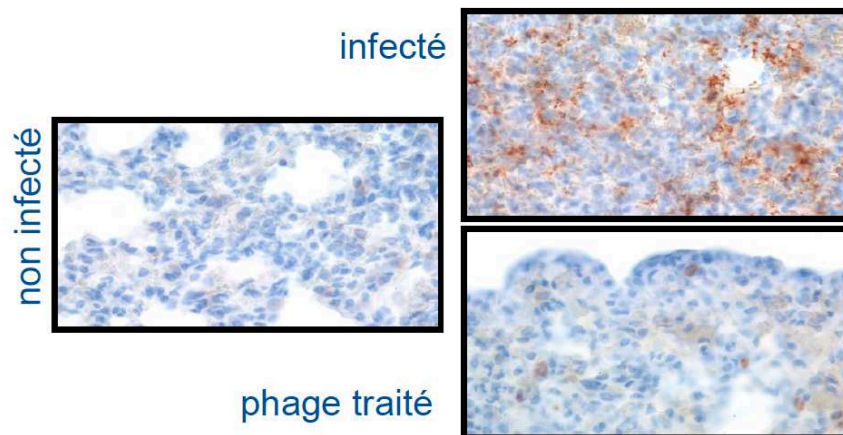
Bacteriophages Can Treat and Prevent *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infections

JID 2010

Laurent Debarbieux,¹ Dominique Leduc,² Damien Maura,¹ Eric Morello,¹ Alexis Criscuolo,¹ Olivier Grossi,³ Viviane Balloy,² and Lhousseine Touqui²



PMNs,
Lymphocytes,
Infiltration,
Alvéolite,
Brochite,
Nécrose



anticorps *P. aeruginosa*

Disparition des bactéries
dans les échantillons traités
par les bactériophages

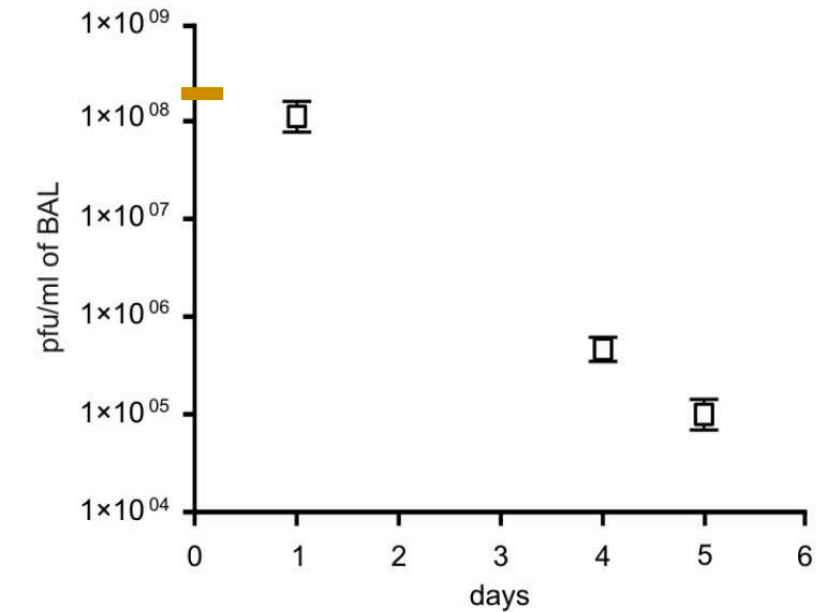
Modèle d'infection pulmonaire à *Pseudomonas*

OPEN ACCESS Freely available online

PLoS one 2011

Pulmonary Bacteriophage Therapy on *Pseudomonas aeruginosa* Cystic Fibrosis Strains: First Steps Towards Treatment and Prevention

Eric Morello¹, Emilie Saussereau¹, Damien Maura¹, Michel Huerre², Lhousseine Touqui^{3,4}, Laurent Debarbieux^{1*}



½ vie phage dans le poumon
Souris non traitées

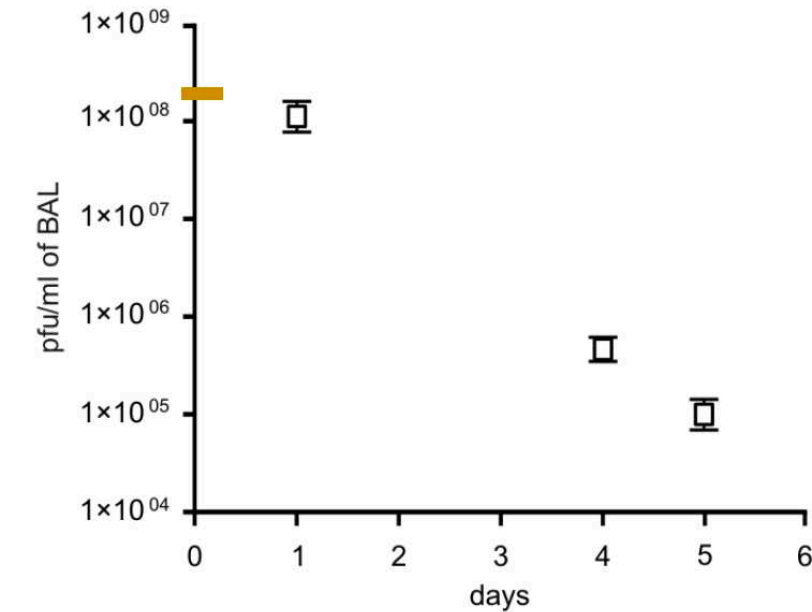
Modèle d'infection pulmonaire à *Pseudomonas*

OPEN ACCESS Freely available online

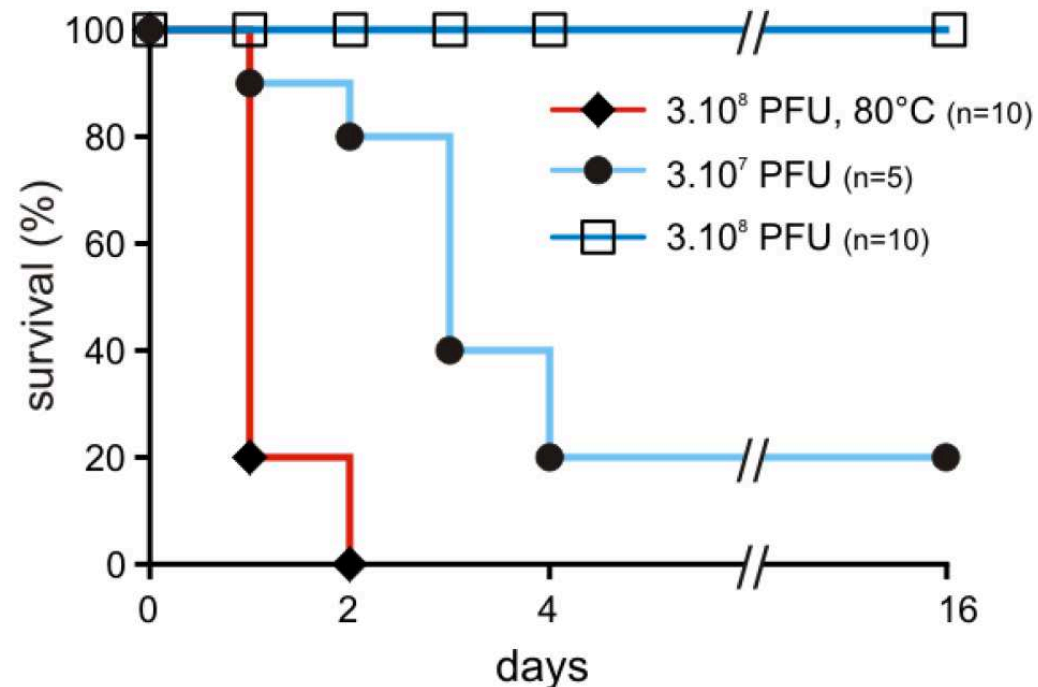
PLoS one 2011

Pulmonary Bacteriophage Therapy on *Pseudomonas aeruginosa* Cystic Fibrosis Strains: First Steps Towards Treatment and Prevention

Eric Morello¹, Emilie Saussereau¹, Damien Maura¹, Michel Huerre², Lhousseine Touqui^{3,4}, Laurent Debarbieux^{1*}



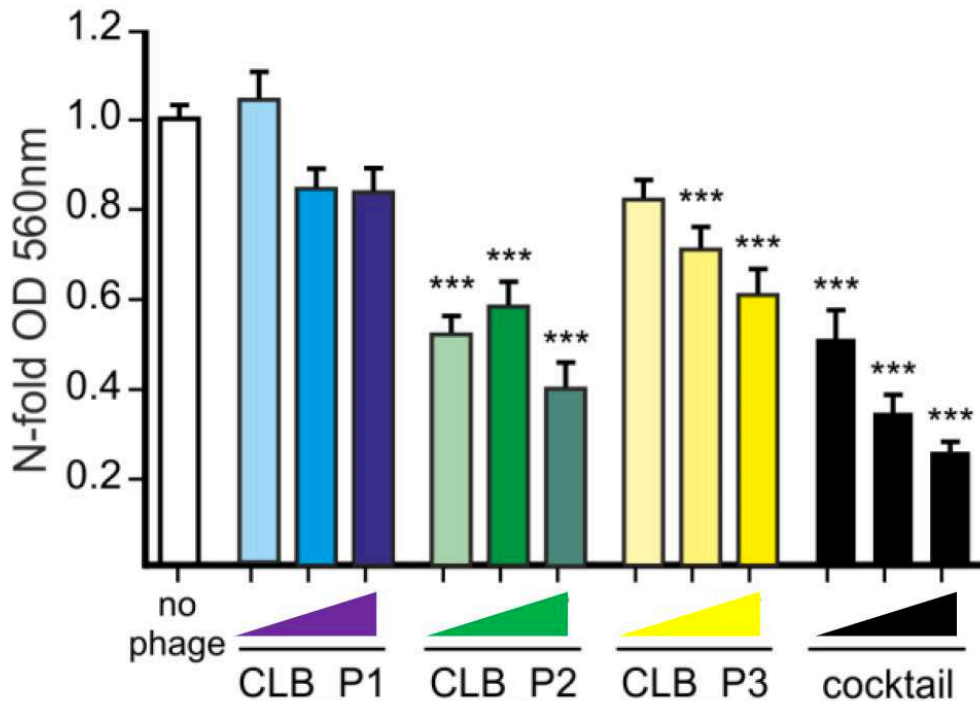
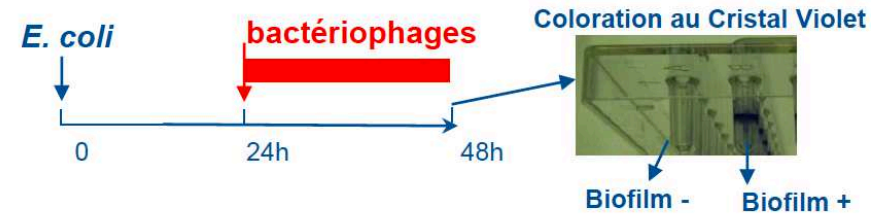
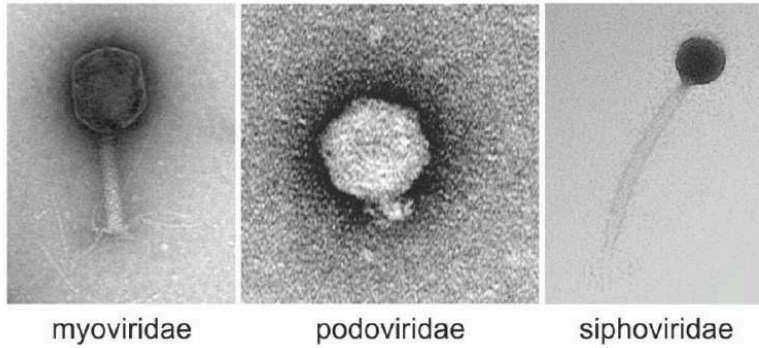
½ vie phage dans le poumon
Souris non traitées



Pré-traitement de 4 jours
= protection totale

Phagothérapie : modèles animaux

Modèle de décolonisation digestive *E. coli*

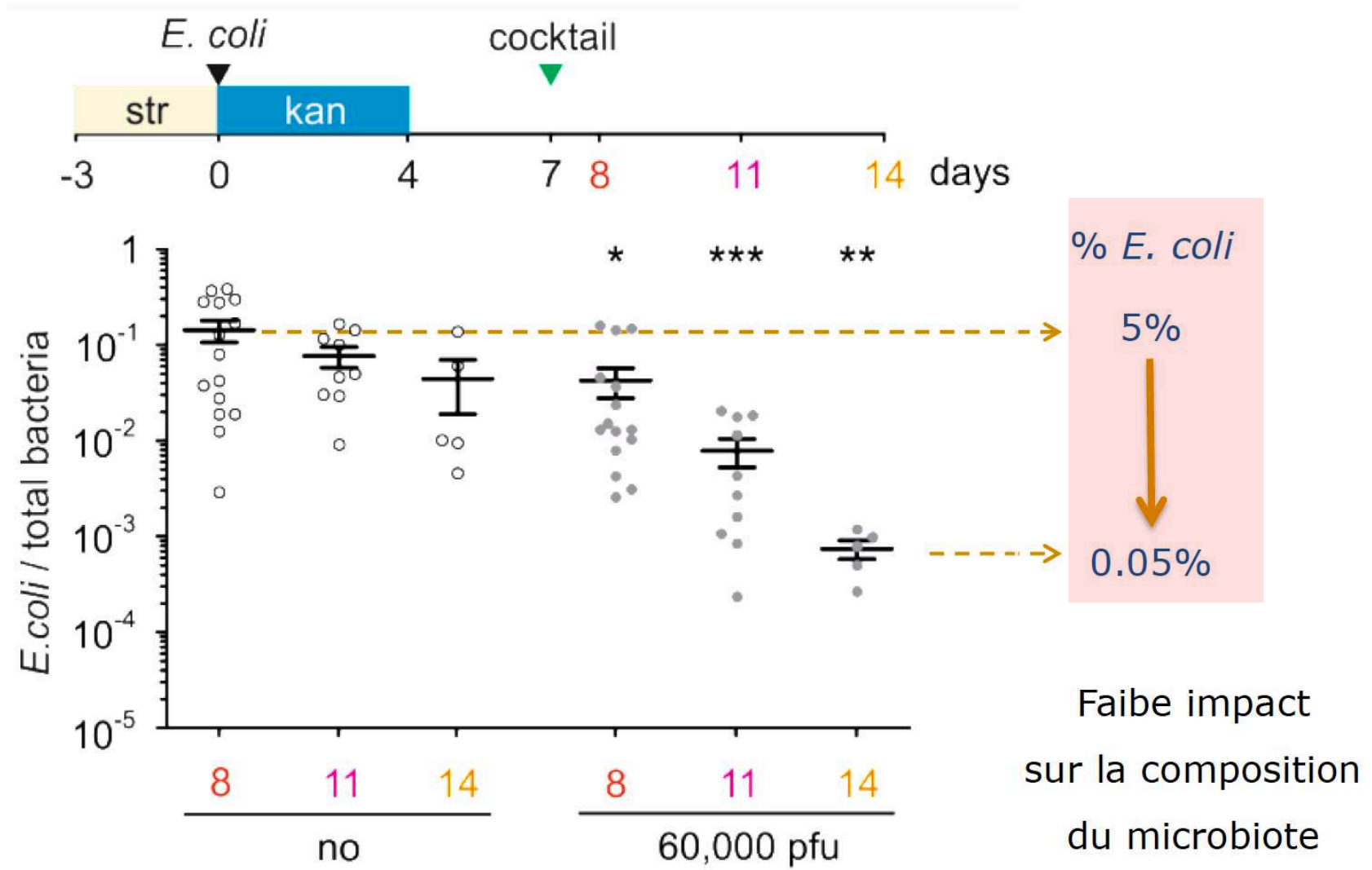


Le cocktail est actif de manière dose-dépendante

Le cocktail présente un effet synergique

Phagothérapie : modèles animaux

Modèle de décolonisation digestive *E. coli*



Il est possible de ré*E. coli*

Modèle de colonisation digestive

Clinical Infectious Diseases

BRIEF REPORT

Eradication of a Multidrug-Resistant, Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolate Following Oral and Intra-rectal Therapy With a Custom Made, Lytic Bacteriophage Preparation

Mario Corbellino,^{1,✉} Nicolas Kieffer,² Mzia Kutateladze,³ Nana Balarjishvili,³ Lika Leshkasheli,³ Lia Askilashvili,³ George Tsertsvadze,³ Sara Giordana Rimoldi,⁴ Deia Nizharadze,⁵ Naomi Hoyle,⁵ Lia Nadareishvili,⁵ Spinello Antinori,^{1,6} Cristina Pagani,⁴ Daniele Giuseppe Scorza,⁴ Ai Ling Loredana Romanò,⁷ Sandro Ardizzone,^{6,8} Piergiorgio Danelli,^{6,9} Maria Rita Gismondo,^{4,6} Massimo Galli,^{1,6} Patrice Nordmann,² and Laurent Poirel²

In July 2017, a patient presented colonization with a multidrug-resistant, carbapenemase (KPC-3)-producing *Klebsiella pneumoniae* isolate. A custom-made, lytic bacteriophage preparation was administered to the patient in December 2017, with subsequent eradication of the microorganism and without adverse effects.

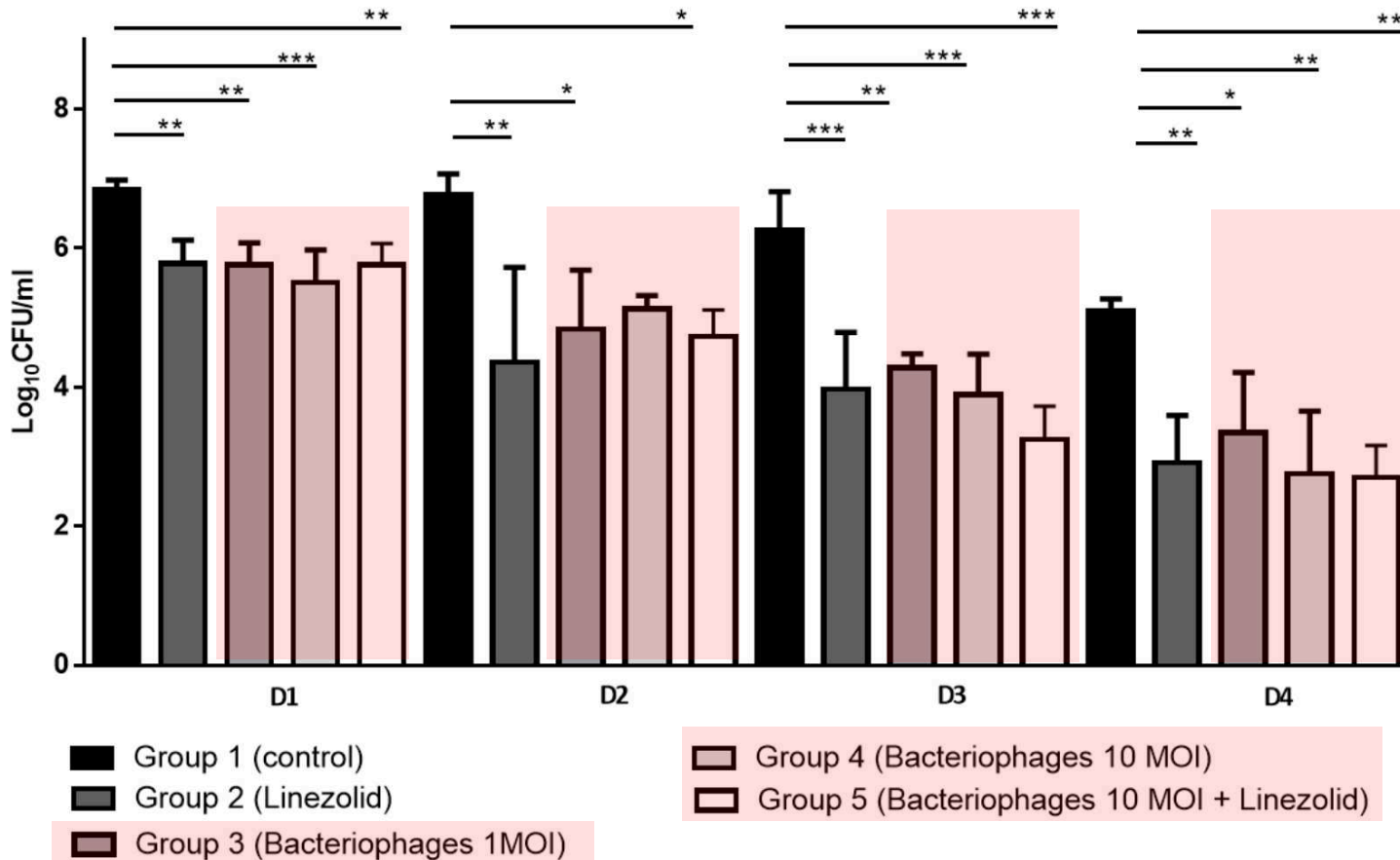
Modèle d'infection osseuse

Efficacy of bacteriophages in a *S. aureus* non-diabetic or diabetic foot infection murine

model **2019 Antimicrob. Agents Chemother. doi:10.1128/AAC.01870-19**

S. Albac¹, M. Medina², D. Labrousse¹, D. Hayez¹, D. Bonnot¹, N. Anzala¹, F. Laurent³, T. Ferry⁴,

A. Dublanche⁵, P. Chavanet^{1,6}, C. Fevre², D. Croisier^{1*}.



Phagothérapie : un peu d'histoire

L'ACTION BACTÉRICIDE DES EAUX DE LA JUMNA ET DU GANGE SUR LE MICROBE DU CHOLÉRA

PAR M. E. HANKIN

Du laboratoire du gouvernement. Agra, Inde.

Quand on voit, à la traversée du Gange ou de la Jumna, au milieu d'une des grandes villes indiennes, des milliers d'habitants se laver, eux, leurs troupeaux et leurs vêtements dans une eau trouble et sale, et quand on songe que fréquemment des cadavres à moitié brûlés trouvent leur dernier asile dans le fleuve, on est bien excusable de penser que ces eaux doivent être dangereuses à consommer, et que la vénération des Hindous pour leur fleuve sacré prouve leur ignorance de toute idée de santé ou de propreté. C'est ce que pensent les autorités européennes, et, en ce qui concerne la distribution du choléra, elles considèrent volontiers le Gange comme le principal agent de la transmission de la maladie dans son pays d'origine, et comme le père nourricier de son microbe.



Dans cette expérience, l'eau de la Jumna tuait les microbes du choléra qu'on y introduisait, qu'elle fût prise directement dans le fleuve ou soumise d'abord à la filtration au travers du sable, et passée ensuite au purificateur Anderson. L'effet était le

III. CONCLUSION

Quoique l'intérêt scientifique des résultats qui précèdent soit limité par ce fait que je n'ai pas encore découvert la nature et l'origine de la substance antiseptique présente dans l'eau du Gange

et de la Jumna, ils me semblent intéressants en ce qu'ils expliquent pourquoi dans l'Inde le choléra ne descend pas les fleuves. Ils ont en outre des applications pratiques, ainsi que je l'ai montré dans un livre ' que je viens de publier sur le choléra. Pour citer un exemple qui peut intéresser les lecteurs européens, ils suggèrent que dans les pèlerinages hindous aux lieux sacrés des rives du Gange et de la Jumna, il y aurait avantage à déconseiller l'usage des eaux de puits, et à encourager l'usage des eaux de la rivière. Cela serait sans doute facile, car les pèlerins regardent à la fois cette eau comme sainte et comme stimulant la digestion. Je crois qu'une grande partie des dangers des pèlerinages annuels à la célèbre et grande foire d'Hurdwar, par exemple, pourraient disparaître en fermant les 5 ou 6 puits qui existent en ce point.

Phagothérapie : un peu d'histoire

AN INVESTIGATION ON THE NATURE OF ULTRA-MICROSCOPIC VIRUSES.¹

BY F. W. TWORT, L.R.C.P. LOND., M.R.C.S.

(From the Laboratories of the Brown Institution, London.)

DURING the past three years a considerable number of experiments have been carried out at the Brown Institution on filter-passing viruses. Many of these, previous to the outbreak of the war, were performed by Dr. C. C. Twort, and, unfortunately, circumstances during the present year have made it difficult to continue the work.

In the first instance attempts were made to demonstrate the presence of non-pathogenic filter-passing viruses. As is well known, in the case

When possible, experiments should be conducted to determine the relative toxicity of cocci and bacilli when free from and when associated with the dissolving material, and vaccines prepared with the transparent material should be tested.

I regret that financial considerations have prevented my carrying these researches to a definite conclusion, but I have indicated the lines along which others more fortunately situated can proceed.



1877 - 1950

Phagothérapie : un peu d'histoire

AN INVESTIGATION ON THE NATURE OF ULTRA-MICROSCOPIC VIRUSES.¹

BY F. W. TWORT, L.R.C.P. LOND., M.R.C.S.

(From the Laboratories of the Brown Institution, London.)

DURING the past three years a considerable number of experiments have been carried out at the Brown Institution on filter-passing viruses. Many of these, previous to the outbreak of the war, were performed by Dr. C. C. Twort, and, unfortunately, circumstances during the present year have made it difficult to continue the work.

In the first instance attempts were made to demonstrate the presence of non-pathogenic filter-passing viruses. As is well known, in the case

When possible, experiments should be conducted to determine the relative toxicity of cocci and bacilli when free from and when associated with the dissolving material, and vaccines prepared with the transparent material should be tested.

I regret that financial considerations have prevented my carrying these researches to a definite conclusion, but I have indicated the lines along which others more fortunately situated can proceed.



1877 - 1950

Le découvreur des phages ...

Phagothérapie : un peu d'histoire

AN INVESTIGATION ON THE NATURE OF ULTRA-MICROSCOPIC VIRUSES.¹

BY F. W. TWORT, L.R.C.P. LOND., M.R.C.S.

(From the Laboratories of the Brown Institution, London.)

DURING the past three years a considerable number of experiments have been carried out at the Brown Institution on filter-passing viruses. Many of these, previous to the outbreak of the war, were performed by Dr. C. C. Twort, and, unfortunately, circumstances during the present year have made it difficult to continue the work.

In the first instance attempts were made to demonstrate the presence of non-pathogenic filter-passing viruses. As is well known, in the case

When possible, experiments should be conducted to determine the relative toxicity of cocci and bacilli when free from and when associated with the dissolving material, and vaccines prepared with the transparent material should be tested.

I regret that financial considerations have prevented my carrying these researches to a definite conclusion, but I have indicated the lines along which others more fortunately situated can proceed.



1877 - 1950

Le découvreur des phages ...

Phagothérapie : un peu d'histoire

SUR UN MICROBE INVISIBLE ANTAGONISTE DES BACILLES DYSENTERIQUES

En résumé, chez certains convalescents de dysenterie, j'ai constaté que la disparition du bacille dysentérique coïncidait avec l'apparition d'un microbe invisible doué de propriétés antagonistes vis-à-vis du bacille pathogène. Ce microbe, véritable microbe d'immunité, est un bactériophage obligatoire;

L'isolement du microbe anti-Shiga est simple: on ensemence un tube de bouillon avec quatre à cinq gouttes de selles, on place à l'étuve à 37° pendant 18 heures puis on filtre à la bougie Chamberland L₂. Une petite quantité d'un filtrat actif ajoutée, soit à une culture en bouillon de bacilles de Shiga, soit à une émulsion de ces bacilles dans du bouillon ou même dans de l'eau physiologique, provoque l'arrêt de la culture, la mort des bacilles puis leur lyse qui est complète après un laps de temps variant de quelques heures à quelques jours suivant l'abondance plus ou moins grande de la culture et la quantité de filtrat ajoutée.

son parasitisme est strictement spécifique, mais s'il est limité à une espèce à un moment donné, il peut s'exercer tour à tour sur divers germes par accoutumance. Il semble donc que dans la dysenterie bacillaire, à côté d'une immunité antitonique homologue, émanant directement de l'organisme du sujet atteint, il existe une immunité antimicrobienne hétérologue produite par un microorganisme antagoniste. Il est probable que ce phénomène n'est pas spécial à la dysenterie, mais qu'il est d'un ordre plus général car j'ai pu constater des faits semblables, quoique moins accentués, dans deux cas de fièvre paratyphoïde.



1873 - 1949

Comptes rendus de l'Académie
des Sciences, 10 septembre 1917,
373-375.

L'autodidacte, inventeur de
la phagothérapie !

First clinical application of the dysentery bacteriophage prepared by F. d'Hellere August 1, 1919, Paris



Chef du service de Pédiatrie
Victor-Henri Hutinel
1849-1933

Test d'inocuité sur des internes du service !
Traitement d'un enfant de 12 ans avec
dysenterie sévère : amélioration immédiate
guérison complète en qqes jours.
Trois autres patients traités = même succès ...

Hôpital Necker – Enfants Malades supreetas
Assistance Publique – Hôpitaux de Paris



MONOGRAPHIES DE L'INSTITUT PASTEUR

F. D'HERELLE

LE BACTÉRIOPHAGE

SON RÔLE DANS L'IMMUNITÉ



Inventeur de la phagothérapie