

LA PHAGOTHÉRAPIE

UN COMPLÉMENT PROMETTEUR DANS NOTRE ARSENAL THÉRAPEUTIQUE FACE AUX BACTÉRIES MULTIRÉSISTANTES

BONIVER M (1), WOTQUENNE P (2), MOUTSCHEN M (3), ROUSSEAU AF (4)

RÉSUMÉ : Les phages sont des virus qui infectent de façon très spécifique les bactéries. Ils sont naturellement présents dans toute la biosphère et sont également impliqués dans différents processus biologiques chez l'homme. Le début du vingtième siècle voit la naissance de la phagothérapie qui consiste à utiliser des phages pour lutter contre les infections bactériennes. Très vite pourtant, la communauté médicale s'en détourne au profit des antibiotiques. Ces dernières années, des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques apparaissent et font naître un regain d'intérêt pour les phages face à cette impasse thérapeutique. Cette revue vise à faire redécouvrir la phagothérapie auprès du corps médical, en détaillant ses mécanismes d'action, ses aspects cliniques et ses modalités pratiques d'utilisation en Belgique. Les défis futurs sont également exposés.

MOTS-CLÉS : *Phagothérapie - Bactériophages - Antibiorésistance - Infections*

PHAGE THERAPY, AN ADDITIONAL STRATEGY AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT BACTERIA

SUMMARY : Phages are viruses that infect bacteria in a very specific way. They are naturally present throughout the biosphere and are also involved in various biological processes in humans. The beginning of the twentieth century saw the birth of phage therapy which consisted of using phages to fight against bacterial infections. Very quickly, however, the medical community turned away in favour of antibiotics. In recent years, bacteria that are multi-resistant to antibiotics have appeared and are giving rise to renewed interest in phages in the face of this therapeutic impasse. This review aims to rediscover phage therapy in the medical profession, by detailing its mechanisms of action, its clinical aspects and its practical modalities of use in Belgium. Future challenges are also outlined.

KEYWORDS : *Phagothérapie - Phages - Antibiotic resistance - Infection*

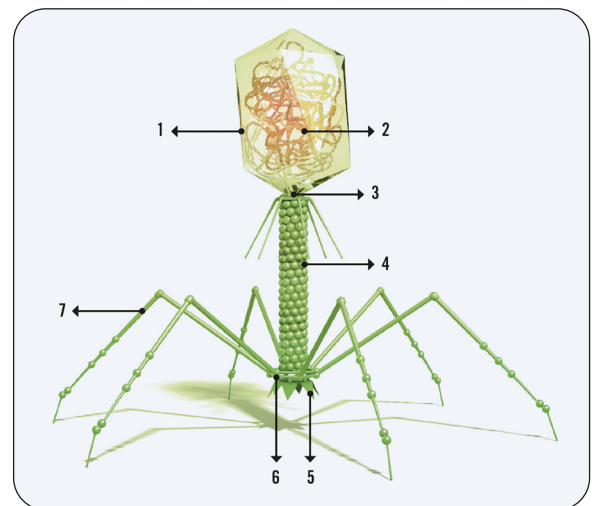
INTRODUCTION

La phagothérapie est une approche thérapeutique courante dans les pays de l'Est depuis près d'un siècle. Face à l'antibiorésistance qui ne cesse d'augmenter, ce traitement à base de bactériophages revient au centre des intérêts. L'objectif de la présente revue est de faire le point sur l'historique, les mécanismes d'actions, l'actualité mais aussi les développements futurs de la phagothérapie.

QUE SONT LES BACTÉRIOPHAGES ?

Les bactériophages (ou phages) (Figure 1) sont des virus majoritairement à ADN. Ils sont constitués d'une capsid (tête) et, pour grand nombre d'entre eux, d'une queue (famille des

Figure 1. Illustration d'un bactériophage



1. Capside (tête). 2. Acide nucléique. 3. Col. 4. Gaine contractile entourant la queue. 5. Spicules. 6. Plaque terminale. 7. Fibres caudales

Caudovirales). Cette queue n'aide pas à leur motilité, mais leur permet d'infecter les bactéries, tant à Gram positif que à Gram négatif. Le phage ne peut se reproduire par ses propres moyens : il lui est nécessaire d'injecter son maté-

(1) Service d'Hygiène hospitalière, CHU Liège, Belgique.

(2) Service des Urgences, CHU Liège, Belgique.

(3) Service des Maladies infectieuses et médecine interne générale, CHU Liège, Belgique.

(4) Service des Soins intensifs, CHU Liège, Belgique.

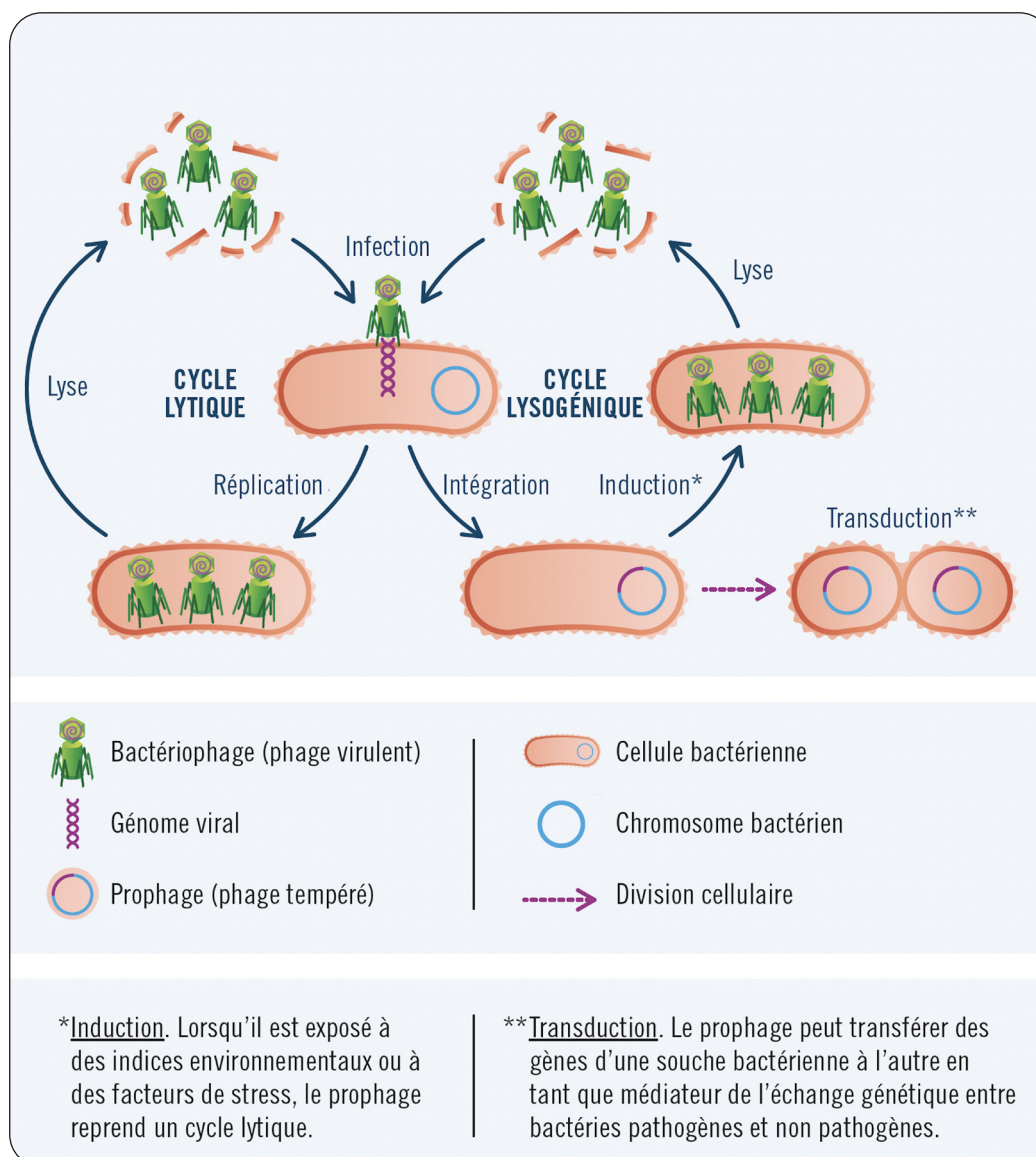
riel génétique dans une bactérie hôte (Figure 2). Incapable d'infecter la cellule eucaryote, il est inoffensif pour cette dernière (1,2).

Le virus va s'adsorber à la surface d'un type précis de bactérie hôte, de manière très spécifique et parfois limitée à un type d'isolat particulier d'une seule espèce bactérienne.

Le mécanisme de reconnaissance entre la cellule cible et le bactériophage passe par des ligands présents à la surface des bactéries. Le spectre d'hôte est ainsi déterminé, entre autres facteurs, par des lipopolysaccharides, des protéines de la paroi ou encore des acides lipotéichoïques (3).

L'infection de la bactérie par le phage et la réplication de ce dernier peuvent se produire de deux manières différentes (Figure 2). Les phages lytiques dits « virulents » injectent leur matériel génétique et se répliquent en de nombreuses copies (virions) au sein de la bactérie, grâce à la machinerie de l'hôte. La lyse secondaire de la bactérie libère alors les virions produits et un nouveau « cycle lytique » peut reprendre. Les phages lysogéniques dits « prophages » ou « phages tempérés » infectent la bactérie en tant que phages symbiotiques et se répliquent avec le chromosome bactérien pendant la division cellulaire sans provoquer de lyse. Durant la phase de « transduction »,

Figure 2. Cycle lytique et cycle lysogénique



le prophage peut transférer des gènes d'une souche bactérienne à l'autre en tant que médiateur de l'échange génétique entre bactéries pathogènes et non pathogènes et ainsi conférer de nouvelles propriétés à la bactérie (codage de la pathogénicité bactérienne, codage pour des toxines, codage pour des résistances aux antibiotiques) (1,2,4,5). Les phages ont besoin de leur hôte pour survivre. Une fois que la bactérie pathogène est éliminée, le virus disparaît naturellement (4).

Les phages se retrouvent partout dans la biosphère où les bactéries sont présentes (les eaux d'égout, les sols, les océans et aussi dans le corps humain) (6). En dehors de son rôle thérapeutique recherché (phagothérapie), le phage peut également agir en tant qu'intermédiaire. En effet, la communauté phagique endogène de l'homme est en lien étroit avec le microbiote bactérien qu'il soit oral, pulmonaire, cutané, vaginal, urinaire ou encore intestinal. Dans certaines conditions, la rupture de cet équilibre fragile mènerait à certaines pathologies parmi lesquels on retrouve à titre d'exemples les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, la maladie de Parkinson, la vessie hyperactive, l'incontinence urinaire d'effort (7–10). Des études doivent encore être menées pour mieux comprendre ces interactions.

HISTOIRE DE LA PHAGOTHÉRAPIE

Frederick Twort découvre les phages en 1915 et Félix d'Hérelle qui travaillait à l'Institut Pasteur a l'idée géniale de les utiliser pour la première fois en 1921 à l'Hôpital des Enfants-Malades de Paris pour guérir de jeunes patients souffrant de dysenterie (*Shigella*). La phagothérapie était née (11–13).

Après la seconde guerre mondiale et suite à la découverte de la pénicilline en 1928, la phagothérapie est délaissée au profit de l'antibiotique plus facile à produire, à conserver et à administrer (14,15). Seuls certains pays de l'Est (Pologne, Géorgie, Russie), privés de cette antibiothérapie, poursuivront l'usage des bactériophages contre les infections bactériennes. Aujourd'hui encore, de nombreux patients sont soignés avec des phages, notamment à l'Institut Eliava à Tbilissi en Géorgie. Depuis quelques années, ce centre, de renommée mondiale pour la phagothérapie, est de plus en plus fréquenté par des européens de «l'Ouest» à la recherche d'une solution «compassionnelle» que les antibiotiques ne peuvent plus leur donner (15).

A l'heure où on démontre qu'il existe actuellement plus de morts par antibiorésistance que par tuberculose, malaria et sida réunis (16),

il est temps de faire le point sur cette thérapeutique relativement méconnue par le corps médical. En effet, malheureusement, force est de constater que l'arsenal d'antibiotiques dont nous disposons n'a pas beaucoup progressé au cours de la dernière décennie. C'est au début des années 2000 que nous assistons à un regain d'intérêt pour les phages afin de combattre les pathogènes dans le secteur agro-alimentaire mais aussi et surtout pour lutter contre les «superbactéries» menaçant sérieusement la santé humaine de par leur résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques (6,14).

PHAGOTHÉRAPIE ET INFECTIONS BACTÉRIENNES

Le recours à la phagothérapie en pratique clinique humaine fait l'objet de très nombreuses publications. Il s'agit majoritairement d'études de cas rapportant de multiples indications (**Tableau I**) (4, 14, 17-20). Les échecs cliniques sont cependant peu publiés, ce qui constitue un biais non négligeable (4).

Les phages peuvent être administrés par différentes voies, le plus souvent sous la forme d'une association de plusieurs types de phages actifs sur la bactérie cible. Cette association est appelée «cocktail de phages». Les phages peuvent également être administrés en association avec des antibiotiques (c'est le cas de la plupart des essais cliniques cités en exemple) afin d'obtenir un effet synergique. Dans certains cas, les phages ont le pouvoir de rétablir l'efficacité des antibiotiques, par exemple en bloquant la pompe à efflux responsable de la résistance bactérienne (4). Dès lors, cette co-administration rend l'impact absolu de la phagothérapie en tant que telle peu clair.

Il faut attendre l'étude Phagoburn (2015-2018), subventionnée par la Commission Européenne, pour voir se dérouler le premier essai randomisé contrôlé et multicentrique sur la phagothérapie (21). Son objectif était de tester la phagothérapie chez des patients brûlés avec des plaies infectées par le *Pseudomonas aeruginosa* et d'en évaluer la tolérance et l'efficacité, en la comparant à un traitement standard basé sur la sulfadiazine d'argent (12,22). Ce projet, auquel le CHU de Liège a participé, marquera une étape importante vers la reconnaissance de cette thérapie et vers un processus d'homologation de produits à base de phages en tant qu'agents anti-infectieux, puisque les phages utilisés ont été produits selon les normes GMP (Good Manufacturing Practices). Le critère principal d'efficacité étudié était la vitesse de clairance de la charge bactérienne au sein de la plaie : cette clairance s'est avérée être finale-

Tableau I. Exemples d'indications et de voies d'administration telles que rapportées dans diverses études de cas (liste non exhaustive)

| Type d'infection traitée par phagothérapie | Voie d'administration des phages | Type de bactérie ciblée | Références bibliographiques |
|--------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| Ostéomyélite | Topique (per-opératoire, pansement) et orale | PA | (4) |
| Prothèse articulaire (hanche) | Intra-articulaire | SA (MSSA) | (4) |
| Prothèse articulaire (genou) | Intra-articulaire et intraveineuse | SA (MSSA) | (17) |
| Prothèse articulaire (genou) | Intra-articulaire | SA | (18) |
| Prothèse articulaire (genou) | Intraveineuse | KP | (4) |
| Bronchopneumonie sur mucoviscidose | Intraveineuse | PA MDR | (4) |
| Bronchopneumonie sur immunodépression | Inhalée et orale | KP | (4) |
| Bronchopneumonie | Inhalée et intraveineuse | PA MDR versus KP | (19) |
| Endocardite (bactériémie) | Intraveineuse | SA | (4) |
| Bactériémie | Intraveineuse | PA uniquement sensible à la colistine | (20) |
| Pancréatite nécrosante chez un diabétique | Topique (drainage) et intraveineuse | AB MDR | (4) |
| Pseudokyste pancréatique | Topique et intraveineuse | AB MDR | (19) |
| Greffon aortique infecté | Topique (per-opératoire) | PA MDR | (4) |
| Pied diabétique (ulcère) | Topique | SA | (14) |
| Prostatite chronique | Intra-rectale | EF | (4) |
| Dysenterie | Orale | SD | (14) |

AB : *Acinetobacter baumannii*, EF : *Enterococcus faecalis*, KP : *Klebsiella pneumoniae*, MDR : Multidrug Resistance, MSSA : *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline, PA : *Pseudomonas aeruginosa*, SD : *Shigella dysenteriae*, SA : *Staphylococcus aureus*.

ment plus lente au sein du groupe expérimental comparativement au groupe témoin. Cette observation pourrait être expliquée notamment par une stabilité du mélange de phages, exposant les patients à une concentration phagique plus faible qu'anticipée, alors que les bactéries isolées se sont avérées résistantes à de faibles doses de phages.

Par contre, de manière encourageante et déterminante, l'excellente tolérance de la phagothérapie a pu être confirmée.

Il sera donc justifié de mener de nouvelles études cliniques en tenant compte de ces constats.

LES INCONNUES DE LA PHAGOTHÉRAPIE

Il reste encore de nombreuses zones d'incertitude concernant la tolérance à long terme et les résistances aux phages.

La phagothérapie, comparativement à l'antibiothérapie, est beaucoup plus sélective puisqu'elle cible parfaitement son action sur la bactérie pathogène sans détruire les autres.

Durant la phase lytique, la paroi des bactéries se rompt sous l'action des phages, libérant des endotoxines responsables parfois d'effets indésirables. Ce phénomène peut également être rencontré avec certains traitements antibiotiques avec comme exemple la réaction de Jarisch-Herxheimer qui est parfois observée aux premiers stades du traitement de la syphilis (1). Les effets secondaires décrits après l'administration de phages, bien que rares, sont peu spécifiques (4). Nous sommes loin d'avoir tout compris, le relargage d'endotoxines ainsi que les interactions avec le microbiote bactérien sont susceptibles de faire émerger des complications inattendues.

Les bactéries et les phages se côtoient depuis toujours et on comprend, dès lors, que le « catalogue » des stratégies pour déjouer les mécanismes de résistances de l'adversaire a eu le temps de s'étoffer. Les bactéries peuvent se protéger d'une infection virale en empêchant, par exemple, l'entrée du virus au niveau de sa paroi ou encore en désactivant le matériel génétique viral présent dans la cellule grâce à des

ciseaux moléculaires qui coupent l'ADN. Lors de ces affrontements, le phage peut s'adapter et la bactérie peut muter. Cette mutation peut l'amener à devenir moins agressive ou encore lui rendre sa sensibilité à l'antibiotique (1,4,5).

LA PHAGOTHÉRAPIE EN BELGIQUE

A l'heure actuelle, la phagothérapie est autorisée en Belgique de façon compassionnelle lorsqu'aucune autre alternative n'est possible. Le seul laboratoire qui peut en fournir est le laboratoire de Technologie Cellulaire et Moléculaire de l'hôpital militaire Reine Astrid de Neder-Over-Hembeek qui réalise des préparations magistrales de phages.

Les phages sont très spécifiques et n'infectent généralement qu'une seule espèce bactérienne ou encore quelques souches au sein d'une espèce. Il importe donc d'avoir un diagnostic étiologique précis pour adapter au mieux cette préparation de phages (5).

La phagothérapie est ainsi ciblée, et elle ne se conçoit pas actuellement comme une thérapeutique empirique à large spectre.

L'AVENIR

Des critères évidents conditionnent le développement futur de la phagothérapie. Il faut des phages qui lysent efficacement la bactérie cible, qui possèdent une gamme de souches la plus large possible au sein d'une espèce pathogène, qui se montrent stables dans les conditions de stockage et sur les sites d'infection et qui soient capables aussi de déjouer les mécanismes de résistance des bactéries. Au vu de tout ceci, le répertoire actuel des phages naturels dits «sauvages» et adaptés à la thérapie en termes d'efficacité et sécurité d'emploi dans la pratique médicale peut apparaître limité (1).

Une solution pourrait être le génie génétique qui permet de construire des phages thérapeutiques sur mesure. Si des phages lytiques d'une spécificité d'hôte désirée sont indisponibles, on pourrait les créer à partir de phages tempérés appropriés en veillant au retrait des modules génomiques essentiels à la lysogenèse, mais aussi de ceux codant pour des déterminants de la virulence bactérienne.

L'ingénierie permet, par exemple, d'obtenir des phages capables de pénétrer le biofilm grâce à l'expression d'une enzyme spécifique pour ainsi réduire la population bactérienne locale avec plus d'efficacité que peut le faire le phage dit «sauvage». Les progrès futurs en génétique pourraient aller jusqu'à améliorer le potentiel lytique, élargir la gamme d'hôtes, cibler

les pathogènes émergents et contourner les mécanismes de résistances des bactéries (1).

La possibilité d'isoler les lysines de la paroi des phages constitue également une avancée majeure et prometteuse pour l'avenir. Elles sont capables, à elles seules, de lyser la bactérie. Ces protéines seraient plus faciles à purifier, à produire, à conserver et à administrer que les phages eux-mêmes et elles bénéficieraient d'un spectre d'action plus large. Elles sont peu immunogènes et, donc, moins susceptibles d'être neutralisées par des anticorps. Les lysines pourraient même traverser les membranes des cellules pour éliminer des infections intracellulaires. Le projet futur serait de les utiliser seules comme agents antimicrobiens (14,23).

Au-delà des implications thérapeutiques, une des solutions d'avenir, en termes de prévention et contrôle des infections au sein des établissements de soins, serait d'utiliser des préparations à base de phages pour désinfecter les surfaces et lutter ainsi contre les infections nosocomiales à germes multi-résistants (24).

Ces promesses ne pourront se concrétiser dans la pratique clinique courante qu'en positionnant clairement et durablement la phagothérapie dans un cadre juridique européen. Le cadre réglementaire existant pour les médicaments à usage humain ne semble pas adapté à la phagothérapie, notamment en termes de sécurité juridique. En effet, les phages, en tant qu'entités dynamiques, évolutives et spécifiques, imposent des contraintes par rapport au respect des normes de production imposées par la réglementation. Une des grandes difficultés pour le producteur, après avoir isolé, caractérisé et purifié le phage, est d'en assurer la stabilité. Il est ainsi possible que la phagothérapie doive bénéficier d'une directive dédiée et spécifique, comme cela a été le cas pour la thérapie cellulaire et génétique avancée ou encore les médicaments biologiques (ex. vaccins). Une catégorie spéciale de «thérapie virale» au sein des Médicaments de Thérapie Innovante (MTI) pourrait être créée pour les phages. L'objectif est de garantir la qualité et la sécurité ainsi que l'harmonisation du processus au niveau international (25).

CONCLUSION

Les bactériophages existent depuis des milliards d'années et leur première utilisation en thérapeutique remonte à 1921. Peu de temps après, en 1928, Fleming découvre la pénicilline qui sera produite à l'échelle industrielle après

1940. Elle permettra ainsi de sauver de nombreuses vies durant la seconde guerre mondiale. Le choix qui est porté à cette époque sur ce nouveau médicament fera tomber la phagothérapie dans l'oubli.

Il faudra attendre l'apparition des superbactéries pour que la communauté scientifique s'inquiète face au développement d'antibiorésistances multiples.

Aujourd'hui, plus que jamais, c'est cette impasse thérapeutique qui nous amène à reconsidérer les bactériophages, si longtemps ignorés, comme une solution potentielle et remplie d'espoirs.

Les nombreux arguments qui précèdent devraient nous inciter à poursuivre les études cliniques afin de mieux circonscrire ce que les phages peuvent apporter en termes de gain d'efficacité et d'innocuité, mais aussi permettre de préciser les protocoles de traitement appropriés (4,6). L'avenir devrait permettre à la communauté scientifique et médicale de vérifier si les espoirs placés dans la phagothérapie sont réels.

BIBLIOGRAPHIE

- Łobocka M, Dąbrowska K, Górski A. Engineered bacteriophage therapeutics: rationale, challenges and future. *Bio-Drugs* 2021;**35**:255-280.
- Lawrence D, Baldrige MT, Handley SA. Phages and human health: more than idle hitchhikers. *Viruses* 2019;**11**:E587.
- Les bactériophages, de leur découverte à leurs utilisations. Planet-Vie, <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/virologie/les-bacteriophages-de-leur-decouverte-a-leurs-utilisations> (dernier accès 21 mars 2022).
- Luong T, Salabarria A-C, Roach DR. Phage therapy in the resistance era: where do we stand and where are we going? *Clin Ther* 2020;**42**:1659-80.
- Kasman LM, Porter LD. Bacteriophages. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493185/2021> (dernier accès 9 décembre 2021).
- Brives C, Pourraz J. Phage therapy as a potential solution in the fight against AMR: obstacles and possible futures. *Palgrave Commun* 2020;**6**:1-11.
- Łusiak-Szelachowska M, Weber-Dąbrowska B, Żaczek M, et al. The Presence of bacteriophages in the human body: good, bad or neutral? *Microorganisms* 2020;**8**:E2012.
- Sinha A, Maurice CF. Bacteriophages: Uncharacterized and dynamic regulators of the immune system. *Mediators Inflamm* 2019;**2019**:3730519.
- Miller-Ensminger T, Garretto A, Brenner J, et al. Bacteriophages of the urinary microbiome. *J Bacteriol* 2018;**200**:e00738-17.
- Garretto A, Miller-Ensminger T, Wolfe AJ, et al. Bacteriophages of the lower urinary tract. *Nat Rev Urol* 2019;**16**:422-32.
- Ansaldi M, Boulanger P, Brives C, et al. Les applications antibactériennes des bactériophages. *Virol Montrouge Fr* 2020;**24**:23-36.
- Jault P, Leclerc T, Jennes S, et al. Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by *Pseudomonas aeruginosa* (PhagoBurn): a randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis* 2019;**19**:35-45.
- Dublanchet A, Fruciano E. Brève histoire de la phagothérapie. *Med Mal Infect* 2008;**38**:415-420.
- Lin DM, Koskella B, Lin HC. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2017;**8**:162-73.
- Résistance aux antibiotiques. Athena, <http://athena-magazine.be/magazine/le-magazine-n354/resistance-aux-antibiotiques/> (dernier accès 18 février 2022).
- The Lancet. Antimicrobial resistance: time to repurpose the Global Fund. *The Lancet* 2022;**399**:335.
- Ramirez-Sanchez C, Gonzales F, Buckley M, et al. Successful treatment of staphylococcus aureus prosthetic joint infection with bacteriophage therapy. *Viruses* 2021;**13**:1182.
- Ferry T, Kolenda C, Batailler C, et al. Phage therapy as adjuvant to conservative surgery and antibiotics to salvage patients with relapsing *S. aureus* prosthetic knee infection. *Front Med* 2020;**7**:570572.
- Valente L, Prazak J, Que Y-A, et al. Progress and pitfalls of bacteriophage therapy in critical care: a concise definitive review. *Crit Care Explor* 2021;**3**:e0351.
- Jennes S, Merabishvili M, Soentjens P, et al. Use of bacteriophages in the treatment of colistin-only-sensitive *Pseudomonas aeruginosa* septicaemia in a patient with acute kidney injury-a case report. *Crit Care Lond Engl* 2017;**21**:129.
- Servick K. Drug development. Beleaguerd phage therapy trial presses on. *Science* 2016;**352**:1506.
- Sansom C. Phage therapy for severe infections tested in the first multicentre trial. *Lancet Infect Dis* 2015;**15**:1384-85.
- Ferry T, Kolenda C, Briot T, et al. Past and future of phage therapy and phage-derived proteins in patients with bone and joint infection. *Viruses* 2021;**13**:2414.
- Brusina E, Drozdova O, Zueva L, et al. Complex application of bacteriophages as a method of healthcare-associated infections control. *Antimicrob Resist Infect Control* 2015;**4**:46.
- Verbeke G, Pirnay J-P, Lavigne R, et al. Call for a dedicated European legal framework for bacteriophage therapy. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2014;**62**:117-29.

Les demandes de tirés à part doivent être adressées au Dr Boniver M, Service d'Hygiène hospitalière, CHU Liège, Belgique.
Email : michel.boniver@chuliege.be