

# EFFICACITE D'UNE SOLUTION PRE-CLINIQUE DE PHAGES EN COMPARAISON ET EN ASSOCIATION A LA CEFTAZIDIME DANS UN MODELE MURIN DE PNEUMOPATHIE A PSEUDOMONAS AERUGINOSA.

L. Khatchatourian<sup>1</sup>, J. Caillon<sup>1</sup>, C. Jacqueline<sup>1</sup>, A. Broquet<sup>1</sup>, V. Le Mabeque<sup>1</sup>, B. Gaborit<sup>1</sup>, G. Potel<sup>1</sup>, D. Boutoille<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Université de Nantes, Faculté de Médecine, UPRES EA 3826, 1 rue Gaston Veil, Nantes F-44035, France

## INTRODUCTION

L'émergence croissante de bactéries multi-résistantes devient problématique, en particulier chez les patients atteints de mucoviscidose infectés par *Pseudomonas aeruginosa*.

Depuis quelques années, il existe un regain d'intérêt de la phagothérapie dans certaines infections complexes. Le progrès réalisés en biologie moléculaire ainsi que dans la caractérisation des phages permet de reconsidérer l'utilisation de phages lytiques comme thérapeutique antibactérienne. Certains travaux ont déjà démontré l'efficacité des phages dans le traitement d'infections pulmonaires à PA, *Klebsiella pneumoniae* et *Burkholderia cenocepacia* dans des modèles murins de pneumopathie aigue. Cependant, aucun travail n'a encore comparé l'activité bactéricide des phages au traitement de référence, c.à.d. à l'antibiothérapie.

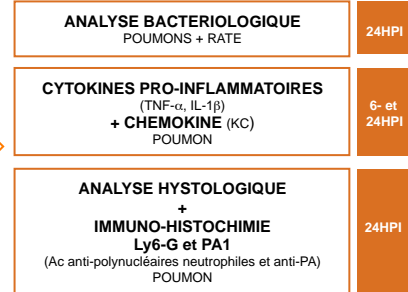
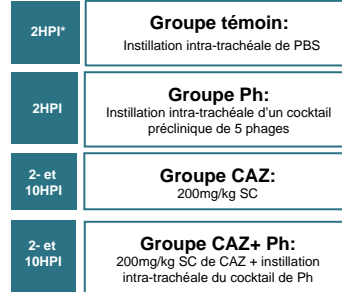
L'objectif de notre travail était d'évaluer l'efficacité et la tolérance d'un cocktail préclinique de 5 phages lytiques actifs contre PA (Pherecydes Pharma®) en comparaison et en association à la ceftazidime (CAZ) dans un modèle murin de pneumopathie à PA.

## METHODE



**Souches de PA :**  
**PAO1** (souche de référence)  
**MucN2** (souche clinique mucocïde)

Instillation intra-trachéale de l'inoculum bactérien par sonde de nutrition 24 G



## RESULTATS

\*HPI= heures post-infection

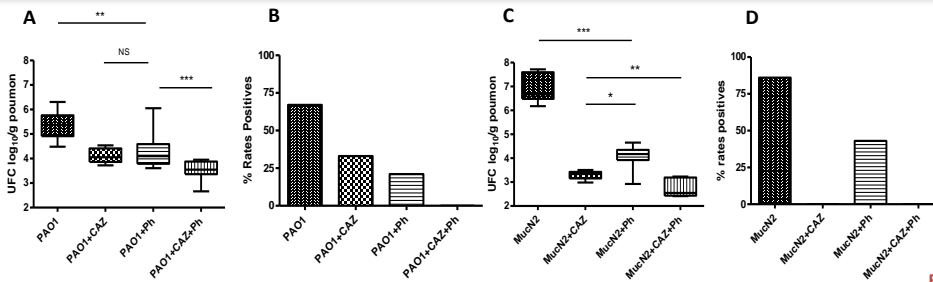


Fig.1

**Concentration Minimale Inhibitrice CAZ:**  
 PAO1: 1mg/L MucN2: 0,75mg/L  
**Multiplicity of Infection Ph/bactérie:**  
 PAO1 et MucN2: 100

Fig.1: Analyse bactériologique pulmonaire et splénique à 24h d'une infection pulmonaire par la souche PAO1 (A,B) ou MucN2 (C,D) après traitement par ceftazidime (CAZ) et/ou solution pré-clinique de 5 phages (Ph). La charge bactérienne pulmonaire est exprimée en UFClog<sub>10</sub>/g poumon (A,C), les cultures spléniques en pourcentage de cultures positives. NS= non significatif, \*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001.

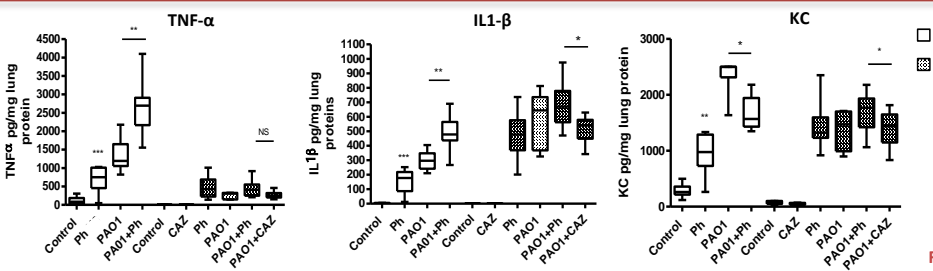


Fig.2

Fig.2: Production de cytokines pro-inflammatoires TNF- $\alpha$  et IL-1 $\beta$  et de chemokine KC dans les poumons 6- et 24hpi. Les souris étaient infectées par la souche PAO1 et étaient traitées soit par la solution de phage (PAO1+Ph) soit par ceftazidime (PAO1+CAZ). Les groupes contrôle, Ph et CAZ n'étaient pas infectés et recevaient respectivement du PBS en intra-trachéal, des Ph en intra-trachéal ou la CAZ en sous-cutané. NS= non significatif, \*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001.

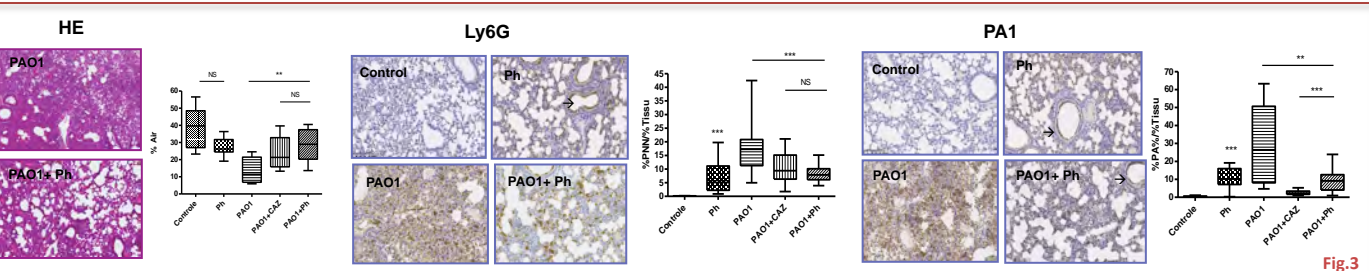


Fig.3

Fig.3: Histologie pulmonaire avec coloration standard (Hématoxyline Eosine) (HE) et immuno-histochimie avec anticorps anti-neutrophiles (Ly6G) et anti-PA (PA1) chez des souris infectées par PAO1. Le pourcentage d'air pulmonaire total et le pourcentage de tissu pulmonaire Ly6G/PA1 positif étaient déterminés à partir de l'algorithme SIOX (simple interactive object extraction) plug-in de Fiji software. NS= non significatif, \*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001. →: chez les souris non infectées recevant le cocktail de Ph, on observait un important marquage Ly6G et PA1 péri-bronchique non observé chez les souris infectées par PAO1.

## DISCUSSION

- Concernant la souche PAO1, la solution préclinique de phages démontrait une décroissance significative de la charge bactérienne pulmonaire et systémique avec une efficacité similaire à la CAZ.
- Pour MucN2, le cocktail permettait également une décroissance significative de la charge bactérienne mais moins importante que la CAZ sous réserve d'une CMI à la CAZ plus basse pour cette souche.
- L'association Ph+CAZ permettait de majorer l'action bactéricide suggérant un intérêt quant à l'association de ces 2 traitements dans des infections complexes.
- La principale limite de ce travail était l'utilisation d'un modèle aigu de pneumopathie ne reflétant pas les infections pulmonaires induites par PA chez les patients atteints de mucoviscidose.
- Concernant la tolérance de cette solution, on pouvait observer une élévation significative de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  et KC dans les poumons de souris recevant la solution de phages.
- On retrouvait également un important marquage péri-bronchique anti-neutrophiles et anti-PA chez les souris traitées par la solution.
- Ces résultats pourraient être expliqués par la persistance de PAMP (pathogen associated molecular pattern) dans la solution de phages.
- Ces résultats devront être recontrôlés avec une solution de phage mieux purifiée.

## CONCLUSION:

L'activité antibactérienne cette solution de phages anti-PA est similaire à celle de la ceftazidime dans ce modèle murin de pneumopathie aigu induit par PA. L'association de ces 2 thérapies permet de majorer l'efficacité bactéricide. Ces résultats devront être confirmés sur un modèle murin de pneumopathie chronique.