

Directeur de thèse : Jean Damien Ricard

Phagothérapie et pneumonies acquises sous ventilation mécanique à *Escherichia coli* : une approche thérapeutique possible ? Aspects fondamentaux et éléments de faisabilité

Résumé

D'année en année, la multi-résistance bactérienne aux antibiotiques gagne du terrain. Véritable problème de santé publique, elle est particulièrement prégnante au cours des infections nosocomiales. Parmi les alternatives aux antibiotiques, l'utilisation thérapeutique des bactériophages apparaît comme crédible et est actuellement en pleine réévaluation dans les pays occidentaux.

Ce travail se propose d'étudier la faisabilité d'une approche thérapeutique par les bactériophages pour la prise en charge d'une infection nosocomiale grave et fréquente dans le contexte de la réanimation : la pneumonie acquise sous ventilation mécanique. Nous avons centré notre attention sur un des pathogènes couramment rencontré dans ce type d'infection respiratoire et particulièrement investi par le problème de l'antibiorésistance : *Escherichia coli*.

A partir d'une large collection multicentrique de souches isolées des voies aériennes de patients sous ventilation mécanique, nous avons ainsi montré qu'il n'existait pas d'obstacle pratique à l'isolement d'une collection de bactériophages capable de cibler un large éventail de souches. En étudiant la meilleure combinaison de spectre d'hôte, l'utilisation de 5 bactériophages permettait une couverture de 70 %. Nous avons ensuite démontré expérimentalement l'activité thérapeutique de deux bactériophages dans un modèle murin de pneumonie létale, permettant ainsi une survie de 100 %. Grâce à l'outil de bioluminescence nous avons pu observer que la cinétique de décroissance de l'inoculum bactérien provoqué par un bactériophage était identique à celle obtenue avec un antibiotique de référence. Enfin, nous nous sommes focalisés sur LM33-P1, un bactériophage hautement spécialisé car n'infectant que les souches O25b, un sérotype particulièrement problématique en termes d'antibiorésistance et de pathogénicité. LM33-P1, dont la spécificité est apparue dépendante d'une interaction avec le LPS, s'est montré capable de lyser 74 % des souches O25b testées et s'est avéré également efficace *in vivo*.

Ces travaux apportent de nouvelles connaissances permettant d'envisager de façon crédible le développement de la phagothérapie pour le traitement des infections respiratoires à *E. coli* dans le cadre de la ventilation mécanique, mais pas exclusivement. Compte tenu de la physiopathologie de ce type d'infection, une prise en charge prophylactique apparaît également prometteuse.

Year after year, multi-drug resistant bacteria expand over the world. As a real public health concern, bacterial resistance is particularly significant within healthcare-associated infections. Among alternative therapy to antibiotics, phage therapy appears as one of the most promising approach and is now reappraised in western countries.

This work is dedicated to a feasibility approach in order to evaluate phage therapy potential in the most frequent and severe complication in the intensive care unit context: the ventilator-associated pneumonia. We focused on a commonly involved bacterium which is also highly affected by antibiotic resistance: *Escherichia coli*.

Starting from a large multicenter collection of strains isolated from airways of mechanically ventilated patients, we showed that there was no practical impediment to get a bacteriophage collection able to target efficiently a large range of strains. By selecting the best host range combination, we observed that 5 bacteriophages were able to cover 70% of the collection. We then experimentally demonstrated that two bacteriophages were able to rescue deadly infected mice in a murine pneumonia

model. By using the bioluminescence imaging tool, we also observed that the kinetic of bacterial load decrease obtained with the bacteriophage treatment was as fast as the one obtained with a reference antibiotic. Finally, we concentrated on a highly specialized bacteriophage (LM33-P1) that turned out to be only able to infect O25b strains, a particularly worrisome serotype in terms of antibiotic resistance and pathogenicity. LM33-P1 was able to lyse 74% of O25b strains and its specificity was shown to be LPS-dependent. We also demonstrated that this bacteriophage was biologically active *in vivo*.

These results provide new knowledge allowing the consideration of phage therapy development in the field of respiratory infections due to *E. coli*, in the context of mechanical ventilation but not only. Given the pathophysiology of such infection, a preventive approach seems promising.