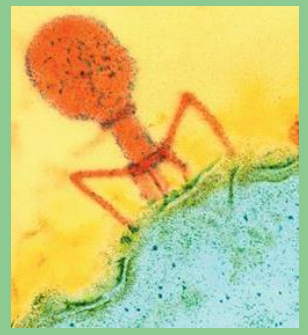
Phagothérapie de la prescription à l'application clinique : Quand un virus de bactérie devient un médicament

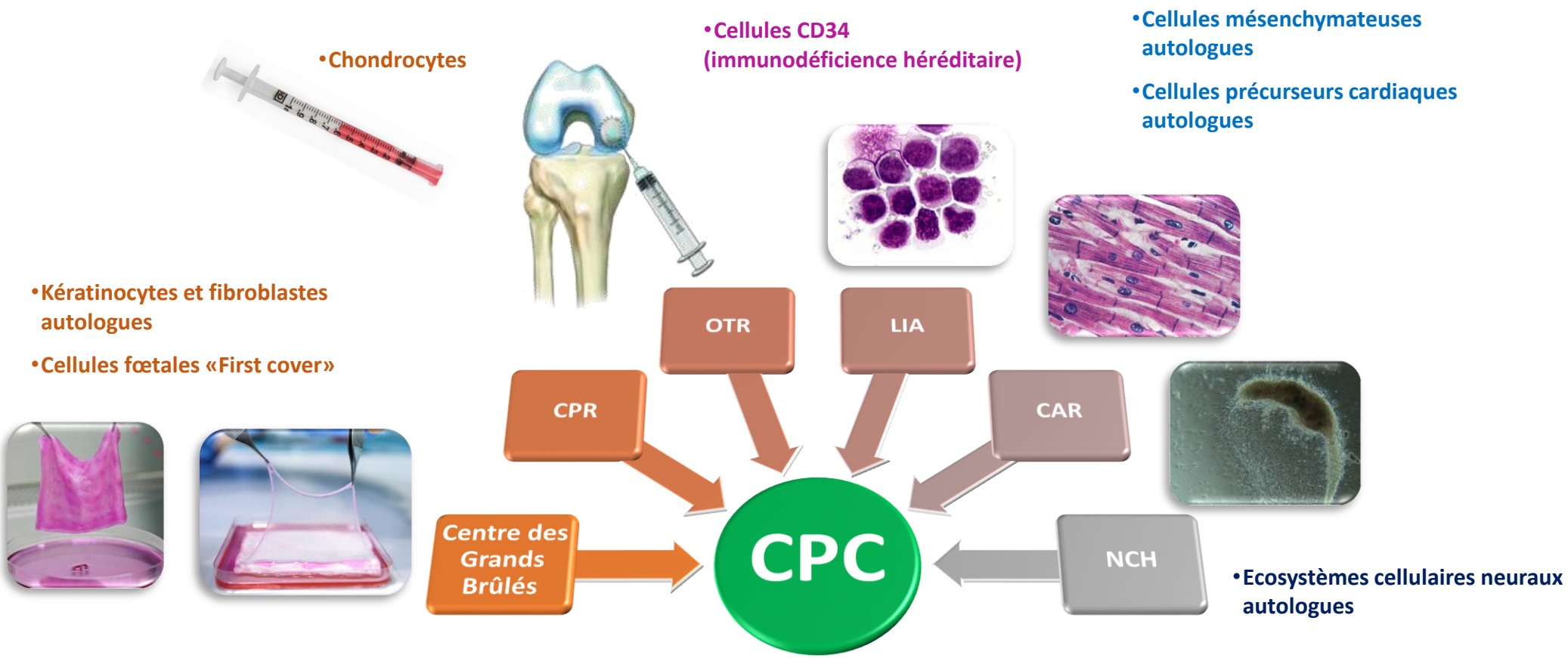


Jean-François Brunet,

Responsable unité de production cellulaire

Service Pharmacie

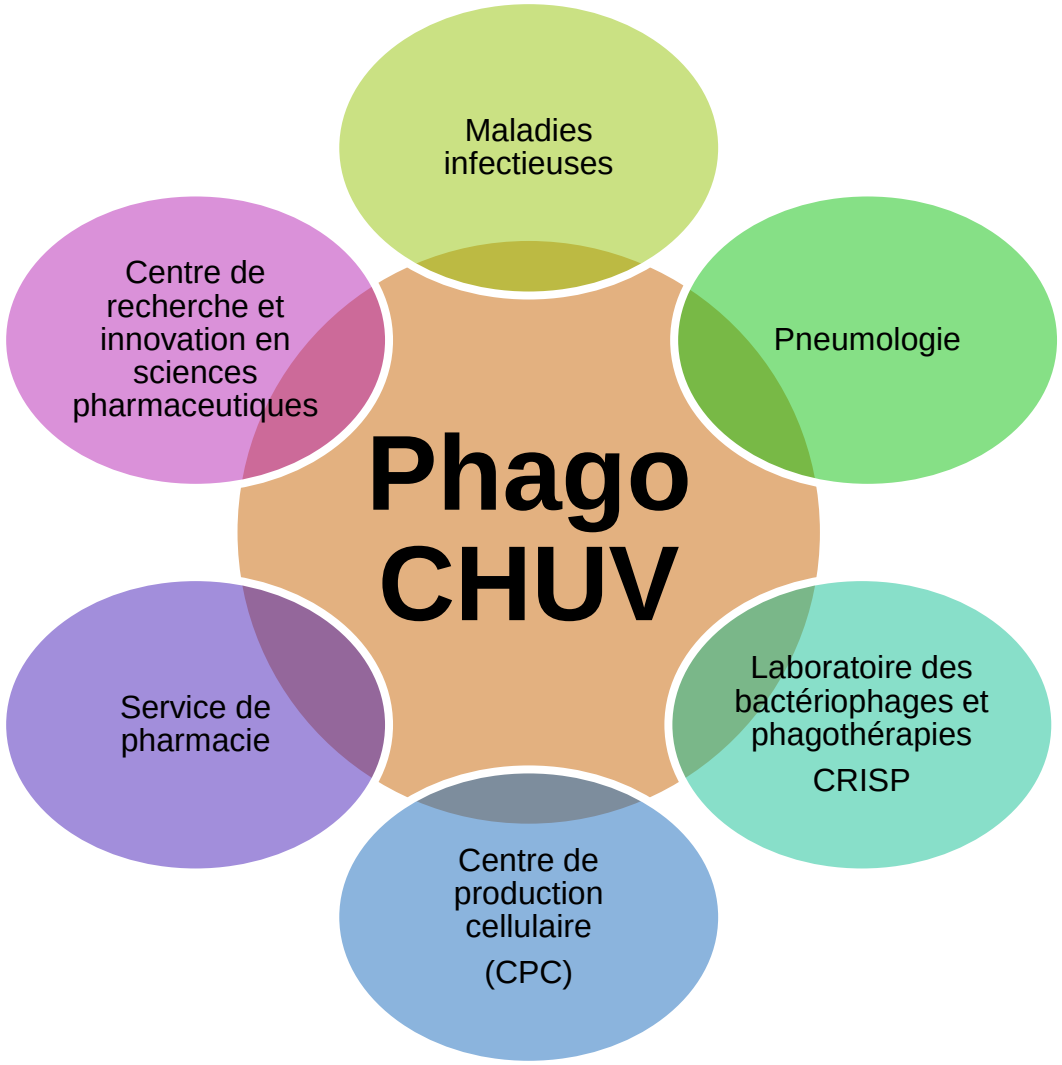
Le CPC: centre de production cellulaire, unité du service de pharmacie.



Production aseptique : absence de bactérie souhaitée ☺.

PhagoCHUV - Organisation

- Programme multidisciplinaire
- 2019-2023 plan stratégique CHUV



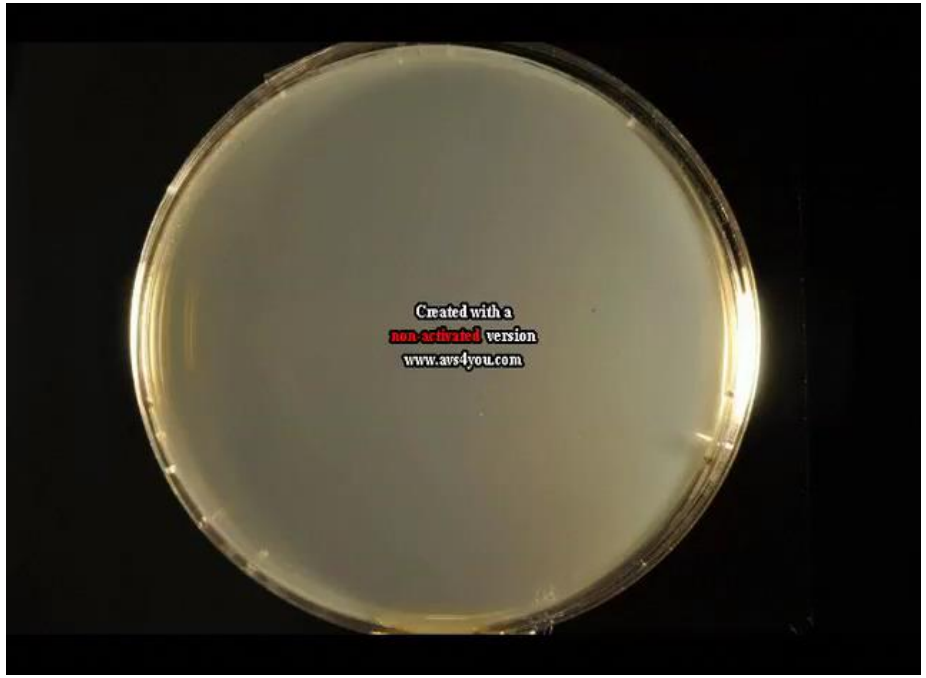
Une production utilisant des bactéries ☺.

Un peu d'histoire: Bactériophage et Phagothérapie

1917: La découverte

Félix D'Hérelle 1873 – 1949

Un globetrotter de la bactériologie

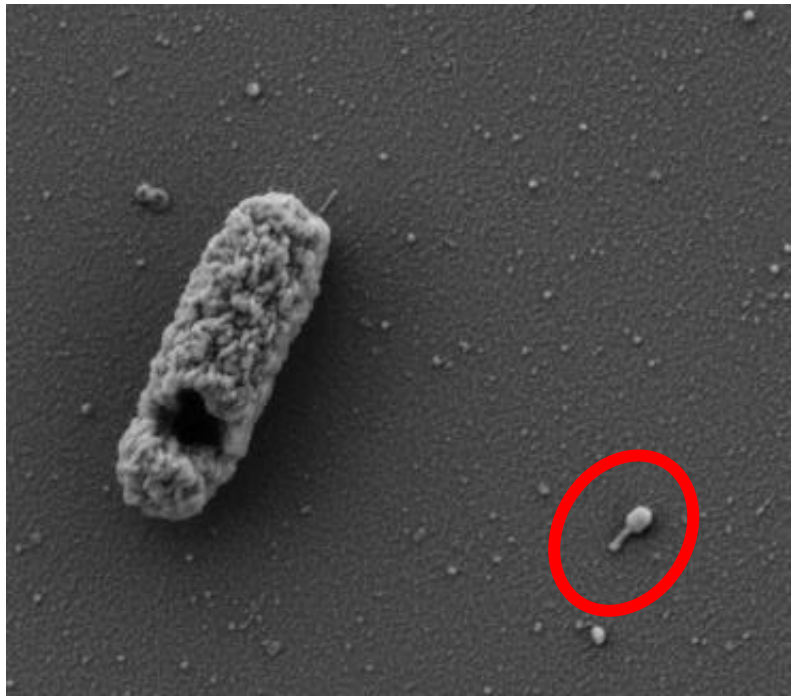


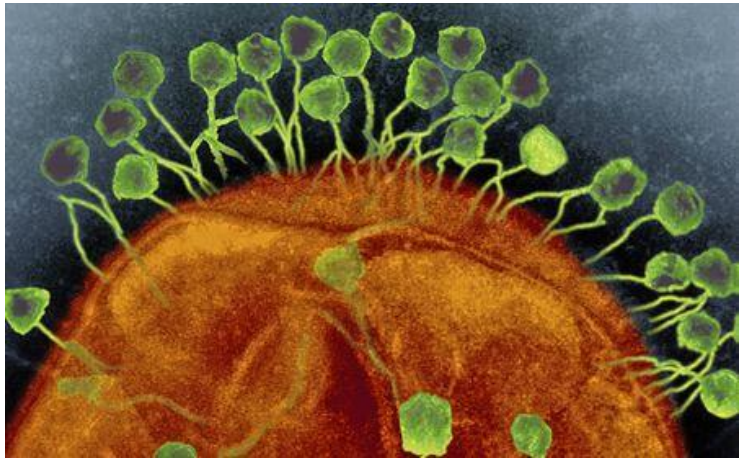
1901-1906	bactériologiste au Guatemala.
1907-1911	Bactériologiste au Mexique.
1911-1921	Entre à l'Institut Pasteur. Missions en Argentine, Algérie, Turquie, Tunisie et Mexique.
1917	Décrit un organisme vivant filtrable et transférable qui détruit les bactéries : le bactériophage.
1934-1936	Organise des recherches sur les bactériophages à Tiflis, Kiev et Kharkov, à l'invitation du gouvernement soviétique.
1936	Crée à Paris le Laboratoire de production de bactériophages pour des traitements thérapeutiques.

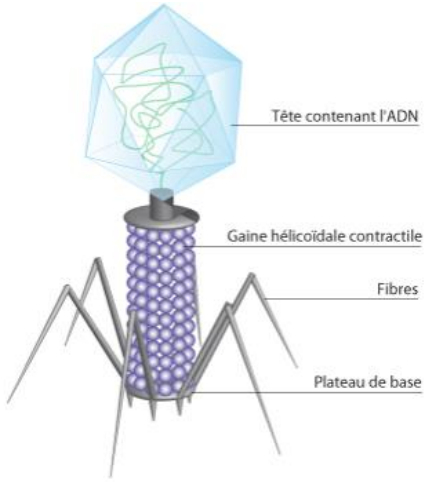
Les bactériophages

E.coli avec un trou béant dans la paroi

Diamètre 1 µm
Longueur 2.8 µm



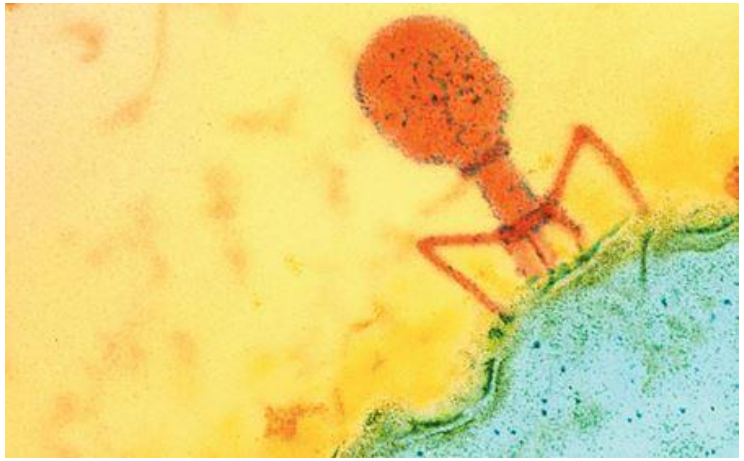




V.4.1. Représentation du bactériophage T4

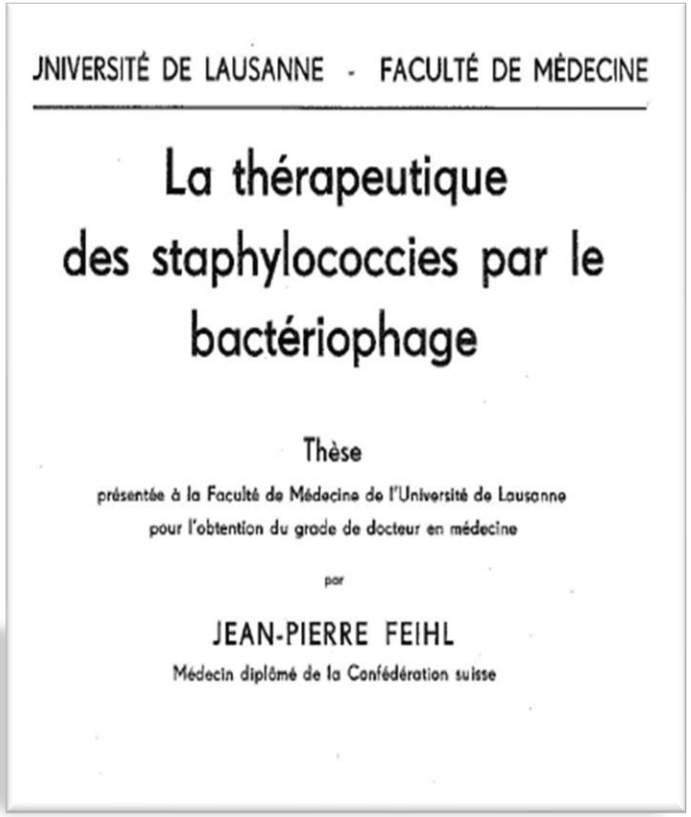
un phage (Myoviridae)
Diamètre 0.16 µm
Longueur 0.47 µm

Bacteriophages attaquant une bactérie



Phagothérapie?

1949: CHUV!



UNIVERSITÉ DE LAUSANNE - FACULTÉ DE MÉDECINE

La thérapeutique des staphylococcies par le bactériophage

Thèse

présentée à la Faculté de Médecine de l'Université de Lausanne pour l'obtention du grade de docteur en médecine

par

JEAN-PIERRE FEIHL

Médecin diplômé de la Confédération suisse

Depuis les années 60: le déclin puis la renaissance?

- au profit de l'antibiothérapie
- dernières préparations de phages dans le Vidal 1978
- 80-90, cas isolés en occident (compassionnel)
- **Toujours très utilisée en Géorgie, Pologne, Russie**
- **Bactérie multirésistante**

Cible

La maladie infectieuse bactérienne difficile à traiter

- Agent infectieux multirésistant
- Sensibilité du patient aux antibiotiques

- Maladie rare
- En évolution constante
- Une priorité pour OMS

Laboratoire des bactériophages et de phagothérapie CHUV-UNIL

Depuis 2012

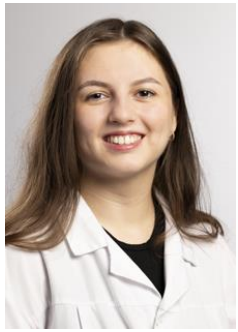
La persévérance de quelques microbiologistes

Création au CHUV-UNIL d'un laboratoire
Unité du CRISP - ISPSO

Grégory Resch

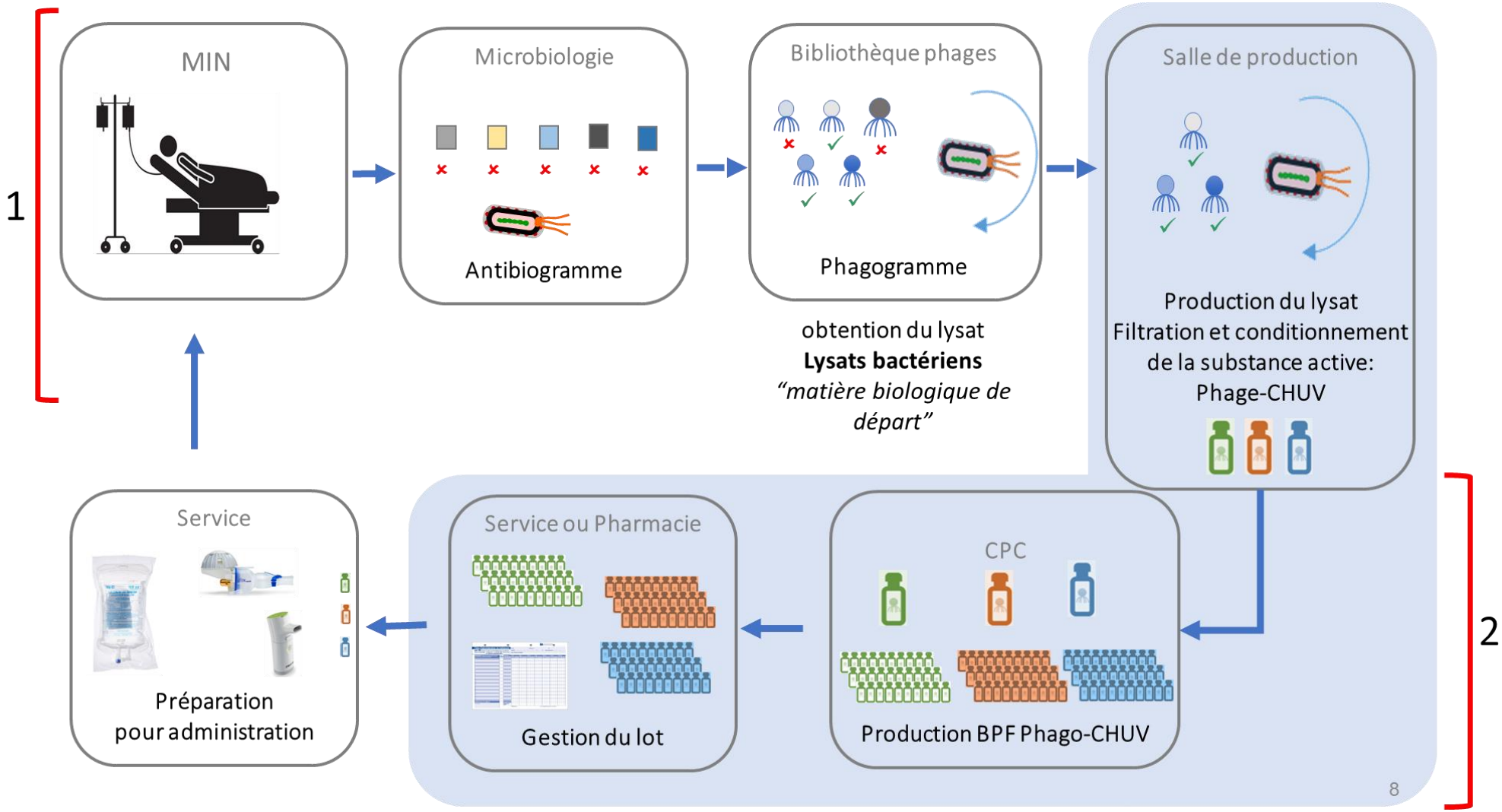
Et son équipe:

- Aurélie Marchet
- Nathalie Bonvin
- Sabrina Pereira Pipa
- Norah Alibrando

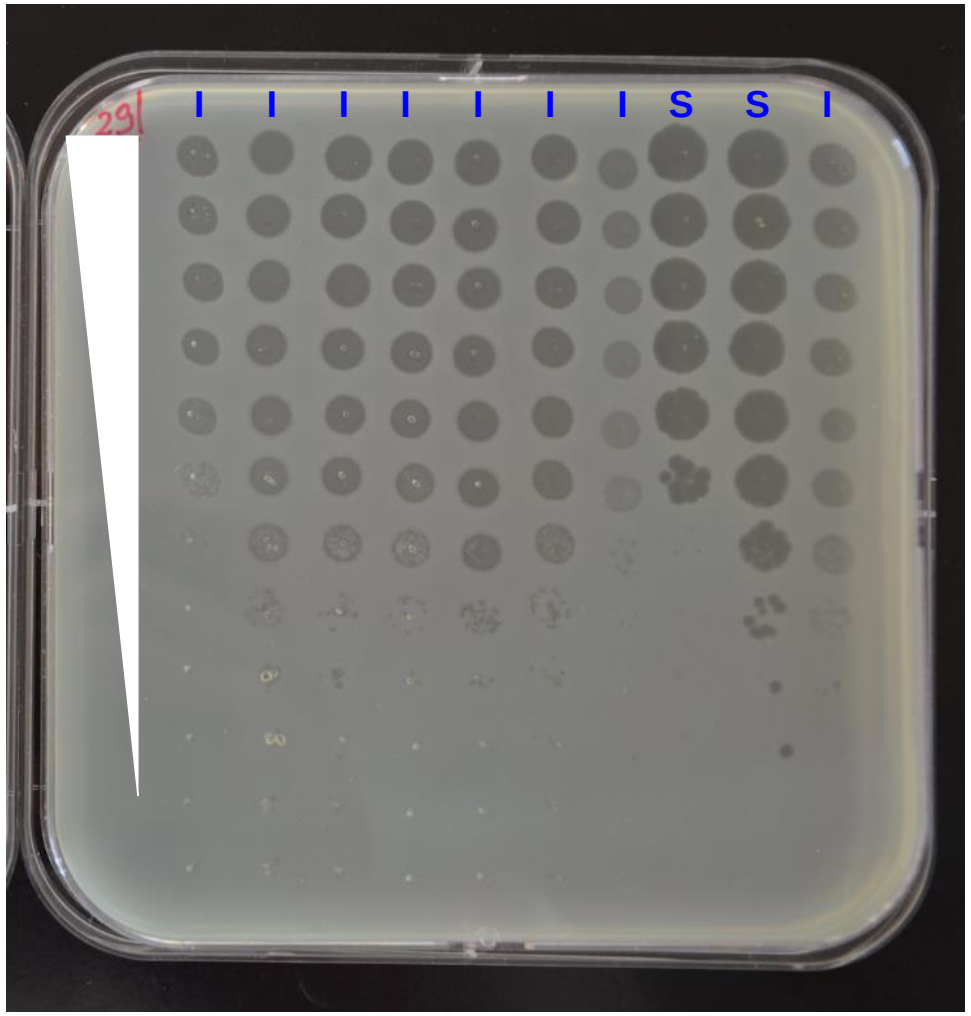


Une volonté, inscrite au plan stratégique du CHUV : La production de Phage-CHUV

Mise en place du flux pour phagothérapie CHUV-UNIL

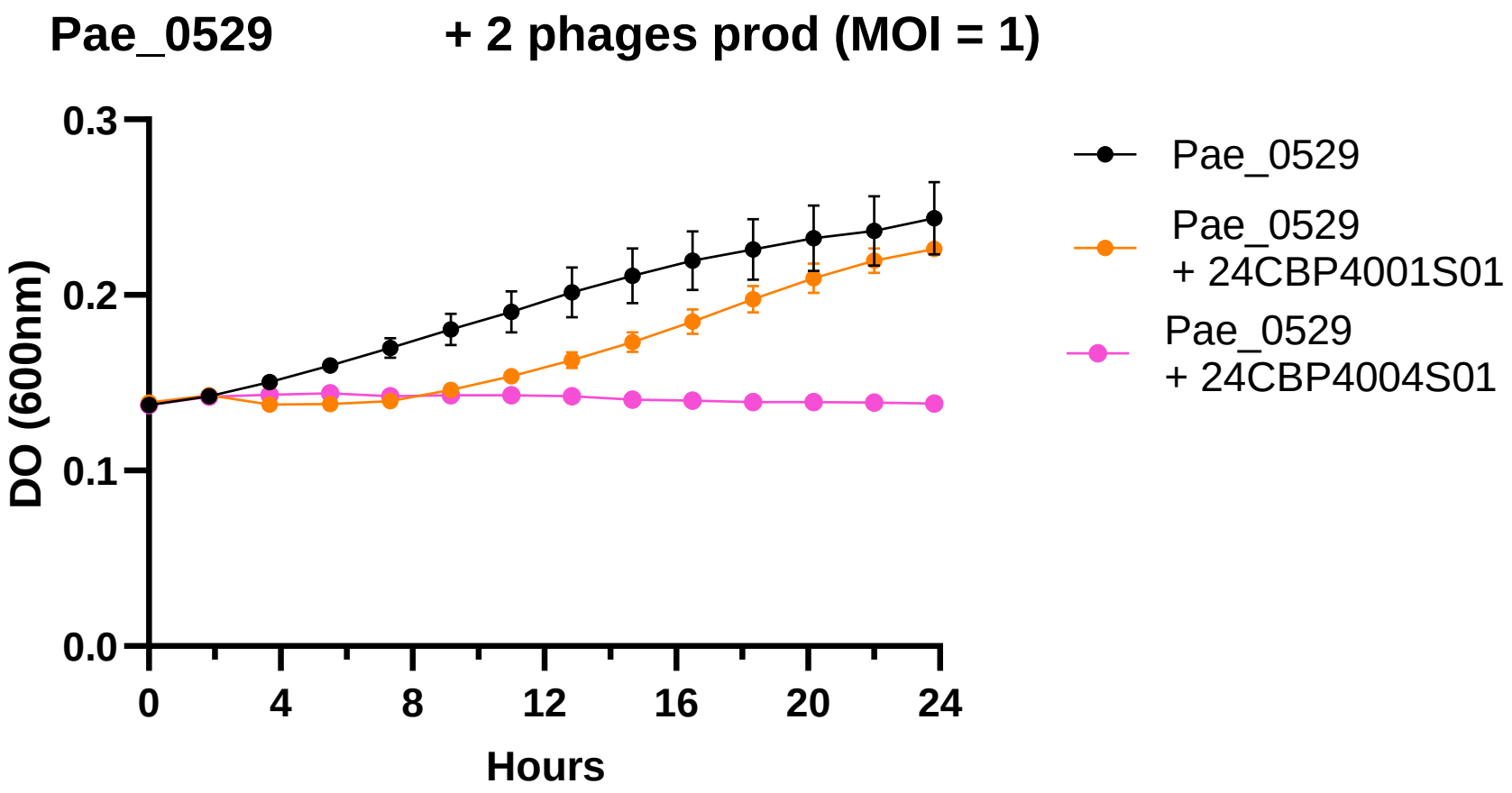


Phagogramme : efficacité du phage et titration

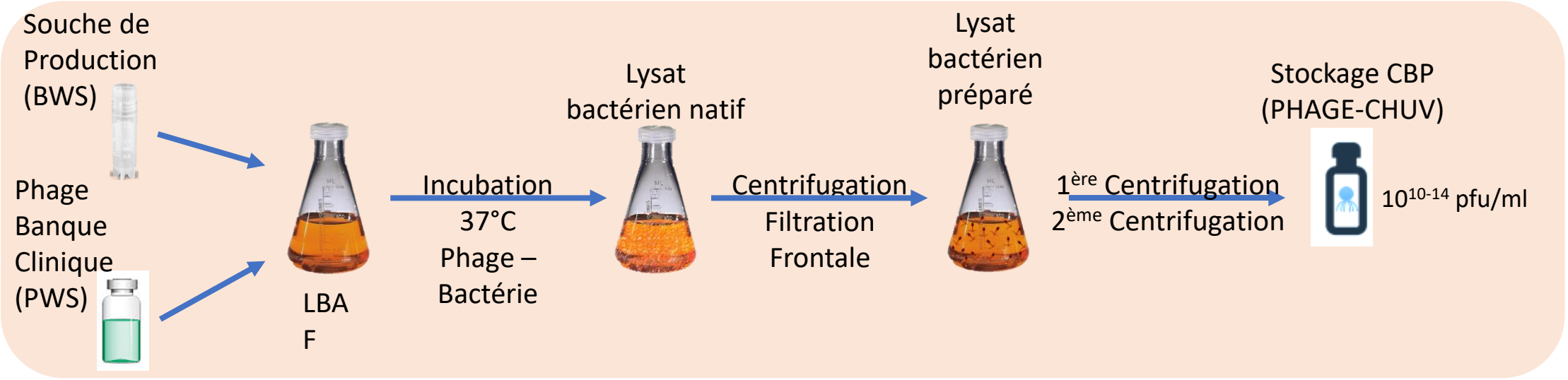


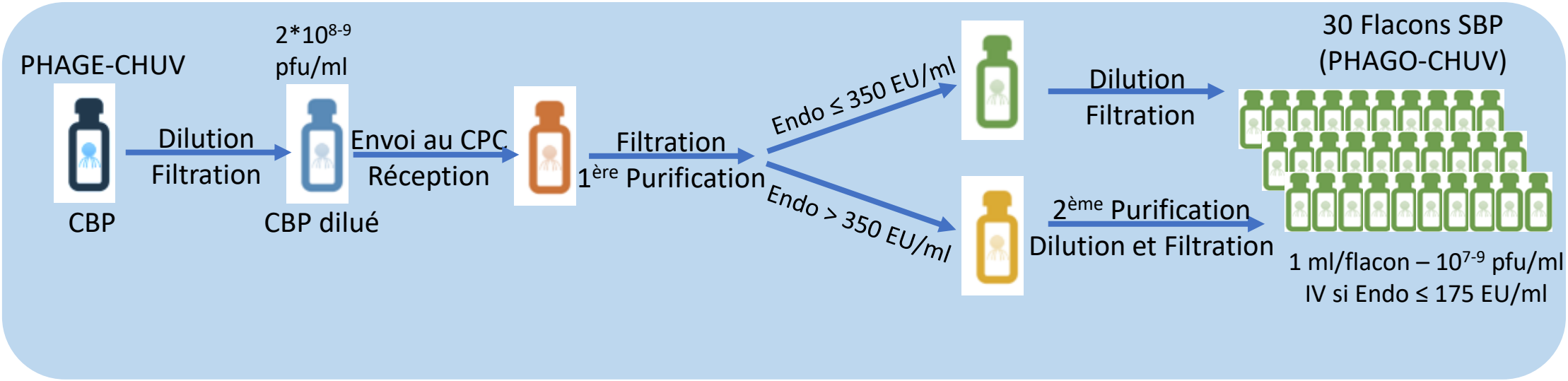
Bactéries	S	I	n
WS2_BAC_0102	1	2	**3**
WS2_BAC_0103	3	4	**7**
WS2_BAC_0104	4	6	**10**
WS2_BAC_0108	1	1	**2**
WS2_BAC_0109	7	0	**7**
WS2_BAC_0110	5	5	**10**
WS2_BAC_0112 (CO2)	4	3	**7**
WS2_BAC_0113 (CO2)	5	6	**11**
WS2_BAC_0116	1	0	**1**
WS2_BAC_0105	0	0	**0**

Test de turbidité : efficacité du phage au cours du temps

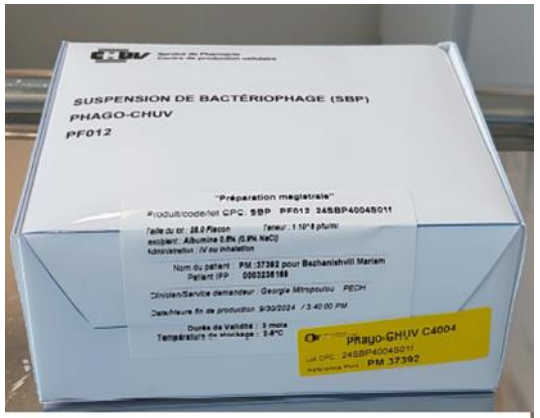


Flux de production général





Attributs du produit fini actuels



Test analytique	*Méthode*	*Spécification*	*Résultat*
Apparence	Visuel	Limpide	Limpide
Type de phage	Analyse de séquence	Lytique	Lytique
Risque de virulence	Analyse de séquence	Sans gène virulent	Sans gène de virulence
Test de turbidité	Comparaison de courbe DO 600nm	Similaire au phage source	Similaire
Titration (pfu/ml)	Comptage de plages de lyse	$5*10^6 – 5*10^9$ pfu/ml	1.94 * 10^8 pfu/ml
Stérilité	Croissance microbienne (Bactec)	Pas de croissance	Pas de croissance
Pureté	NGS (Next generation sequencing)	1 seul génome	2 génomes de phages probables (voir information complémentaire)
Similarité	NGS (Next generation sequencing)	Similarité au phage attendu >99.5%	100% similaire au phage attendu
Proportion résiduelle d'ADN bactérien	NGS (Next generation sequencing)	<1%	0.30%
Endotoxines	Cinétique chromogène LAL (Endosafe)	<175 EU/ml (si IV) *	108 EU/ml

01/2025:53100

5.31. MÉDICAMENTS UTILISÉS EN PHAGOTHÉRAPIE

Ce chapitre [Sans titre] est publié à titre d'information.

Il contient un ensemble d'exigences relatives aux substances actives et médicaments pour usage humain ou vétérinaire utilisés en phagothérapie, ainsi qu'à leur production et leur contrôle.

Les dispositions du chapitre n'excluent pas l'utilisation de méthodes alternatives de production et de contrôle acceptables par l'Autorité compétente.

2-2. BANQUES DE CELLULES BACTÉRIENNES

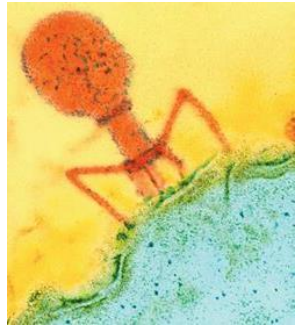
• Identification	séquençage
• Pureté microbienne	séquençage et gélose
• Viabilité	gélose
• Sensibilité aux phages	phagogramme
• Absence de phages délétères	séquençage et phagogramme

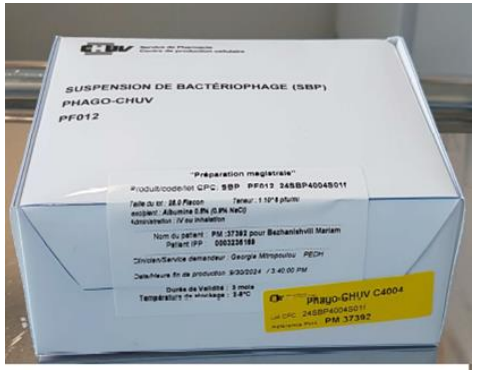
2-3. *LOTS DE SEMENCE PHAGIQUE*

• Identification	séquençage ou autre méthode
• Pureté microbienne	Absence de contaminant microbien
• Pureté des phages	séquençage et phagogramme
• Activité	Phagogramme et titration

- Absence de prophage dans la bactérie de production
- Absence de séquences d'insertion ou de gènes de résistance dans la séquence du phage

2-4. *PRODUCTION ET PURIFICATION*





- Identification séquençage
- Activité Phagogramme et titration
- Contrôle microbiologique Absence de contaminant microbien
- Pureté des phages séquençage et phagogramme
- Réactifs résiduels
- Impuretés et contaminants issus des cellules hôtes

2-5. *LOT FINAL*

- Aspect conforme à la spécification
- Identification séquençage unique et identique à la séquence attendue
- Activité Phagogramme et titration
- Qualité microbiologique Absence de contaminant microbien
- Pyrogénicité Taux d'entotoxines
- pH

- Pureté des phages séquençage (absence d'autre séquence)
- Test d'activité phagique sur la souche du patient

Etudes en cours

Pour chaque nouveau phage :

- **Stabilité**

Pour chaque traitement :

- **Posologie**
- **Voie d'administration**

Prescription personnalisée :

Un suivi clinique spécifique:

- **Présence du phage dans le temps**
- **Activité anticorps sérique**
- **Nombreux tests de suivis.**

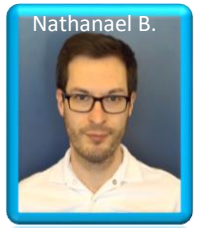
Tout cela est possible

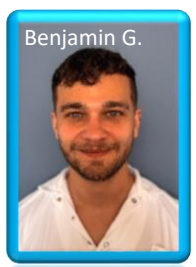
Contrôle Qualité

Responsable CQ

Assurance Qualité

Responsable AQ





Production

Responsable Prod.

Logistique

Avec un réseau de compétences

Division de médicine respiratoire CHUV

Prof Christophe von Garnier,

Dr Angela Koutsokera,

Dr Georgia Mitropoulou,

Dr Sylvain Blanchon,

Prof Alain Sauty,

Division des maladies infectieuses CHUV

Prof Benoît Guery,

Service de Pharmacie CHUV

Prof Farshid Sadeghipour

Dr Laurent Carrez

Pôle Thérapies Innovantes CRISP – ISPSO

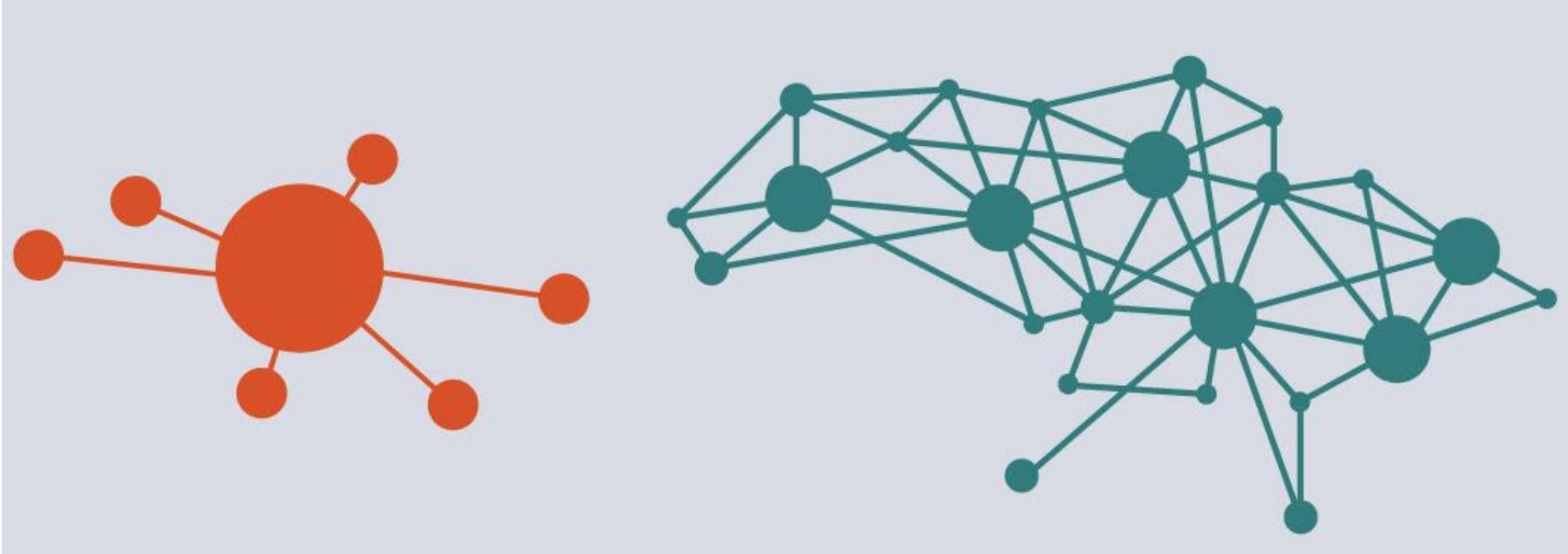
Pr Chantal Csajka

Unité des affaires réglementaires CHUV

Mme Jeanne-Pascale Simon

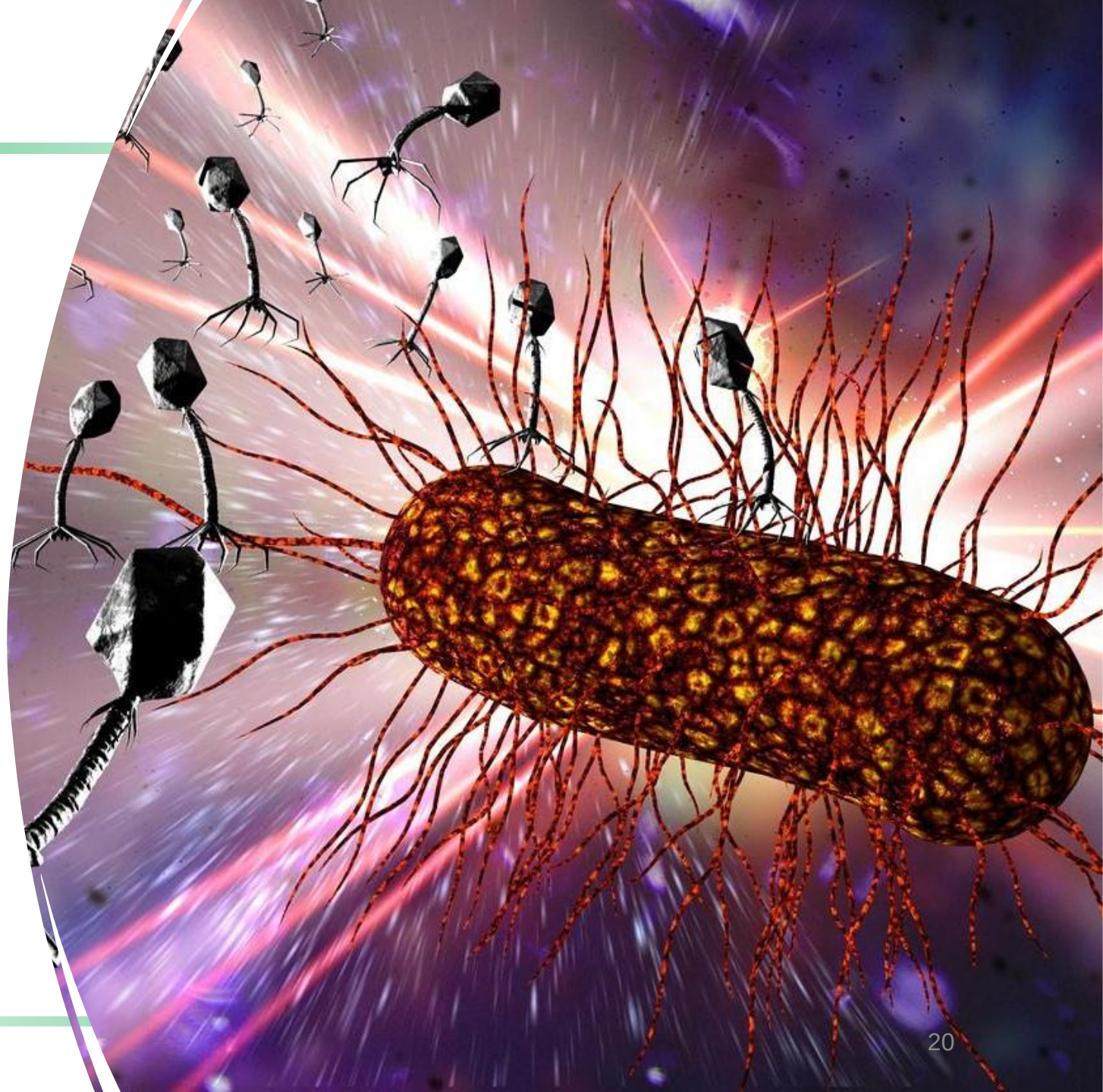
Comment s’organiser

Centralisation ou décentralisation de la production



Réseau nécessaire des banques de phages

Problématiques qui est aussi celle des productions ATMP et autres produits biologiques

Question - Remarques

Merci de votre attention