

Explorer le potentiel thérapeutique des coliphages: approche curative des infections causées par *Escherichia coli* chez les oiseaux

Catherine Schouler

INRA Val de Loire – UMR ISP Infectiologie et Santé publique



Carrefours de l'innovation
agronomique



Prévenir et guérir les maladies infectieuses
dans le concept One Health

21 juin 2018 | Lycée Descartes | Tours



Escherichia coli



- Entérobactérie à Gram négatif
- Habitat primaire : intestin
- Habitats secondaires : eau, sol, sédiments...
- Extrême diversité des souches :
 - Non pathogènes
 - Pathogènes à tropisme intestinal (diarrhées aqueuses ou sanglantes)
 - Pathogènes à tropisme extra-intestinal (cystite, méningites, septicémies, infections pulmonaires...)



E. coli pathogène aviaire

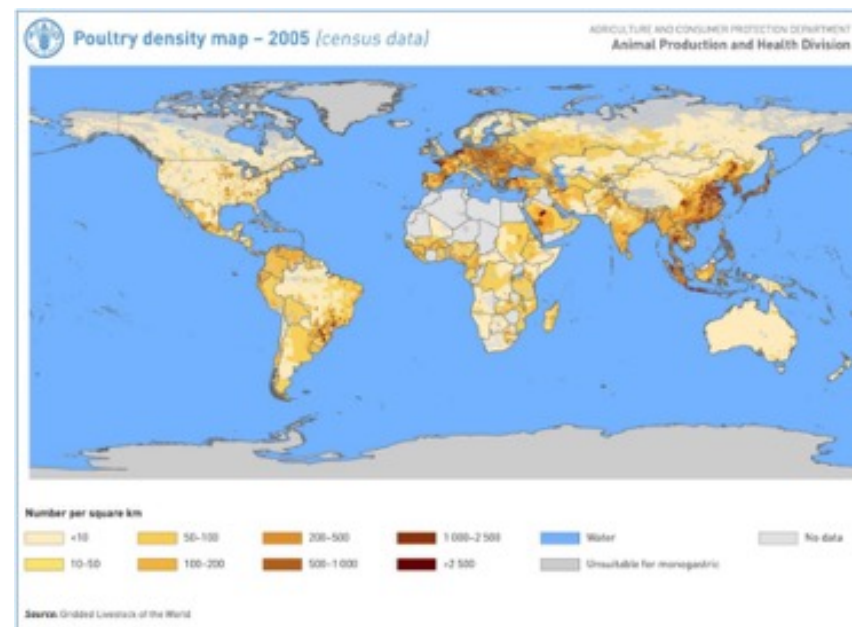
- Extrême **diversité** des souches (50% isolats cliniques sont de sérogroupes O78, O2, O5, O8, O1 et O18)
- **Parenté génétique** entre souches pathogènes humaines et souches isolées de cas pathologiques chez les volailles => risque zoonotique suspecté
- **Multirésistance aux antibiotiques** (résistance à au moins trois antibiotiques parmi les cinq antibiotiques des familles différentes suivantes : ceftiofur, gentamicine, tétracycline, enrofloxacin ou marbofloxacin, association triméthoprime-sulfamides) : 5,3 % chez les poules/poulets et 2,7 % chez les dindes (Resapath 2016).



La colibacillose aviaire

- Maladie infectieuse **extraintestinale** opportuniste et multifactorielle
- Tous les types oiseaux, à tout âge et dans tous les systèmes de production
- Maladie endémique de production (33 à 75%, données RNOEA Réseau National d'Observations Épidémiologiques en Aviculture)
- Un seul vaccin, mesures biosécurité, antibiothérapie

Maladie à très fort impact pour la filière



Carrefours de l'innovation
agronomique



21 juin 2018
Lycée Descartes Tours

Impact pour la filière et la société

- Importantes pertes économiques (6 millions d'euros de pertes par an en Angleterre).
- Mortalité, morbidité, saisies à l'abattoir, chute de ponte, mortalité embryonnaire.
- Retard de croissance, diminution de l'efficacité alimentaire → augmentation des coûts pour l'éleveur en terme de nourriture et de frais d'antibiotiques.
- Impact sociétal: diminution du bien être animal, utilisation d'antibiotiques engendrant des risques accrus de transfert de résistance aux antibiotiques chez l'homme





Utilisation Ab en élevage avicole

- Le tonnage à destination des volailles a quasiment diminué de moitié depuis 1999 (en 2016, 106 tonnes)
- Les volailles sont traitées majoritairement avec des Polypeptides, des Pénicillines et des tétracyclines, puis avec des Sulfamides et Triméthoprime
- Entre 2014-2015 et 2016, l'exposition aux antibiotiques a diminué pour toutes les familles sauf pour les Aminoglycosides, les Lincosamides, les Sulfamides et Triméthoprime.

source



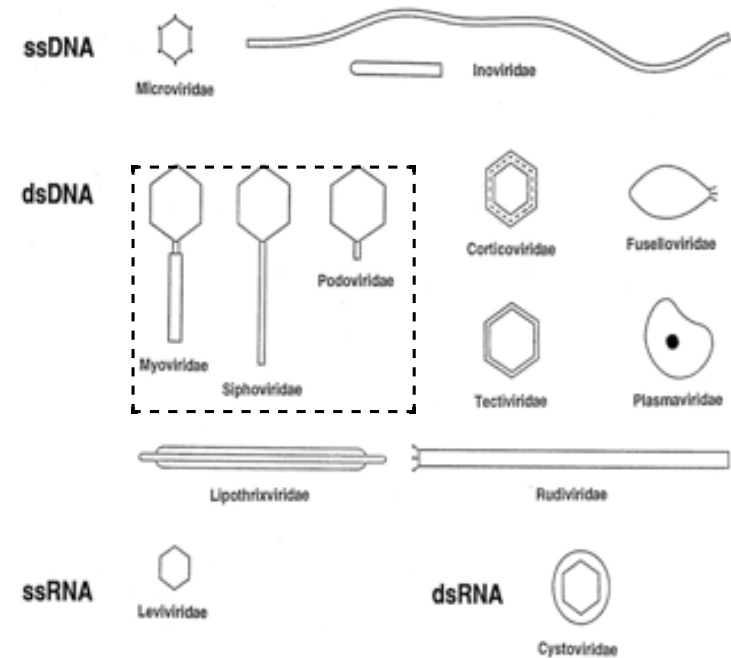
Carrefours de l'innovation
agricole



21 juin 2018
Lycée Descartes Tours

Les phages ou bactériophages

- Virus bactériens
- Frederick W. Twort (1915) et Félix d'Herelle (1917)
- Grande diversité
- Plus importante biomasse de la biosphère
- Rôle important dans la régulation naturelle des populations bactériennes



d'après (Ackermann, 2003)



Carrefours de l'innovation
agronomique

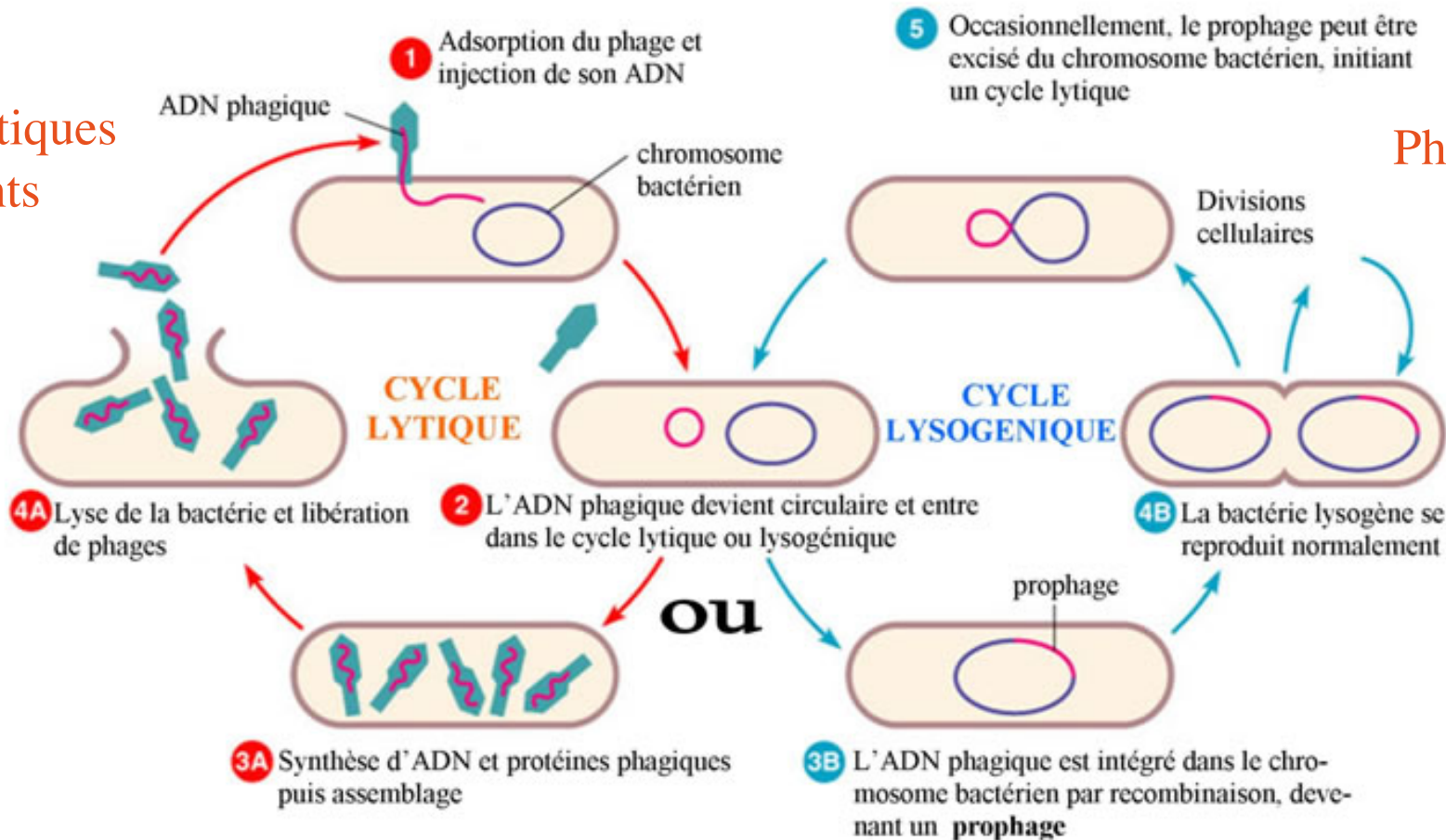


21 juin 2018
Lycée Descartes Tours

Cycles de vie des phages

Phages lytiques
ou virulents

Phages tempérés



La thérapie phagique

- Dès 1919: traitement épidémie typhus aviaire (*Salmonella gallinarum*) et dysenterie humaine
- 1940: laissée de côté au profit des antibiotiques (bloc de l'Ouest)
- Regain d'intérêt depuis l'émergence de multirésistances aux antibiotiques (traitement de patients en impasse thérapeutique)



Thérapie par les phages et colibacillose aviaire (1998-2014)

- Les phages sont capables d'atteindre la circulation sanguine et de s'y multiplier
- Des phages injectés dans les sacs aériens, ou en intramusculaire ou en aérosol ont permis de réduire de façon significative la morbidité et la mortalité
- Effet synergique entre les phages et l'enrofloxacin
- Effet protecteur lorsque les phages sont vaporisés sur la litière, avec une diminution de l'excrétion d'*E. coli*

Barrow et al. 1998, Huff et al. 2002, 2003, 2004 et 2009
Oliveira et al. 2010, El-Gohary et al. 2014



Carrefours de l'innovation
agronomique



21 juin 2018
Lycée Descartes Tours

Projet Antibiophage



Le but du projet est de démontrer la valeur ajoutée de traitements ciblés par les phages dans la réduction de l'impact des pathologies induites par des souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques

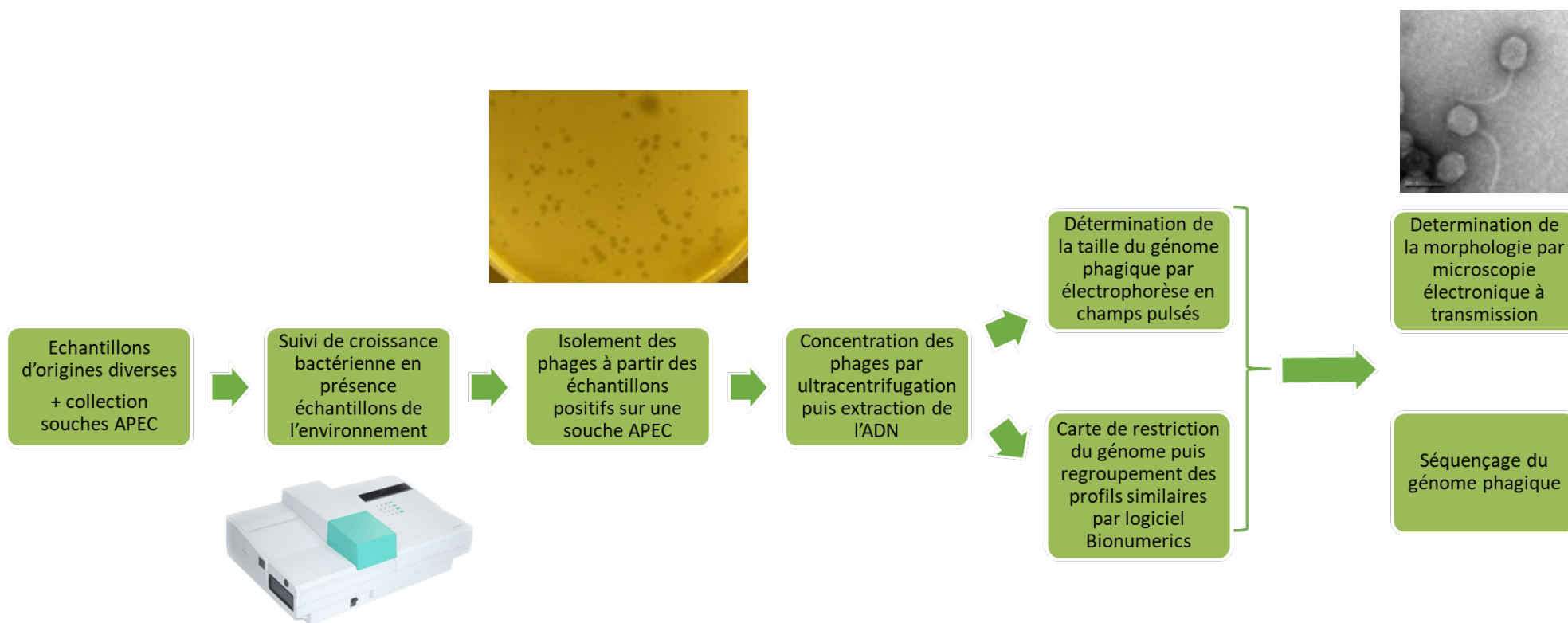


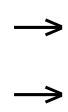
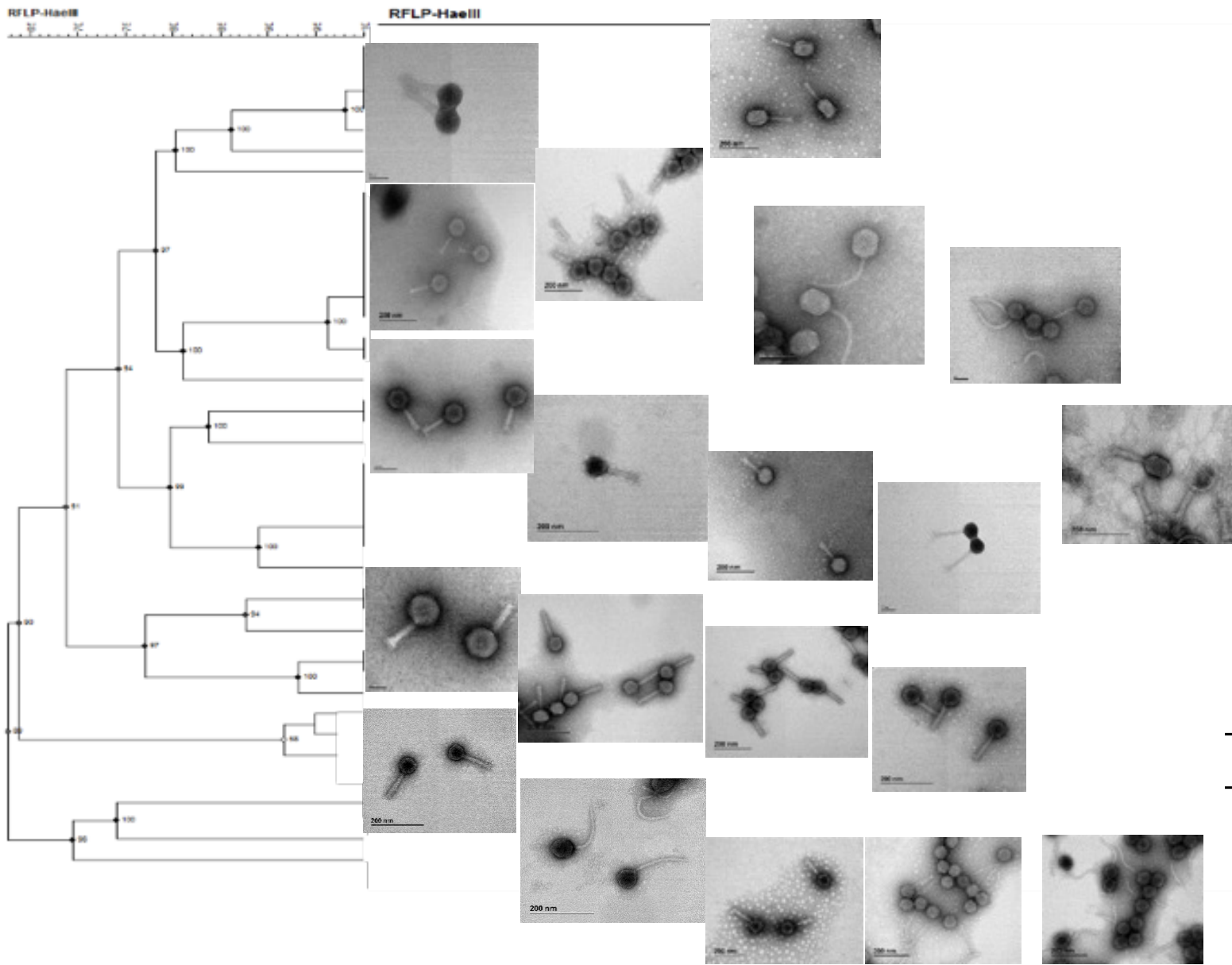
Carrefours de l'innovation
agricole



21 juin 2018
Lycée Descartes Tours

Pipeline d'isolement des phages





64 phages isolés
21 groupes
4 syphoviridae
17 myoviridae

		Size (bp)	Phage homologue
ESCO 13	myo	149813	PhAPEC8
ESCO 19	myo	149841	PhAPEC8
ESCO25	myo	149073	PhAPEC8
ESCO 37	myo	149266	phAPEC8
ESCO 5	myo	149312	phAPEC8
ESCO 10	myo	171102	vB_EcoM_VR5
ESCO 30-1	sipho	112 242	Shigella phage SHSML-45
ESCO47	myo	162604	Shigella phage SHSML-52-1
ESCO 32	myo	147431	Enterobacteria phage ECGD1
ESCO 46	myo	112153	Enterobacteria phage ECGD1
ESCO 8	myo		Enterobacteria phage ECGD1
ESCO 9	myo		Enterobacteria phage ECGD1
ESCO 40	sipho		Samonella phage Shivani
ESCO 41	sipho	50 800	Escherichia phage vB_Ecos_CEB_EC3a
ESCO 45	Myo	82488	Salmonella phage mushroom
ESCO 49	myo	84827	Salmonella phage mushroom
ESCO 50	myo	86046	Salmonella phage Mushroom
ESCO 64	myo	84219	Salmonella phage Mushroom
ESCO 56	myo	83591	Salmonella phage Mushroom
ESCO 58	myo	167971	Enterobacteria phage RB14
ESCO 3	sipho		Enterobacteria phage 9g

phAPEC8



GENOME ANNOUNCEMENT

Complete Genome Sequence of the Novel *Escherichia coli* Phage phAPEC8

J. Tsonos,^{a,b,c} E. M. Adriaenssens,^a J. Klumpp,^d J.-P. Hernalsteens,^b R. Lavigne,^a and H. De Greve^c

Division of Gene Technology, KU Leuven, Leuven, Belgium^a; Viral Genetics, Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium^b; Department of Structural Biology, VIB, Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium^c; and Institute of Food Nutrition and Health, ETH Zurich, Zurich, Switzerland^d

Bacteriophage phAPEC8 is an *Escherichia coli*-infecting myovirus, isolated on an avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) strain. APEC strains cause colibacillosis in poultry, resulting in high mortality levels and important economic losses. Genomic analysis of the 147,737-bp double-stranded DNA phAPEC8 genome revealed that 53% of the 269 encoded proteins are unique to this phage. Its closest relatives include the *Salmonella* phage PVP-SE1 and the coliphage rv5, with 19% and 18% similar proteins, respectively. As such, phAPEC8 represents a novel, phylogenetically distinct clade within the *Myoviridae*, with molecular properties suitable for phage therapy applications.



Virology

Volume 443, Issue 2, 1 September 2013, Pages 187–196



Safety analysis of a Russian phage cocktail: From MetaGenomic analysis to oral application in healthy human subjects

Shawna McCallin^a, Shafiqul Alam Sarker^b, Caroline Barretto^a, Shamima Sultana^b, Bernard Berger^a, Sayeda Huq^b, Lutz Krause^{a, 1}, Rodrigo Bibiloni^{a, 2}, Bertrand Schmitt^a,

[Show more](#)

<https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.05.022>

[Get rights and content](#)



Microgen ColiProteus utilisé en traitement des infections causées par *E. coli/Proteus*



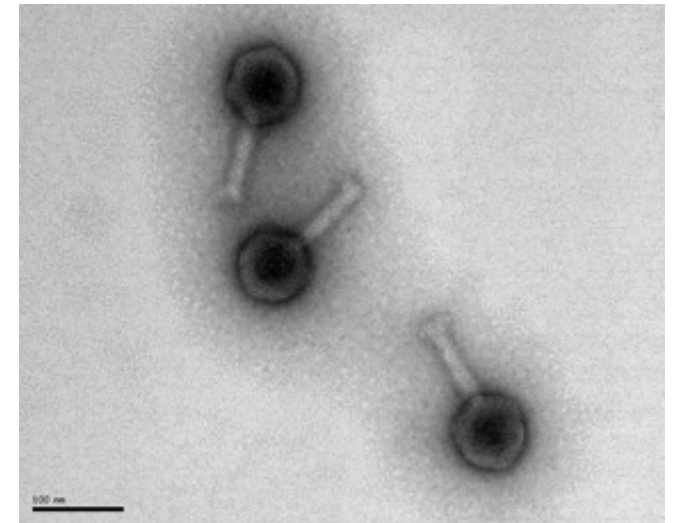
Carrefours de l'innovation
agronomique



21 juin 2018
Lycée Descartes Tours

Un membre de la famille phAPEC8 : ESCO5

- Capacité à se propager sur 34 des 56 souches testées
- Sur une souche APEC (O18) : une bactérie infectée produit 135 phages



Trotreau et al, 2017



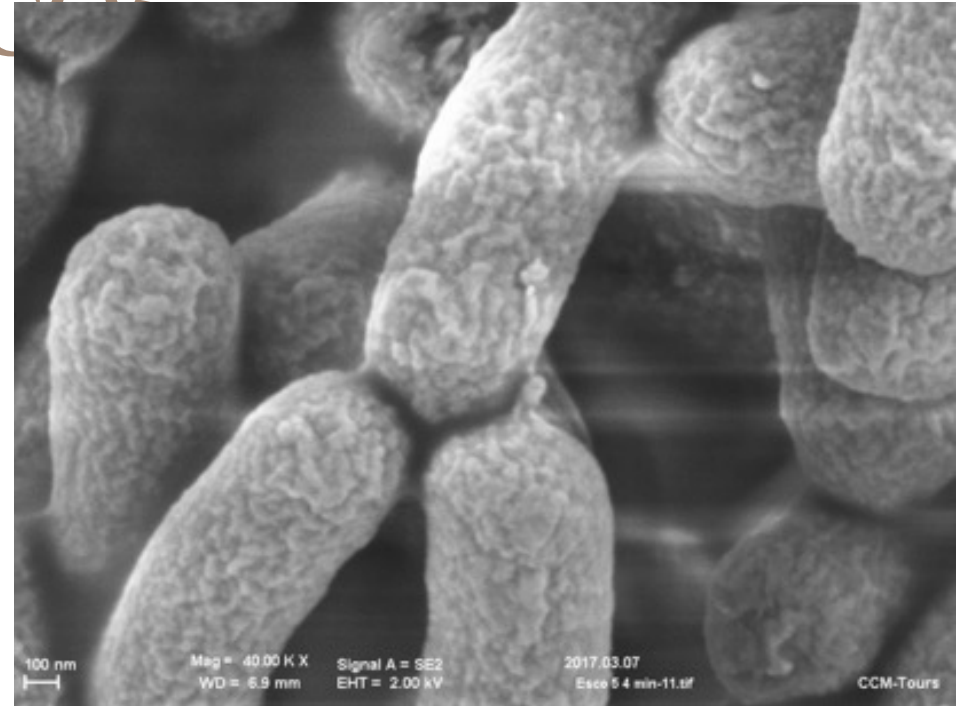
Carrefours de l'innovation
agronomique



21 juin 2018
Lycée Descartes Tours

Un membre de la famille phAPEC8 : ESCO5

- S'adsorbe rapidement sur la bactérie



**Bon
candidat**

Trotreau et al, 2017



Carrefours de l'innovation
agronomique



21 juin 2018
Lycée Descartes Tours

Efficacité du phage ESCO5 *in ovo*

Inoculation d'environ 100 *E. coli*
2 heures après: inoculation de 2000 phages



éclosion

12 13 14 15 18



Suivi de mortalité

Trotreau et Schouler, 2018,
Bacteriophages: methods and protocols, vol4, Springer

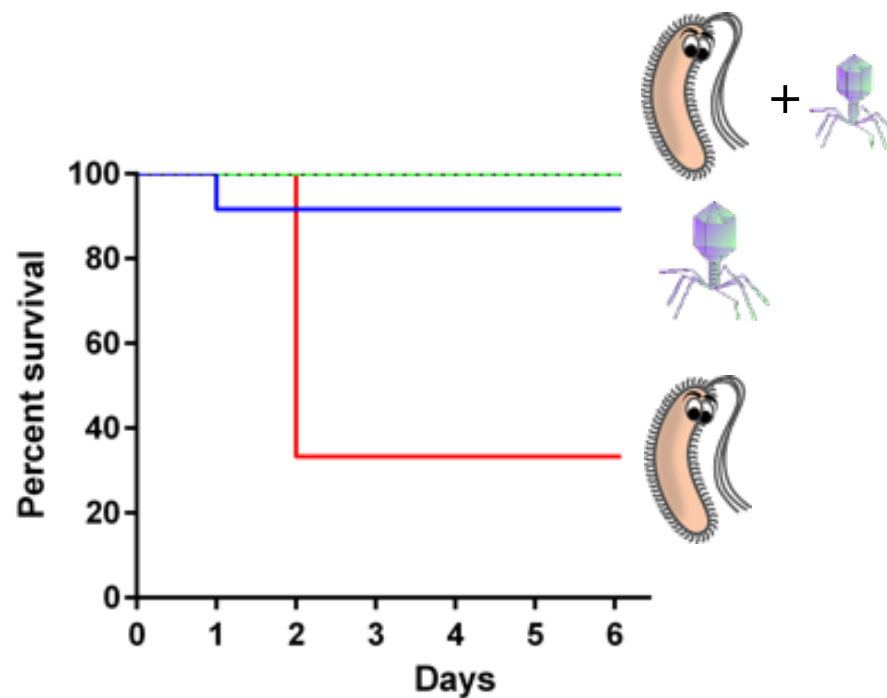


Carrefours de l'innovation
agronomique



21 juin 2018
Lycée Descartes Tours

Courbes de survie des embryons



Très bonne efficacité
thérapeutique



Carrefours de l'innovation
agronomique



21 juin 2018
Lycée Descartes Tours

Perspectives à court terme

- Test de son efficacité pour traiter des pathologies chez l'adulte (atteinte respiratoire et de l'appareil reproducteur)
- Test d'association de phages pour définir un cocktail



Perspectives à plus long terme

- Travailler sur la formulation et sur le mode d'administration (eau de boisson, aérosolisation...)
- Evolution de la législation → test terrain
- Estimer l'impact sur l'environnement





PCA

Angéline Trotereau

Luka Courtier

Théo Charbonnier

Angèle Thiriet

Julie Kern

Emilie Rabier

Antoine Viardot

PGBA

Matthieu Gonnet



Laurence Mérat

Patrice Cousin



Sonia Georgeault



The University of Nottingham

Robert Atterbury

Abiyad Baig

KU LEUVEN

Rob Lavigne

Jeroen Wagemans

UNIVERSITY OF COPENHAGEN



Arshnee Moodley

Dziuginta Jakociune



cgfb

GÉNOME TRANSCRIPTOME



Carrefours de l'innovation agricole



21 juin 2018

Lycée Descartes Tours