

BACTÉRIOPHAGES

ASPECTS RÉGLEMENTAIRES ET PHARMACEUTIQUES

Camille BARBAZAN, pharmacien assistant spécialiste

Alexia JOUVANCE-LE BAIL, interne pharmacie

Statut réglementaire

- Code de la Santé Publique - Article L5111-1

- « Médicament »



« On entend par médicament **toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines** ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. »

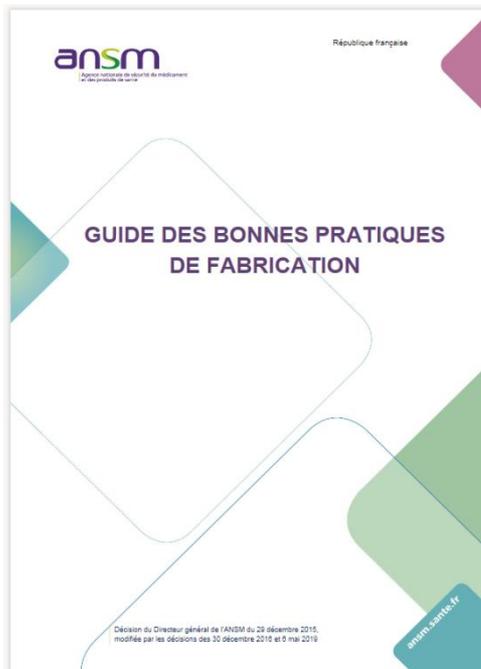
→ **Bactériophages administrés pour traiter une infection = médicament**

Statut réglementaire

- Code de la Santé Publique - Article L5111-1

- « Spécialité pharmaceutique »

- Médicament à la composition fixe (qualitativement et quantitativement)
- Fabriquée de manière industrielle par un **laboratoire pharmaceutique** agréé par l'ANSM, dans le respect des **Bonnes Pratiques de Fabrication** (BPF)



⇒ **BPF pas adaptées à la production de bactériophages**

⇒ Pas de laboratoire pharmaceutique produisant des bactériophages

⇒ Pas de spécialité disponible actuellement

Statut réglementaire

□ Code de la Santé Publique - Article L5121-1

□ « Médicament biologique »

« Tout médicament dont la **substance active** est **produite à partir d'une source biologique ou en est extraite** et dont la caractérisation et la détermination de la qualité nécessitent une **combinaison d'essais physiques, chimiques et biologiques** ainsi que la connaissance de son procédé de fabrication et de son contrôle »

ANNEXE 2 : FABRICATION DES SUBSTANCES ACTIVES ET DES MEDICAMENTS BIOLOGIQUES A USAGE HUMAIN

CHAMP D'APPLICATION

Les méthodes employées dans la fabrication des substances actives biologiques et des médicaments biologiques à usage humain ("substances actives et médicaments biologiques") constituent un facteur déterminant dans l'élaboration du contrôle réglementaire applicable. Les substances actives et les médicaments biologiques peuvent ainsi être définis en se référant à leur méthode de fabrication. Cette annexe fournit des orientations sur la gamme complète des substances actives et médicaments définis comme biologiques à l'exception des médicaments de thérapie innovante (MTI), définis à l'article 1(1) du Règlement (EC) No 1394/2007¹. Les MTI ne sont pas couverts par les principes directeurs de cette annexe. Les fabricants de MTI doivent se référer au guide BPF spécifique des MTI prévu par l'article 5 du règlement susmentionné.

⇒ **Appliquer aux bactériophages
les BPF relatives aux
médicaments biologiques ?**

Statut réglementaire

□ Directive européenne 2001/83/CE

Sont considérés comme médicament biologique :

- **Les médicaments immunologiques** : vaccins, toxines ou sérums
- **Les médicaments dérivés du sang et du plasma humains**
- **Les médicaments issus d'un des procédés biotechnologiques** suivants :
 - Technologie de l'ADN recombinant
 - Expression contrôlée de gènes codant pour des protéines biologiquement actives
 - Méthodes à base d'hybridomes et d'anticorps monoclonaux
- **Les médicaments de thérapie innovante**
 - BPF adaptées aux MTI-PP, permettant la fabrication de médicaments personnalisés
 - 4 types de MTI définis par la réglementation européenne
 - Thérapie génique
 - Thérapie cellulaire somatique
 - Issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire
 - Combinés de thérapie innovante

PARTIE IV

GUIDE DES BONNES PRATIQUES DE FABRICATION SPECIFIQUES
AUX MEDICAMENTS DE THERAPIE INNOVANTE

➤ **Bactériophages naturels : ne répondent à aucune de ces définitions**

Statut réglementaire

BPF « générales » pas adaptées aux bactériophages

+

Pas de BPF « spécifiques » applicables aux bactériophages



Pas d'essais cliniques (dont PHAGOS)

Pas d'Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU)

Pas d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM)

Statut réglementaire

- Préparation magistrale
 - Traitement **compassionnel** après avis de l'ANSM
 - Sous la responsabilité :
 - Du médecin prescripteur (Déclaration d'Helsinki)
 - Du pharmacien hospitalier -> **Bonnes Pratiques de Préparation** (BPP)
 - Après approvisionnement en matière première

Déclaration d'Helsinki, alinéa 37 :

« Dans le cadre du traitement d'un patient, **faute d'interventions avérées ou faute d'efficacité de ces interventions, le médecin, après avoir sollicité les conseils d'experts et avec le consentement éclairé du patient** ou de son représentant légal, **peut recourir à une intervention non avérée** si, selon son appréciation professionnelle, elle offre une chance de sauver la vie, rétablir la santé ou alléger les souffrances du patient. Cette intervention devrait par la suite faire l'objet d'une recherche pour en évaluer la sécurité et l'efficacité. Dans tous les cas, les nouvelles informations doivent être enregistrées et, le cas échéant, rendues publiques ».

Approvisionnement

- Pherecydes pharma® (société française)
 - Spectre limité : 4 phages anti- *P. aeruginosa* et 2 phages anti- *S. aureus* en développement
 - **N'est pas un établissement pharmaceutique** -> matière première à qualifier par le Pharmacien Hospitalier

- Phagothèque belge (Hôpital militaire de la Reine Astrid, Bruxelles)
 - Spectre plus important
 - Approvisionnement complexe et long (**autorisation d'importation**)
 - Qualification selon des normes nationales Belges

- Géorgie
 - Mélanges souvent prêts à l'emploi, pas personnalisés
 - Souvent peu purifiés -> voie orale ++
 - **En pratique, importation pas autorisée** par l'ANSM

=> Nécessite une phagothèque et une production nationale

Qualification

Dans le cas où la matière première ne peut pas être fournie par un établissement pharmaceutique, le Pharmacien Hospitalier est tenu de qualifier lui-même la matière première (BPP)



COMMENT QUALIFIER UNE SOLUTION DE BACTERIOPHAGES ?

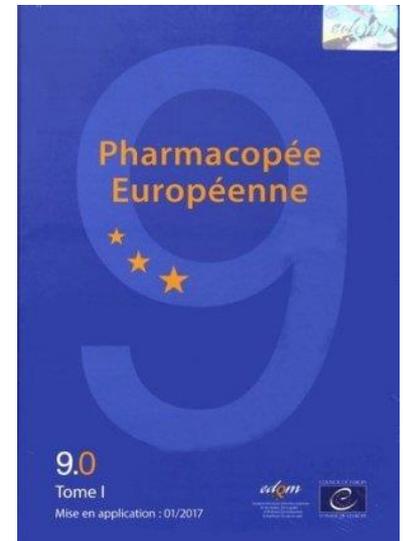
- Pas de monographie concernant les bactériophages dans la Pharmacopée Française ou Européenne
- Pas de guide dans les Bonnes Pratiques de Préparations

Qualification

- Monographies générales relatives aux formes pharmaceutiques (Ph. Européenne 2017)
 - Préparations à diluer pour injection ou perfusion
 - **Stérilité**
 - **Endotoxines bactériennes**
 - Contamination particulaire : particules non visibles
 - Uniformité de teneur

 - Préparations pour irrigation
 - **Stérilité**
 - **Endotoxines bactériennes**

= textes opposables, mais pas suffisants



Qualification

- **Belgique** : monographie générale relative aux phages en tant que principe actif pharmaceutique
 - Techniques de qualification « classiques » en pharmacotechnie
 - Détermination quantitative de la charge biologique : < 10 cfu/100ml en suivant la méthode décrite dans la Ph Européenne
 - Endotoxine : < 5 EU/kg/h pour la voie IV (Limulus test)
 - pH : conforme au pH énoncé dans les monographies individuelles (en général compris entre 6.0 et 8.0)

Qualification

- **Belgique** : monographie générale relative aux phages en tant que principe actif pharmaceutique
 - Techniques de qualification spécifiques aux bactériophages
 - Evaluation qualitative par une méthode qualifiée pour l'identification des phages (ex PCR)
 - Evaluation quantitative par une méthode qualifiée
 - Etude de stabilité pour la détermination des modalités de conservation
 - Impuretés : les impuretés liées au processus, notamment pour la lyse des bactéries résiduelles, doivent être quantifiées et qualifiées

monographie nationale belge = pas opposable en France

Quid de la vérification de l'absence de phages tempérés ?

Qualification

- Par qui ?
 - ▣ Pharmacien hospitalier + microbiologiste ?
 - ▣ Sous-traitance par un laboratoire extérieur ?
 - En Belgique, le fabricant est tenu de fournir une monographie spécifique aux phages qu'il fournit. Un laboratoire indépendant et accrédité par les autorités Belges est ensuite chargé de valider la conformité du produit par rapport à la monographie fournie.
 - Pas de laboratoire accrédité en France

- Comment ?
 - ▣ Traitement compassionnel : 1 seul flacon fourni par type de phage
 - > qualification de la matière première en amont de la préparation ?

Préparation

- Locaux :
 - ▣ Salle blanche ou isolateur de la pharmacotechnie ?
 - Destinés à la préparation de médicaments stériles
 - ▣ Hottes en microbiologie ?

- Bactériophages fournis séparément et devant être mélangés +/- dilués à la pharmacie « selon les procédures hospitalières locales »... (Pherecydes Pharma)

- Stabilité et conservation avant administration ?
 - ▣ « Il est conseillé d'assembler les phages dans les 2h qui précèdent l'administration » (Pherecydes Pharma)
 - ▣ Stabilité pas étudiée au-delà de 24h

Administration

Voie systémique :

- IV, IM, SC
- Autres : Orale, Inhalée, Intra-rectale

- Mais séquestration rapide des phages par le système immunitaire

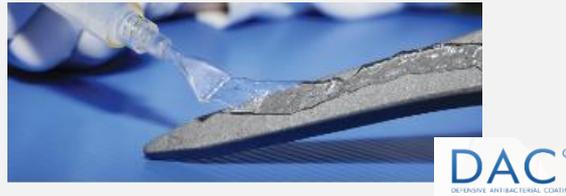
- Distribution bonne : cœur, foie, muscles squelettiques, rein, vessie, glandes salivaires, cerveau

- Elimination : Foie/rate ++

Administration

Voie locale :

- IOA :
 - **Injection per-opératoire, *in situ***
 - Injection post-opératoire, *in situ*
 - intra-articulaire
 - gel DAC® (1 cas)



- Autres : Digestive, cutanée (Compresses ou pansements imbibés de la solution, crèmes ou gels), inhalée, intra-auriculaire...

=> Etudes de stabilité/compatibilité avec dispositifs d'administration

Tolérance

In vitro / in vivo chez l'animal :

- Pas de surstimulation de l'inflammation, voire diminution des facteurs de l'inflammation

Phage Therapy of Pneumonia Is Not Associated with an Overstimulation of the Inflammatory Response Compared to Antibiotic Treatment in Mice Nicolas Dufour et al. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Aug; 63(8): e00379-19.

- Le taux d'endotoxines libéré / phages < β -lactamines

Clinical Infectious Diseases

MAJOR ARTICLE



The Lysis of Pathogenic *Escherichia coli* by Bacteriophages Releases Less Endotoxin Than by β -Lactams

Nicolas Dufour,^{1,2,3} Raphaëlle Delattre,^{1,3,4} Jean-Damien Ricard,^{2,3,5} and Laurent Debarbieux¹

¹Institut Pasteur, Department of Microbiology, Molecular Biology of Gene in Extremophiles, Paris; ²Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital Louis Mourier, Service de Réanimation Médico-Chirurgicale, Colombes; ³INSERM, IAME, UMR 1137, Paris; ⁴AP-HP, Hôpital Beaujon, Service d'Anesthésie-Réanimation, Clichy; and ⁵Université Paris Diderot, IAME, UMR 1137, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

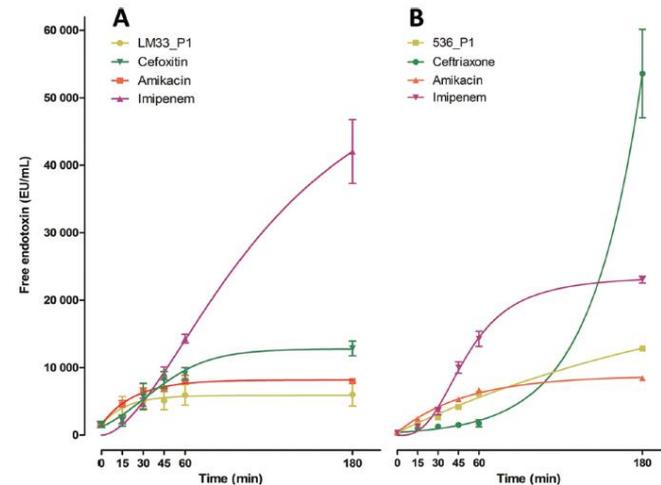
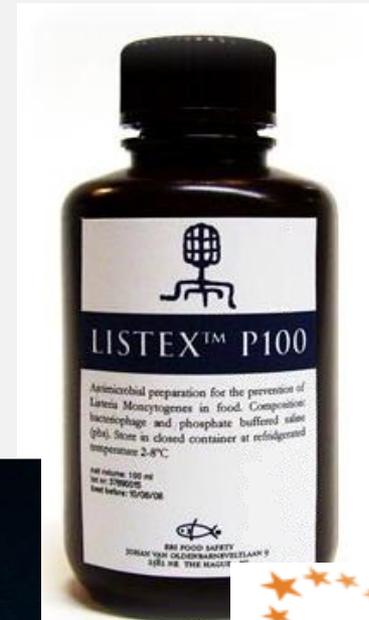


Figure 4. Concentration of free endotoxin released in the culture medium over time by cells exposed to different antibacterial agent. Strain LM33 (71) and strain 536 (71) were cultured in presence of phages (LM33_P1 or 536_P1, multiplicity of infection of 5) or antibiotics (8-fold the minimum inhibitory concentration). The symbols are the means of 2 independent experiments with standard deviation. The curves are nonlinear regressions from these points (see Methods). Abbreviation: EU, endotoxin unit.

Tolérance

In vivo chez l'homme :

- Largement présents dans l'environnement, au sein des microbiotes (intestins ++)
- Présents dans l'industrie agro-alimentaire



Tolérance

□ Essais cliniques : peu d'EI graves mais peu d'essais

Wright A, Hawkins CH, Anggard EE, Harper DR. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. *Clin Otolaryngol* 2009 ; 34(4) : 349-57

Sarker SA, Sultana S, Reuteler G, et al. Oral phage therapy of acute bacterial diarrhea with two coliphage preparations: a randomized trial in children from Bangladesh. *EBio Med* 2016 ; 4 : 124-37.

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(1) : 35-45.

THE LANCET Infectious Diseases

ARTICLES | VOLUME 19, ISSUE 1, P35-45, JANUARY 01, 2019

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

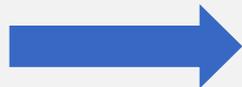
Patrick Jault, MD • Prof Thomas Leclerc, MD • Serge Jennes, MD • Jean Paul Pirnay, PhD • Prof Yok-Ai Que, MD • Gregory Resch, PhD • et al. [Show all authors](#)

Published: October 03, 2018 • DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30482-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30482-1) • [Check for updates](#)

“In the PP1131 group, three (23%) of 13 analysable participants had adverse events versus seven (54%) of 13 in the standard of care group”

Tolérance :

- Revue de la littérature et retours d'expérience en France :
 - **Symptômes digestifs** : non graves (nausées) / VO
 - **Réactions locales** : +/- graves
 - **Possible augmentation T°** : subfébrile voire fébrile, nécessitant très rarement l'arrêt du traitement
 - Baisse transitoire du taux de plaquettes
 - Choc anaphylactique



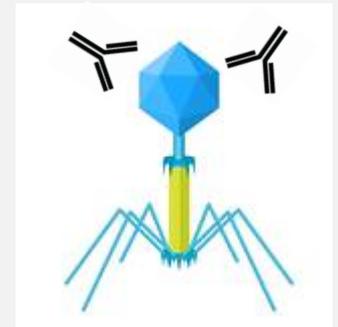
Données rassurantes

Echec de traitement

- Quantité phage *in situ* insuffisante

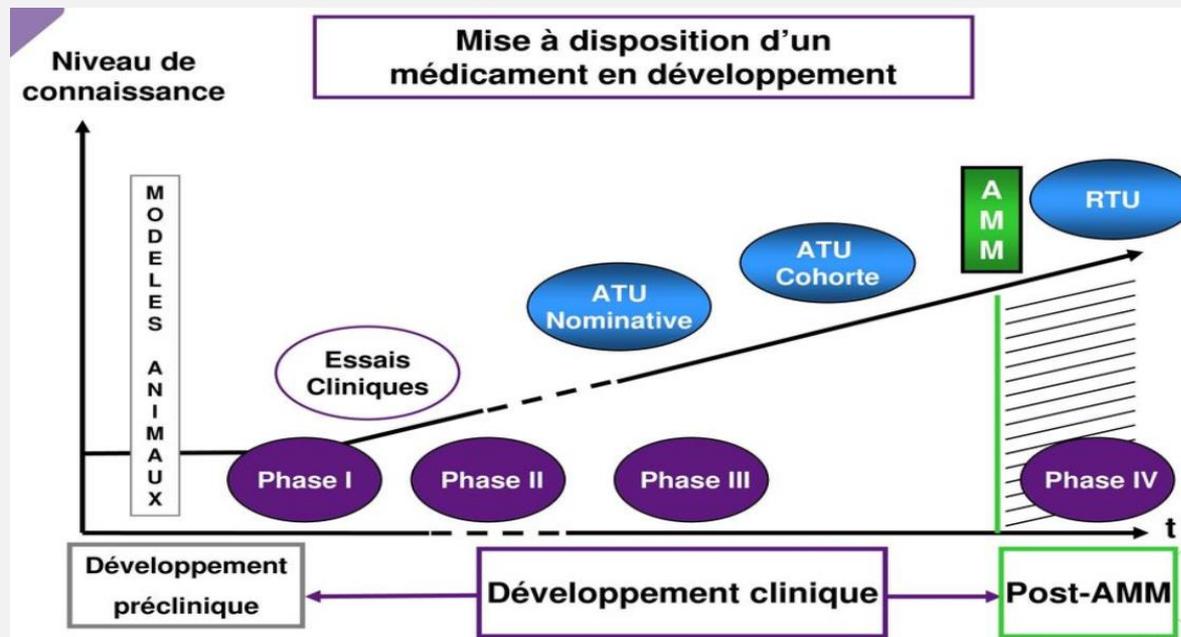
- Apparition de mutants résistants :
 - ⇒ Phénomène labile
 - ⇒ Peu de recul
 - ⇒ Association de phages/association avec ATB

- Apparition d'anticorps
 - ⇒ Délai avant apparition des Ac
 - ⇒ Exposition préalable et durée de vie des Ac
 - ⇒ Administrations répétées

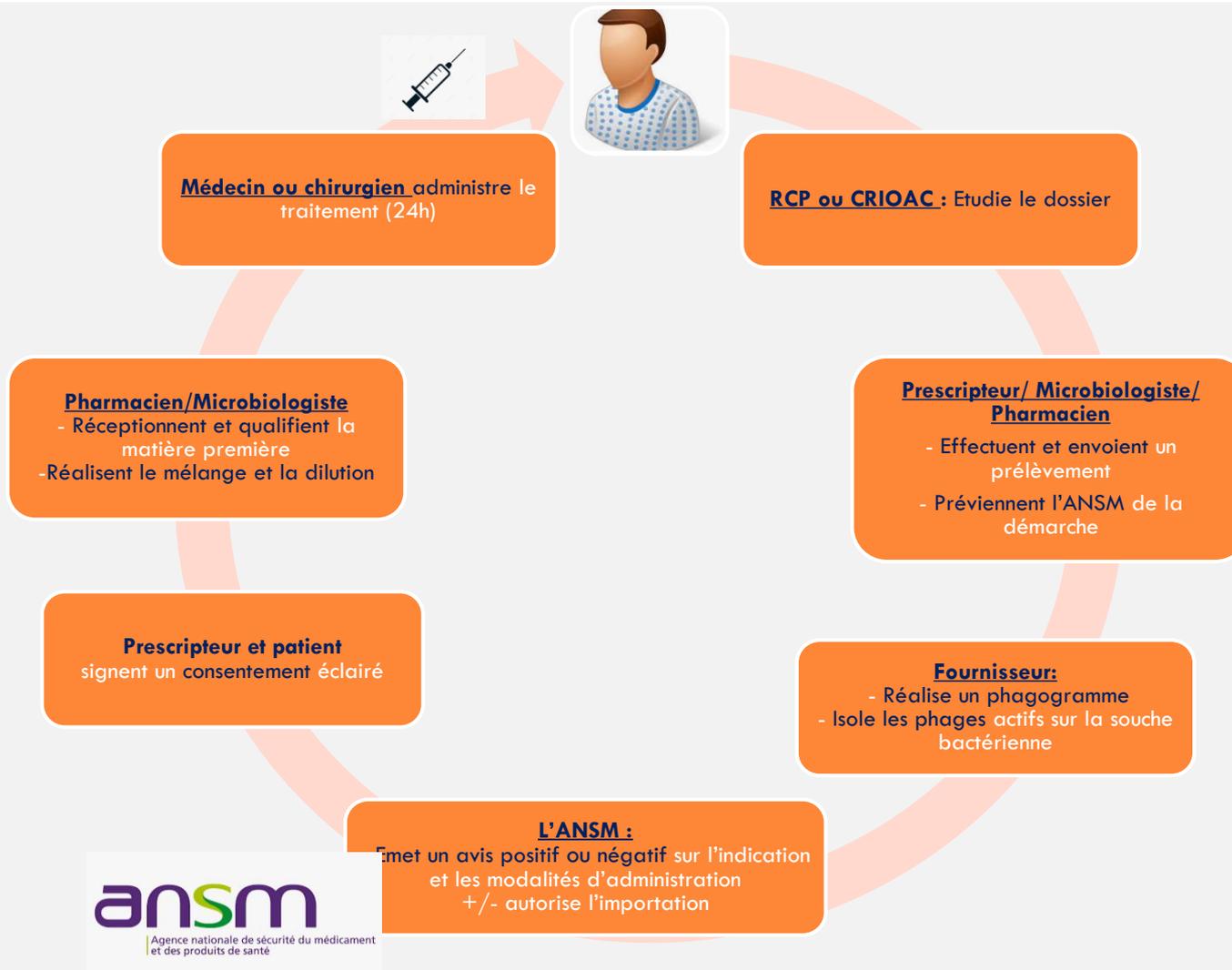


Aspect économique - perspectives

- Usage compassionnel tant que statut non défini
- Puis : Essai clinique ? ATU nominative 2021 ?



Synthèse



Conclusion

Essais cliniques :

- Qualité des préparations administrées
 - Schémas d'administration : dose, fréquence, voie, +/- ATB...
 - Efficacité et sécurité
 - Développement de phagothèques
- => Améliorer l'accès au traitement

 **Suivre l'impact des bactériophages sur l'écologie bactérienne**

Conclusion

□ Freins :

- Réglementation non adaptée : produit non pharmaceutique
- Motivation de l'industrie pharmaceutique à mettre en place des essais cliniques ?

Conclusion

□ Leviers:

- Antibiorésistance

- Plusieurs acteurs motivés sur le territoire :
 - Pherecydes pharma®
 - ANSM (CSST)
 - Equipes hospitalières (HCL, Hôpital VSG)

- Bonne tolérance, *a priori*



- *Antibacterial applications of bacteriophages* Mireille Ansaldi1 - *Virologie* 2020, 24 (1) : 23-36
- Phage therapy: What factors shape phage pharmacokinetics and bioavailability? Systematic and critical review. [Krystyna Dabrowska](#). *Med Res Rev*. 2019 Sep; 39(5): 2000–2025.
- 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(1) : 35-45.
- A retrospective analysis of changes in inflammatory markers in patients treated with bacterial viruses Ryszard Mięczybrodzki Æ Wojciech Fortuna Æ Beata Weber-Dąbrowska Æ Andrzej Goński *Clin Exp Med* (2009) 9:303–312
- Phage Therapy of Pneumonia Is Not Associated with an Overstimulation of the Inflammatory Response Compared to Antibiotic Treatment in Mice Nicolas Dufour, Raphaëlle Delattre, Anne Chevallereau, Jean-Damien Ricard, Laurent Debarbieux *Antimicrob Agents Chemother*. 2019 Aug; 63(8): e00379-19.
- DabrowskaK, Immunogenicity studies of proteins forming the T4 phage head surface. *J Virol*, 2014
- KrutO, Contribution of the Immune Response to Phage Therapy, *J Immunol*, 2018