

## LE BACTERIOPHAGE DE D'HERELLE: SES APPLICATIONS THERAPEUTIQUES

A. BECKERICH ET P. HAUDUROY

*Strasbourg, France*

Received for publication June 24, 1922

Depuis l'époque où d'Herelle présentait à l'Académie des sciences de Paris ses premières communications (1917), des expérimentateurs nombreux se sont mis à l'étude du phénomène qu'il a décrit. Nous le résumons en quelques mots: le filtrat d'un bouillon ordinaire dans lequel on met à incuber des selles de convalescent de dysentérie bacillaire ou de typhoïde présente la propriété de lyser une culture jeune de bacilles dysentériques ou typhiques.

D'Herelle a très soigneusement étudié le fait qu'il avait mis en évidence, il en a abordé tous les aspects, a su construire une théorie de l'immunité par le bactériophage, apercevoir les applications thérapeutiques étendues qu'on pouvait en tirer. Nous allons, dans cet article, exposer, son hypothèse sur la nature du principe bactériophage et sur quelles expériences il l'appuie. Nous rappellerons que d'autres hypothèses ont été émises, mais, sans prétendre à être complets.

Il est auparavant un point historique curieux à élucider. En parcourant systématiquement les revues scientifiques, on trouve que certains expérimentateurs ont vus le phénomène avant lui, beaucoup ont eu entre les mains du bactériophage. Dans le "Traité de Microbiologie" de Duclaux on lit cette phrase "Rappelons les curieuses expériences de Hankin sur les eaux de la Jumma et du Gange, où on voit une eau courante être aussi bactéricide qu'une solution de sublimé et perdre ce pouvoir après une courte ébullition sans qu'aucun précipité, sans que rien d'apparent, explique ce changement de propriétés. . . ." (1898-1901). Hankin dans les Annales de l'Institut

Pasteur (1896) insiste sur cette action bactericide qui lui semble difficilement explicable.

Elle est à mettre au compte de la présence du bactériophage. Dans son livre "Le Bacteriophage" (1921), d'Herelle signale un autre fait du même ordre. Eliava, chargé d'examiner l'eau de la rivière Koura qui passe à Tiflis, y constate le phénomène suivant; s'il additionnait l'eau suspecte de peptone, après quelques heures d'incubation, on constatait la présence de très nombreux vibrions de forme normale; une douzaine d'heures plus tard, toute trace de ceux-ci avait disparu. Le phénomène resta pour lui inexplicable tant qu'il n'eut pas connaissance des communications concernant le bactériophage. En 1916 et 1917, Gildemeister écrit de longs articles dans le "Centralblatt für Bakteriologie" (1916-1917) pour décrire des figures de transformation du bacille dysentérique, du bacille typhique, et du colibacille. Il étudie très complètement les colonies atypiques qu'il rencontre, et essaie de les classer. Le passage de colonies de formes atypiques à la forme typique le frappe; il insiste sur le fait que c'est au sortir de l'organisme qu'on rencontre de telles colonies. Les articles sont illustrés de photographies qui montrent que, sans aucun doute, Gildemeister a manié des colonies parasitées par du bactériophage.

Plus récemment Howard a signalé à la Société de Biologie de Paris (1920) l'action lytique de certains sérums de typhiques: C'est là un phénomène que nous avons retrouvé et signalé (1922). Nous l'attribuons, pour notre compte, au bactériophage.

On voit, par ces quelques exemples, que le phénomène de la lyse en série de certaines bactéries, que les modifications apportées par le bactériophage dans l'aspect des colonies, ont été aperçus par les expérimentateurs. D'Herelle a retrouvé de semblables faits quand, à l'occasion d'une observation fortuite dans l'étude de la cocco-bacillose des sauterelles, il constata un arrêt inexplicable de ses cultures. Il y revint plus tard, envisagea de nombreuses hypothèses avant de s'arrêter à celle qui lui parut concorder étroitement avec ses expériences.

Un grand nombre de bactériologistes avaient donc vu "le bactériophage," mais c'est d'Herelle qui l'a "découvert," nous

semble-t-il. On a beaucoup parlé, d'autre part, d'un phénomène décrit par Twort en 1915. Bordet, en particulier, (1921) veut y voir la lyse transmissible en série et il s'est fondé là-dessus pour contester à d'Herelle la priorité de sa découverte. Or la description donnée par Twort n'a que d'assez lointains rapports avec le bactériophage. Nous ne saurions entrer dans le détail d'une discussion, mais il nous paraît probable que le phénomène de Twort et le phénomène de d'Herelle ne sont pas identiques.

Qu'est ce pour d'Herelle que le bacteriophage? Reproduisons la définition qu'il en donne lui-même dans son livre (*Le Bactériophage*, p. 10).

C'est un petit être vivant, sans aucune présomption sur la règne auquel il peut être rattaché. Est-ce une bactérie, un protozoaire, un champignon? Je l'ignore, ses dimensions sont trop réduites pour qu'on puisse résoudre la question par l'observation directe au moyen des instruments optiques actuels. C'est une particule qui se développe aux dépens de la substance des bactéries, capable par conséquent d'assimilation, et qui est cultivable en série *in vitro* sous sa forme filtrante.

Les expériences qu'il apporte à l'appui de sa théorie sont nombreuses, elles semblent exactes. Il est curieux de constater qu'un certain nombre de savants, ont émis d'autres hypothèses, sans soumettre à une vérification préalable maintes expériences fondamentales de d'Herelle.

Celui-ci base sa théorie d'un ultra-microbe sur quatre ordres de faits:

1. Transmissibilité indéfinie en série.
2. Numération possible des éléments bactériophages.
3. Adaptation du bactériophage à certains corps chimiques.
4. Polyvalence du bactériophage.

Examinons-les séparément.

On peut transmettre en série, indéfiniment, le bactériophage. A partir d'un premier tube où la lyse s'est produite on transporte après chauffage ou filtration pour éviter les cultures secondaires, une goutte capillaire dans un second tube contenant une culture jeune du microbe lysable. La lyse se produit. Elle peut être

répétée aussi souvent qu'il plaira. C'est la reprise des expériences de Pasteur en vue d'obtenir des cultures pures et la preuve que le bactériophage est un principe apte à se reproduire.

La numération du bactériophage peut se faire soit en bouillon, soit sur gélose inclinée. En bouillon, par la méthode des dilutions, parmi les plus élevées, on note certains tubes où la lyse ne se fait pas, d'autres où elle est encore positive. Les premiers ne contenaient plus de bactériophage, les autres en avaient conservé un ou deux éléments susceptibles d'ailleurs de déclencher une lyse totale et de fournir, au titrage, un produit d'activité égale à l'activité initiale: autre preuve de la reproduction du bactériophage. Nous avons montré (1912) que la numération sur gélose inclinée est plus sensible que la méthode précédente. La présence du bactériophage se traduit par des "plages claires" petits trous restés stériles au milieu de la nappe de culture homogène. Ce seraient autant de véritables colonies isolées de bactériophage et le fait qu'on puisse numérer un "principe," rend lui faire accorder une forme organisée.

Le bactériophage peut s'adapter à certains antiseptiques, la glycérine en particulier. En soumettant à l'évaporation une émulsion glycinée de bactériophage, de manière à augmenter la concentration on retrouve à la fin de l'expérience le lysat vivant. Il périrait inévitablement dans une solution de glycérine aussi concentrée où il serait transporté d'emblée. On connaît des cas nombreux où les microbes s'accoutument aux antiseptiques: "l'accoutumance est l'apanage exclusif des êtres vivants."

Le bactériophage est un: on entend par là qu'il possède une virulence vis-à-vis de nombreuses bactéries. Quand on isole un bactériophage primitivement actif pour le coli-bacille, on peut l'amener à lyser le bacille typhique par exemple, il n'est pas invraisemblable que des passages suffisamment répétés puissent l'amener à lyser n'importe quelle bactérie.

Tous ces arguments constituent à l'hypothèse de d'Herelle un solide appui. Que lui objecte-t-on? En jetant un regard en arrière sur la masse des documents publiés, rien de probant! Personne n'a versé au débat un fait précis, une expérience décisive qui renverse les conclusions de d'Herelle.

Nous laisserons de côté les théories de Kabeshima et de Salimben basées sur les expériences ou des constatations qui ne sont pas à l'abri des critiques. Bordet injectant dans le péritoine d'un cobaye du coli-bacille retire quelques heures après un exsudat contenant du bactériophage. Il échafaude toute une théorie: celle de l'autolyse microbienne transmissible, bien que les résultats de cette expérience soient irréguliers et que peu d'auteurs aient pu la répéter. La raison en est dans ce double fait: c'est le bactériophage préexistant dans l'intestin du cobaye qu'on retire à la faveur de la lésion minime produite par l'inoculation intrapéritonéale et au surplus la présence de ce bactériophage est irrégulière.

Lisbonne et Carrère ont émis successivement deux théories. Il ont d'abord fait provenir le bactériophage des leucocytes: cette première hypothèse fut infirmée par d'Herelle, (1922a, 1922b). Récemment, ils affirmèrent que le simple jeu d'un antagonisme microbien suffisait pour faire apparaître la lyse en série (1922). En mélangeant du *Bacterium coli* et du bacille de Shiga, en filtrant les cultures obtenues et en faisant un certain nombre de passages, on verrait la lyse se produire. Nous croyons avoir montré qu'il étaient partis de cultures impures, de colonies modifiées parasitées par du bactériophage (1922).

Ces discussions sur la nature du bactériophage présentent un intérêt biologique considérable, mais un autre aspect de la question n'a pas été étudié avec l'ampleur qu'il mérite: c'est le chapitre des applications thérapeutiques, à peine ouvert à l'heure actuelle.

Dans sa première communication d'Herelle annonçait que son principe était capable de préserver le lapin contre une inoculation mortelle de bacille de Shiga. Ces premières expériences furent complétées par d'autres sur la typhose aviaire, le barbone. De la pathologie animale il est passé la pathologie humaine, a traité des dysentériques à l'aide d'ingestions de lysat. Les applications sont limitées, pour le moment, par le nombre encore peu élevé des souches actives qu'on possède: anti-dysentériques et paradydentériques, anti-typhiques et anti-paratyphiques, anti-staphylococcoque, anti-entérococcique, anti-bacterium-coli, anti-bacilli pesteux, anti-vibrion cholérique.

Résumons les résultats apportés par divers expérimentateurs et par nous-mêmes dans les diverses affections traitées. Une importante remarque préjudicielle s'impose: comme le bactériophage représente une médication nouvelle, les statistiques ne sont pas encore assez fournies pour décider s'il est le remède spécifique de la dysentérie ou de telle autre maladie. Nous en sommes à la période d'essai. Une précaution préalable consistera dans l'isolement du microbe en cause et sa mise en présence du bactériophage, qui le lysera ou non *in vitro*. On reconnaît par là les cas favorables, de ceux qui ne sont pas justiciable du traitement. Le mode d'administration le meilleur et la fixation des doses sont encore imparfaitement au point. Dans nos essais personnels nous avons tenté d'établir une posologie mais celle-ci varie en fonction de la virulence des souches.

#### LE BACTÉRIOPHAGE DANS LA DYSENTÉRIE BACILLAIRE

D'Herelle, dans son ouvrage (*Le bactériophage*, p. 211), rapporte sept cas de dysentérie traités par la seule ingestion de lysat. La plupart des malades étaient gravement atteints. 24 à 48 heures après l'absorption de bactériophage par la bouche, l'état général s'améliore, les selles sanglantes disparaissent deviennent moulées et la convalescence s'établit dans les 2-3 jours. Ce sont là des résultats impressionnants. Il paraît que Otto et Munter n'auraient pu les confirmer. Ne connaissant pas leurs observations nous n'en pouvons rien dire.

#### LE BACTÉRIOPHAGE DANS LA FIÈVRE TYPHOÏDE

Au cours d'une épidémie de fièvre typhoïde nous avons pu faire les premiers essais de traitement à l'aide du bactériophage. Le 13 janvier 1922 nous apportons à la Société de Biologie les résultats suivants:

Deux cas chez l'adulte: formes ataxo-adiynamiques; atteinte sévère du myocarde: (a) ingestion de lysat au 8<sup>ième</sup> jour: crise de sueurs dans les deux heures; le surlendemain apyrexie d'une durée de 48 heures; (b) ingestion au 20<sup>ième</sup> jour: pas de modification. Dans les deux cas, reprise et mort.

Deux cas, de typhoïde chez l'adulte: formes ordinaires (a) ingestion au 18<sup>ième</sup> jour défervescence en lysis à partir du 20<sup>ième</sup> jour. (b) ingestion au 9<sup>ième</sup> jour, lysis à partir du 11<sup>ième</sup> jour. Crise de sueur dans les deux cas deux heures après l'ingestion. Convalescence.

Un cas de typhoïde chez l'enfant: forme grave. Bactériophage par les deux voies au 20<sup>ième</sup> jour: Le surlendemain, l'apyrexie, nette et durable, succède aux températures élevées (un autre cas à association anaérobie parable n'a pas été influence).

Deux cas de para-typhoïde B chez l'enfant: (a) Etat grave, bactériophage par les deux voies au 9<sup>ième</sup> jour, apyrexie nette et durable le lendemain, (b) forme ordinaire, administration au 23<sup>ième</sup> jour; apyrexie à partir du surlendemain.

Le résultats de ces 7 cas ne sont pas encore probants. Il semble bien que le bactériophage ait exercé une action favorable, mais nous pensons que le échecs sont dus, partie à une intervention trop tardive, partie à la faiblesse des doses administrées. Jusque là nous avons donné deux centimètres cubes au plus. Deux enfants atteints d'infection sévère sont traités par 5 cc. per os et 1 cc. sous la peau, l'un au 10<sup>ième</sup> jour, l'autre au 14<sup>ième</sup> jour. Dans les deux cas, obnubilation et température élevée font place dans les 48 heures à la défervescence durable et à une euphorie marquée.

Un 3<sup>e</sup> cas, traité énergiquement chez un sujet de 24 ans, nous a procuré au 18<sup>ième</sup> jour, en 3 jours, une défervescence nette et durable avec euphorie marquée (bien qu'au prix d'une réaction thermique un peu vive).

Si ces essais n'apparaissent pas comme décisifs, ils révèlent cependant une coïncidence impressionnante entre l'administration de lysat et une amélioration évidente. La réunion d'un grand nombre de cas apportera, croyons-nous, la preuve de l'efficacité du bactériophage dans le traitement de cette infection.

#### INFECTION À STAPHYLOCOQUES

Bruynoghe et Maisin ont été les premiers à appliquer le bactériophage dans les infections à staphylocoques (1921). Il se sont adressés à des malades atteints, soit de furonculose,

soit d'anthrax. Aussi près que possible de la région malade ils injectent 0.5 cc. à 2 cc. de lysat. L'empâtement diminue rapidement et les lésions disparaissent en 24 ou 48 heures.

Gratia (1922) a publié les résultats obtenus par lui. Dans les cas d'abcès et de furoncles le processus de guérison est notablement accéléré par l'administration de lysat. Le pus est évacué rapidement parfois même se résorbe sans laisser de cicatrices. Nous avons, de notre côté, tenté des essais qui seront publiés quand nous estimerons avoir réuni un nombre suffisant d'observations pour pouvoir fixer la posologie et le mode d'administration de ce mode de traitement. D'ores et déjà nous indiquerons qu'au lieu d'un bactériophage anti-staphylocoque doré unique, nous utilisons un mélange de bactériophages spécialement et séparément exaltés: anti-staphylocoque-doré, anti-staphylocoque-blanc et anti-entérocoque. Nous ménageant ainsi plus de chances d'arriver à un résultat favorable au cas d'une infection polymicrobienne éventuelle. Nous prenons toujours soin (ici encore) de faire un essai de lyse in vitro du microbe isolé. Cette précaution nous a d'ailleurs conduits à la constatation que les germes isolés d'infections chroniques sont fréquemment résistants à la lyse.

Nos résultats, d'une manière générale, concordent avec ceux de Bruyngoghe et de Gratia.

En somme, si les travaux accumulés n'ont pas indiscutablement mis en lumière la nature du bactériophage, il n'en importe pas moins de s'engager sans tarder dans la voie, qui promet d'être fertile, des applications thérapeutiques étendues et variées.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BECKERICH ET HAUDUROY 1922a Le Bactériophage dans le traitement de la fièvre typhoïde. *Compt. rend. Soc. de biol.*, **86**, 168.  
 BECKERICH ET HAUDUROY 1922b Au sujet du titrage du bactériophage. *Compt. rend. Soc. de biol.*, **86**, 165.  
 BECKERICH ET HAUDUROY 1922 Au sujet de l'obtention de bactériophage par antagonisme microbien. *Compt. rend. Soc. de biol.*, **86**, 881-882.  
 BORDET 1921 *Compt. rend. Soc. de biol.*, **84**, 745.  
 BRUYNOGHE ET MAISIN 1921 *Compt. rend. Soc. de Biol.*, **85**, 1120.  
 D'HERELLE 1921 *Le Bacteriophage*, p. 8.



- D'HERELLE 1922a Sur la présence du Bactériophage dans les leucocytes. *Compt. rend. Soc. de biol.*, **86**, 477.
- D'HERELLE 1922b Sur la prétendue production d'un principe lytique sous l'influence d'un antagonisme microbien. *Compt. rend. Soc. de biol.*, **86**, 663.
- DUCLAUX 1898-1901 *Traite de Microbiologie*, **2**, 721.
- GILDEMEISTER 1916 Ueber Variabilitätserscheinungen des Typhus bacillus die bereits siner Isolierung aus dem infirzierten Organismus auftreten. *Centralblatt f. Bakt., I Abt., Orig.*, **78**, 209.
- GILDEMEISTER 1917 Weitere Mitteilungen über Variabilitätserscheinungen bei Bakterien die bereits bei ihrer Isolierung aus dem Organismus zu beobachten sind. *Centralblatt f. Bakt., I Abt., Orig.*, **79**, 49-62.
- GRATIA 1922 *Compt. rend. Soc. de biol.*, **86**, 276-278.
- HANKIN 1896 *Annales de l'Institut Pasteur*, **10**, 511-523.
- HOWARD 1920a Action lytique du sérum humain sur les bacilles du groupe typhique. *Compt. rend. Soc. de biol.*, **83**, 1204-1205.
- HOWARD 1920b Action lytique des serums humains vis-à-vis du Bacille d'Eberth et virulence de cette Bacterie, *Ibid.*, 1266-1267.
- LISBONNE ET CARRÈRE 1922 Antagonisme microbien et lyse transmissible du bacille de Shiga. *Compt. rend. Soc. de biol.*, **86**, 569-570.
- TWORT 1915 An investigation on the nature of the ultramicroscopic viruses. *Lancet*, **189**, Part II, 1241-2143.