



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère De l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : Biologie

OPTION: Microbiologie générale

Thème

**RECHERCHE DES BACTERIOPHAGES
LYTIQUES DANS LES EAUX USEES ET
IDENTIFICATION DE LEUR BACTERIES
HOTES.**

Présenté par :

**MIRA DOUNIA
NOUAR HALIMA
SABAG SARA**

Soutenu le /09/2020

Jury de soutenance

Président :	M^{me} NAILI O. (M.C.B)	Univ. Abbès Laghrouour – Khenchela
Encadreur :	M^{elle} CHORFI K. (M.A.A)	Univ. Abbès Laghrouour – Khenchela
Examineur :	M^{elle} HANOUN S. (M.A.B)	Univ. Abbès Laghrouour – Khenchela

2019/ 2020

DEDICACES

A mes chers parents ma **mère** et mon **père**.

Pour leur patience leur amour leur sacrifice et leur précieux conseil qui m'ont conduit à la réussite dans tous ce que je fais

A mon cher **MARI**

Pour tout l'encouragement le respect que tu m'as offert je te remercie pour ton soutien inconditionnel

A mes chers enfants **RAFAF, ELINE, TAIM**

A mes chères sœurs, et mon très cher frère **ISLAM**

A mon trinôme **DOUNIA** et **HALIMA** pour leur soutien moral, leur patience et leur compréhension tout au long de ce projet.

Dédicaces

Avec joie et honneur, je dédie cet humble travail à :

A ma grand-mère «Baka»:

C'est à la personne la plus idéale dans ce monde, que je le dédie C'est vrai quelle n'est pas avec nous pour récolter le fruit de ses sacrifices, mais, elle reste toujours la plus présente.

*D'un cœur plein d'amour et de fierté, je dédie ce modeste travail a mes deux bougies qui brûlent pour m'éclairer le chemin: ma mère «**Khira**» qui m'a élevé, éduqué et sacrifie tout les belles années de sa vie pour moi, et à mon père «**Mokhtar**» qui n'a jamais cessé de combattre pour me voir réussir un jour, que dieu les protège pour nous.*

*A la prunelle de mes yeux : **Fayez***

*A mes frères: **Fares, Fouad***

*A mes chères sœurs : **Ibtissem et Nadia***

*A mes poussins: **Rinad & Djawad***

*A toute la famille **NOUAR & CHAABI***

A celle que j'aime et j'admire, ma meilleure amie Dounia, tu es pour moi plus qu'une sœur tu es l'exemple de l'amitié et de la fidélité.

A toutes mes enseignants et mes amies chacun avec son nom.

HALIMA



Dédicaces

Je dédie le fruit de mes efforts à :

*Celui qui travaille le jour et la nuit, à celui qui rêve toujours qu'on soit parmi les cadres du pays, mon père « **Houcine** » dont je suis fière.*

*Celle qui m'a donné l'envie de rêver, et le souffle pour travailler très dur pour réaliser mon rêve, ma mère « **Salima** » que j'admire énormément.*

A :

*La prunelle de mes yeux **Akram***

*Mon frère : **Housseem et Achraf** que j'adore et je respecte La fleur de mon cœur*

*Mes intimes : **Aya, Salima , Souad et sara***

*Et plus particulièrement à **Halima**, Tu as été pour moi durant ces années plus qu'une amie, une sœur. Toute ma gratitude et ma sympathie.*

*Spécialement à toute la famille « **MIRA** » et*

*« **AHMIDATOU** »*

Sans oublier tous mes collègues de travail de lycée

*« **KHALEF BACHIR** »*

DOUNIA





Remerciements

En premier lieu, nous tenons à manifester notre louange à Dieu par aisance et excellence de nous avoir donné la volonté et la santé pour pouvoir achever ce travail, veuille-t-il nous guider toujours dans le droit chemin.

Nous tenons tout d'abord à adresser toute notre gratitude et remerciements à :

Dr. NAÏLI O, Maître de conférences à l'Université Abbés Laghrour Khenchela qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury. On l'en remercie profondément.

Dr. HANOUN S, Maître assistant à l'Université Abbés Laghrour Khenchela, nous vous sommes très reconnaissantes d'avoir accepté d'examiner ce travail et de l'enrichir par vos remarques et propositions.

Notre encadreur Dr. CHORFI K D'avoir dirigé ce travail et surtout pour sa collaboration et ses conseils précieux.

Nos plus sincères remerciements

Aux enseignants de la filière du la microbiologie appliqué

Ainsi que tout le personnel du

Département et de la faculté des sciences de la vie et de

La nature de l'université de laghrour Abbes Khanchela

ET

*A tout l'équipe du laboratoire de microbiologies particulier M^{me}
SARA l'ingénieur de laboratoire de microbiologie*

*Que tous ceux qui nous ont aidés trouvent ici l'expression de notre
Gratitude.*

Table des Matières

Tables des Figures	i
Table des Tableaux	ii
Liste des Abréviations	iii

Revue bibliographique

Introduction	02
--------------------	----

Chapitre I : Les bactériophages

I. Biologie des bactériophages	05
I.1. Définition des Phages	05
I.2. Structure et morphologie des bactériophages	05
I.3. Génome viral	06
I.4. Diversité des capsides	07
I.5. Classification des bactériophages	07
I.5.1. Familles des bactériophages	08
I.5.2. Genres des bactériophages.....	09
I.5.3. Espèces des bactériophages	10
I.6. Cycle infectieux du bactériophage	10
I.6.1. Cycle lytique des bactériophages	11
I.6.1.1. Arrimage	12
I.6.1.2. Pénétration	12
I.6.1.3. Expulsion du matériel génétique	12
I.6.1.4. Réplication	12
I.6.1.5. Assemblage et libération des phages	13
I.6.2. Cycle lysogène (phages tempérés)	13
I.7. Habitat des phages	14
I.8. Résistance microbienne aux phages	15
II. Ecologie et intérêt environnemental des bactériophages	15
II.1. Importance écologique de bactériophages	15
II.2. Reproduction et intérêt environnemental des phages	15
II.3. Recyclage des nutriments et influence sur le climat	16
III. Techniques de détection et de quantification des phages	16

III.1. La technique de plages de lyse	16
III.2. La microscopie électronique en transmission (MET)	17
III.3. Microscopie à épifluorescence ME	18
III.4. Cytométrie en flux	18
III.5. Les techniques d'amplification de gène	18
III.5.1. PCR (polymérase Chain reaction) et RT-PCR (reverse transcription PCR)	18
III.5.2. PCR et RT-PCR quantitative	19
Chapitre II : Application des bactériophages	
I. Domaines d'utilisation des bactériophages	21
I.1. Utilisation en médecine	21
I.2. Utilisation dans le traitement des infections à biofilm	21
I.3. Utilisation en agro-alimentaire	22
I.4. Désinfection des surfaces inertes.....	22
I.5. Applications vétérinaires.....	22
I.6. Le traitement des eaux usées.....	23
I.7. L'agriculture.....	23
I.8. Effet des phages sur l'explosion respiratoire	23
II. La phagothérapie	24
II.1. Historique	24
II.2. Définition de la phagothérapie.....	26
II.3. Principe et thérapie	26
II.4. Obtention de bactériophages thérapeutiques	27
II.4.1. Phagothèque	27
II.4.2. Préparation des suspensions phagiques	28
II.4.2.1. Propagation	28
II.4.2.2. Purification.....	29
II.4.2.3. Numération.....	29
II.4.2.4. Phagogramme	30
III. Bactériophages et Antibiotiques	30
Conclusion générale	33
Références bibliographiques	
Résumés	

LISTE DES FIGURES

Figure 01	(A) Différents types morphologiques chez les bactériophages. (B) Membres des la famille des <i>Caudovirales</i>	06
Figure 02	Représentation schématique de la majorité des phages, selon la classification de Baltimore.....	08
Figure 03	Schéma du cycle lytique	11
Figure 04	Schéma d'un cycle lysogénique	13
Figure 05	Schéma du protocole utilisé dans la technique de plages de lyse	17
Figure 06	Photographie de bactériophages après coloration négatif et observés en MET	18
Figure 07	Frise chronologique retraçant les grandes phases de la découverte des phages et de leur utilisation en biologie moléculaire et en tant qu'agents antibactériens	25
Figure 08	Composition de la phagohèque de l' « Institute of Immunology and Experimental Therapy » en mai 2011	27
Figure 09	Ampoule contenant des bactériophages déshydratés	28
Figure 10	Visualisation sur boîte de Pétri des plages de lyse	29
Figure 11	Résultat d'un « phagogramme » réalisé sur E. coli	30

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	Les principales familles de bactériophages	09
Tableau II	Caractéristiques respectives de la phagothérapie et de l'antibiothérapie...	31

LISTE DES ABREVIATIONS

ATUn	Autorisation Temporaire d'Utilisation nominative
CIRI	International de Recherche en Infectiologie
CRISPR	Clusters of regularly inter spaced short palindromic repeats
CSST	Comité Scientifique Spécialisé Temporaire
DMS	les matières en suspension
ds	double brin
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
FDA	Food and Drug Administration
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
IET	of Immunology and Experimental Therapy
IOA	Infections ostéoarticulaires
GRAS	Generally Recognized As Safe
MAP	<i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i>
MES	les matières en suspension
MOI	Multiplicity Of Infection
NK	cellules tueuses naturelles
PCR	polymérase Chain reaction
PFU	plage formant unité
RT-PCR	reverse transcription PCR
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
SS	simple brin

Introduction

générale

Introduction générale

Les eaux usées urbaines contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales. Cette flore entérique normale est accompagnée d'une grande variété d'agents pathogènes pour l'homme (virus, bactéries et parasites). Elles présentent de ce fait un intérêt particulier pour la santé publique du fait qu'elles reflètent le niveau d'infestation des populations humaines et animales où elles prennent naissance (**Rodier, 1996**).

De nombreux virus sont susceptibles d'être véhiculés par le milieu hydrique surtout dans les eaux usées. Parmi ceux-ci, nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux bactériophages. Le terme de bactériophage, ou plus simplement phage, désigne les virus de bactéries. Comme c'est le cas pour tous les virus, les bactériophages sont incapables de se multiplier de manière autonome. (**Ackermann, 2012**). Ils doivent s'intégrer physiquement à un hôte spécifique, dans le cas présent une bactérie-hôte, dont le métabolisme est détourné au profit de leur multiplication intracellulaire (**André et al., 2008**).

Les bactériophages envahissent donc uniquement et spécifiquement des cellules bactériennes (bactériophage signifie littéralement "qui se nourrit de bactéries"). Ils sont très spécifiques ; ils infectent en général une seule espèce de bactérie et même souvent seulement certaines souches de l'espèce. Ils ont été découverts et décrits pour la première fois en 1915 par Twort puis en 1917 par d'Herelle. Depuis cette époque, des milliers de phages différents ont été identifiés et observés au microscope électronique. Ces virus des bactéries forment ainsi le plus grand groupe viral (**Ackermann, 2012**).

Face à l'augmentation des infections impliquant des bactéries multirésistantes, le besoin de nouveaux traitements antibactériens efficaces est de plus en plus impérieux. Parmi les différents traitements envisagés pour éviter la menace d'une « ère post-antibiotiques », la phagothérapie ou la thérapie phagique apparaît comme un candidat particulièrement intéressant (**Magali et al., 2014**). En effet la phagothérapie est la mise en pratique médicale de virus de bactéries appelés bactériophages, ou plus communément phages, contre les infections bactériennes. Dans les pays en voie de développement et particulièrement en Algérie, la phagothérapie pourrait contribuer à lutter efficacement contre les bactéries multirésistantes.

L'objectif principal de notre étude était la mise en évidence des bactériophages dans les eaux usées de la wilaya de Khenchela en utilisant la méthode de plages de lyse. Nous avons aussi

projeté d'identifier les différentes bactéries hôtes de ces phages et d'évaluer leur profil de résistance aux antibiotiques.

Malheureusement, avec la situation actuelle de la pandémie au COVID 19 et l'état de confinement imposé par l'état depuis le mois de mars, la partie pratique de cette étude a été annulée et on a été contraint de se contenter d'une recherche bibliographique sur les travaux antérieurs ayant la même thématique que la notre.

Ce mémoire comporte trois parties. La première s'intéresse aux généralités sur les bactériophages. La seconde partie est consacrée aux les applications des bactériophages et plus particulièrement en milieu médical et finalement une conclusion et des perspectives de recherche.

Chapitre I
Les bactériophages

I. Biologie des bactériophages

Les bactériophages ont été découverts indépendamment par le bactériologiste anglais Frederick Twort en 1915 et par le biologiste canadien Félix d'Hérelle en 1917 qui les baptisa « bactériophages ».

I.1. Définition des Phages

Les bactériophages ou phages sont des virus parasites des cellules procaryotes que sont les bactéries. Ils sont généralement très spécifiques d'une espèce de bactérie, voire de seulement quelques individus au sein de cette espèce. Par contre, plusieurs bactériophages différents peuvent être spécifiques d'une même bactérie. La quantité de bactéries sur la terre est estimée au total à environ 5×10^{30} cellules bactériennes (**Dublanchet et Patey, 2011**).

Étant donné que toutes les bactéries connues peuvent être infectées par plus d'une espèce de virus, les phages représenteraient l'entité biologique la plus abondante et la plus variée sur la terre. L'estimation actuelle de la quantité de bactériophages existants est comprise entre 10^{30} et 10^{32} . On a identifié à l'heure actuelle plus de 5 500 phages différents (entre 5000 et 6000, ce qui représenterait apparemment 10 % seulement des phages existants (**Biofutur et GEEPhage, 2013**), classés à partir de leur morphologie, de leur composition et de leur spécificité d'hôte bactérien (**Dublanchet, 2009**).

La thérapie qui utilise les phages pour traiter les infections bactériennes est appelée phagothérapie. Elle est une approche thérapeutique encore assez peu utilisée, mais d'une redoutable efficacité contre les bactéries (**Hegel, 2014**).

I.2. Structure et morphologie des bactériophages

La taille des bactériophages varie de quelques dizaines à quelques centaines de nanomètres. La plupart des phages sont pourvus d'une capsid (une tête) renfermant le matériel génétique (*de* l'ADN double brin dans plus de 95 % des cas). Cette capsid est un assemblage de sous-unités protéiques appelées capsomères qui forment une structure géométrique parfois complexe. Il existe des capsides à symétrie cubique se présentant souvent sous la forme d'un icosaèdre pouvant parfois devenir presque circulaire et d'autres de symétrie hélicoïdale. (Figure 01) (**Gneaggi, Sozzi, 1984**).

Certains virus adoptent une symétrie dite binaire avec une tête de symétrie cubique et une queue de symétrie hélicoïdale. À l'extrémité de cette queue (plus ou moins longue et souple, parfois rétractile) sont placés les sites de reconnaissance des récepteurs de la cellule hôte. Si la présence d'une enveloppe protectrice est fréquente chez les virus des eucaryotes, elle est très rare chez les bactériophages. Seuls les *Plasmaviridae* qui infectent des bactéries du genre *Mycoplasma*, les *Cystoviridae* qui infectent des bactéries du genre *Pseudomonas*, ou encore les

Lipothrixviridae qui infectent certaines archéobactéries du genre *Thermoproteus* possèdent une enveloppe lipidique. (Figure 01). (Skraber, 2003)

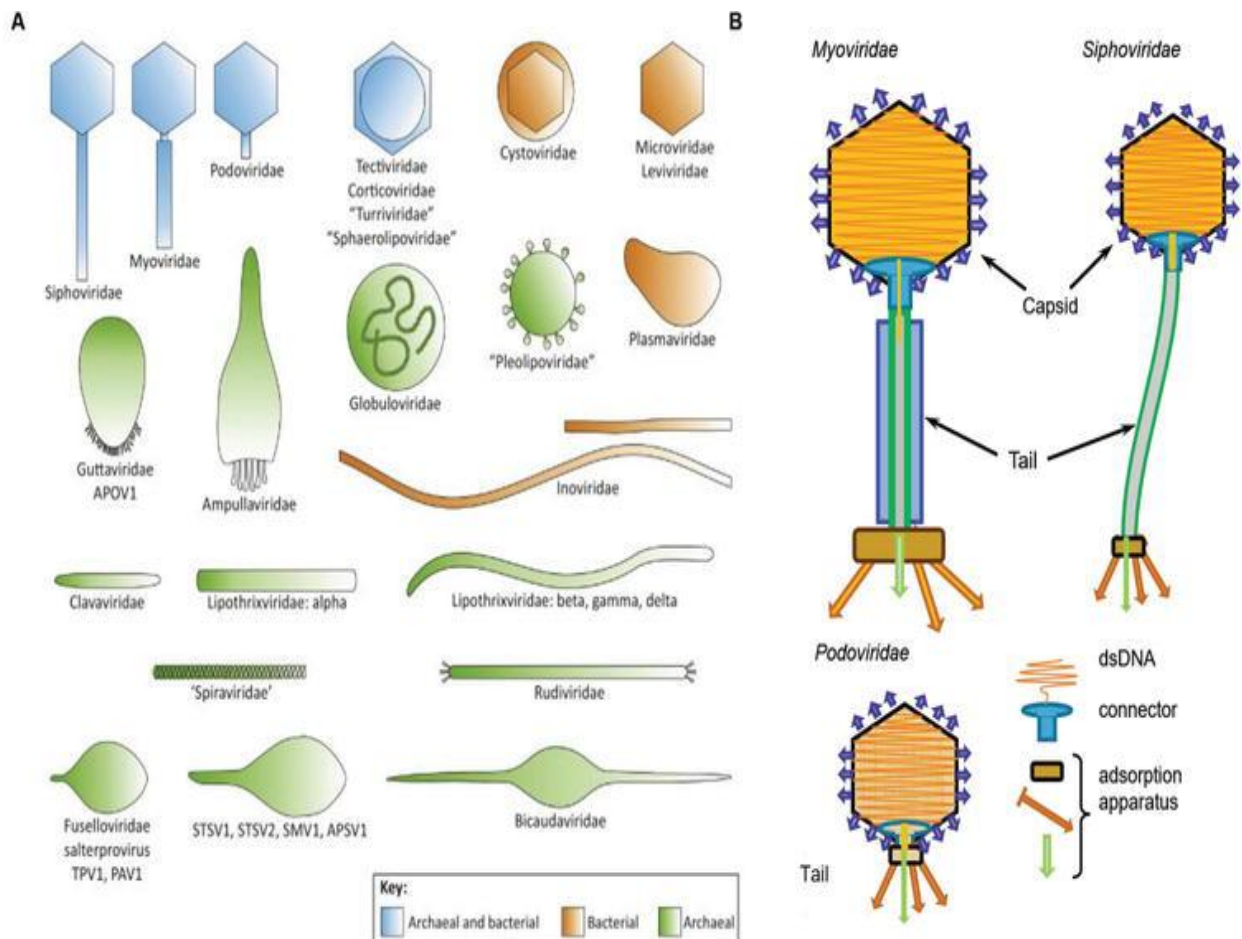


Figure 01 : (A) Différents types morphologiques chez les bactériophages. (B) Membres de la famille des *Caudovirales*. (Orlova, 2012).

I.3. Génome viral

L'information génétique portée par le génome viral est à l'origine de la synthèse des protéines virales. Ce dernier est constitué d'une molécule d'acide nucléique (ADN ou ARN) qui peut être bicaténaire (double brin) ou monocaténaire (simple brin), segmenté ou non, mais également linéaire ou circulaire. La majorité des phages connus ont une molécule d'ADN bicaténaire. La taille du génome, qui varie de plusieurs dizaines à quelques centaines de paires de bases, est directement liée à la complexité morphologique du phage. Deux types de protéines sont codées par le génome et indispensables lors de la multiplication intracellulaire du phage: les protéines structurales et les protéines non structurales. Depuis la fin du 20^e siècle, environ 200 génomes phagique ont été séquencés (Magin, 2019).

I.4. Diversité des capsides

La capside, est une coque de nature protéique qui entoure le génome et est capable d'assurer sa protection et sa persistance dans le milieu extérieur. Selon l'architecture de la capside, quatre types de symétries sont représentées parmi les phages :

- Symétrie hélicoïdale : la capside est cylindrique. Les bactériophages ont alors une forme de filaments ou de bâtonnets,
- Symétrie cubique ou icosaèdre : la capside est à symétrie icosaédrique. Les bactériophages peuvent alors apparaître sphériques,
- Symétrie binaire ou phage caudé : la capside ou « tête » est à symétrie icosaédrique et la « queue » est à symétrie hélicoïdale,
- Symétrie complexe : la capside est de forme très diverse, on parle alors de phage pléomorphe, Les variations de forme, de taille, de symétrie dans la morphologie des phages permettent de les classer en sept groupes différents, eux- mêmes scindés en vingt et un sous-groupes, parfois composés d'éléments très polymorphes (**Magin, 2019**).

I.5. Classification des bactériophages

Comme l'appartenance des virus au monde vivant est toujours sujette à débat, leur classification n'est pas intégrée à celle réalisée pour les êtres vivants. Actuellement deux classifications sont utilisées dans la taxonomie virale. Ces deux méthodes de classifications ne s'excluent pas mutuellement, et il est tout à fait possible de les utiliser conjointement. (**Neurohr, 2016**).

- La classification Baltimore, du nom de son inventeur, David Baltimore, et qui se base sur la nature du matériel génétique viral (ADN ou ARN) et sur son mode d'expression. (**Figure 02**)
- La classification de l' « International Committee on Taxonomy of Viruses » (ICTV), qui est assez proche de la classification habituelle utilisée pour êtres vivants, et qui classe les virus en ordre, famille, sous-famille, genre et espèce. Les critères de classification sont :
 - La nature de l'acide nucléique (ADN ou ARN)
 - La forme de la capside (hélicoïdale, icosaédrique ou mixte)
 - La présence ou l'absence d'enveloppe (péplos). (**ICTV, 2012**)

La taxonomie est établie par le Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV). Les virus bactériens connus aujourd'hui, ont pour hôte 179 genres bactériens et sont regroupés dans 10 familles. Un seul ordre (*Caudovirale*) rassemble trois des familles (*Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae*) auxquelles appartiennent 95 % des phages décrits. Les autres phages sont répartis dans 7 autres familles isolées. Les phages d'intérêt pour la phagothérapie

appartiennent très majoritairement à deux familles seulement (*Myoviridae* et *Siphoviridae*). Un appendice caudal, contractile ou non, assure l'injection du génome viral dans la bactérie. (Ackermann, 2012).

Les bactériophages de l'ordre des *Caudovirales* présentent une structure dite « à symétrie binaire » ou « caudée », c'est-à-dire se composant d'une tête et d'une queue identifiables.

5 % des phages n'appartenant pas à l'ordre des *Caudovirales* présentent une structure à symétrie non binaire qui peut être soit cubique, soit hélicoïdale, soit complexe.

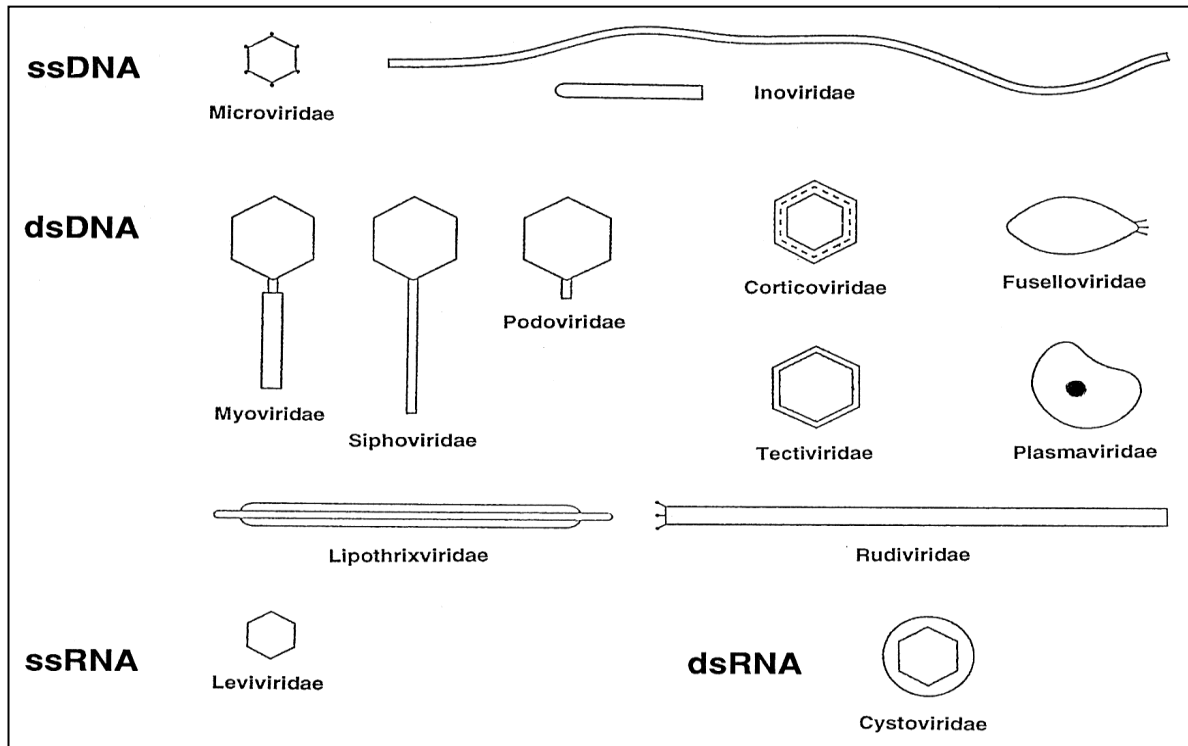


Figure 02 : Représentation schématique de la majorité des phages, selon la classification de Baltimore (ssDNA = ADN simple brin ; dsDNA = ADN double brin ; ssRNA = ARN simple brin ; dsRNA = ARN double brin). (Ackermann, 2003).

I.5.1. Familles des bactériophages

Grâce à l'émergence de travaux sur la génomique et la protéomique comparative des phages, le concept de sous-famille a été très récemment adopté par l'ICTV (**Tableau I**).

En effet, la création d'une sous-famille est essentiellement basée sur les relations évolutives des génomes entre phages appartenant à une même famille. Les sous-familles alors définies portent en commun le suffixe « *virinae* ». Ainsi, dans l'ordre des *Caudovirales*, la famille des *Podoviridae* qui contient 11 genres différents, présentent maintenant deux sous-familles ; les *Autographivirinae* et les *Picovirinae* dans lesquelles sont classés respectivement trois et deux genres différents. Les autres genres font partie de la famille des *Podoviridae* mais

n'ont pas encore de sous-famille attribuée. *Gokushovirinae* est la troisième sous-famille qui a été créée et qui appartient à la famille des *Microviridae* (Famille dont l'ordre est Non Attribué).

Tableau I: Les principales familles de bactériophages (**Dublanchet, 2009**)

Symétrie	Ac. Nucléique	Famille	Genre	Exemple	Espèce	Particularités	
Binaire ou caudé	ADN, db, L	<i>Myoviridae</i>	6	T4	1243	Queue contractile	
	ADN, db, L	<i>Siphoviridae</i>	6	λ	3011	Queue longue et non contractile	
	ADN, db, L	<i>Podoviridae</i>	3	T7	696	Queue courte	
Cubique ou polyédrale	ADN, sb, C	<i>Microviridae</i>	4	ϕ X174	40		
	ADN, db, C, E	<i>Corticoviridae</i>	1	PM2	3?	Capside complexe, lipidique	
	ADN, db, L	<i>Tectiviridae</i>	1	PRD1	18	Vésicule interne (lipoprotéine)	
	ARN, sb, L	<i>Leviviridae</i>	2	MS2	39		
	ARN, db, L, S	<i>Cystoviridae</i>	1	ϕ 6	1	Enveloppe lipidique	
	Hélicoïdal ou filamenteux	ADN, sb, C	<i>Inoviridae</i>	2	fd	57	Filamenteux ou allongés
		ADN, db, L	<i>Lipothrixviridae</i>	1	TTV1	6?	Enveloppe lipidique
ADN, db, L		<i>Rudiviridae</i>	1	SIRV1	2	Ressemble au TMV	
Complexe ou pléiomorphe	ADN, db, C, E	<i>Plasmaviridae</i>	1	L2	6	Enveloppe lipidique, pas de capsid	
	ADN, db, C, E	<i>Fuselloviridae</i>	1	SSV1	8?	Fusifforme, pas de capsid	
TOTAL					5130		

Sb : simple brin, db : double brin, C : circulaire, L : linéaire, E : super-enroulé, S : segmenté

I.5.2. Genres des bactériophages

Les familles et sous-familles pour certains, sont ensuite subdivisées en genres. Le nombre de genres par famille est variable selon la quantité des phages qui la composent. Ainsi, les phages caudés, les plus nombreux, appartenant à l'ordre des *Caudovirales*, se répartissent au sein de 28 genres. Le nom de genre des familles de ces phages est assez particulier. En effet, leur nom correspond à l'espèce de phage la plus connue du genre. Par exemple, les phages de la famille

des *Myoviridae* comptent huit genres. Parmi eux le genre des phages de Type-T4, porte le nom du phage T4 correspond à l'espèce type la plus connue de ce genre.

En ce qui concerne les 18 familles n'appartenant à aucun ordre attribué, dix d'entre elles ne compte qu'un seul genre dont le nom correspond à celui de la famille suivi du suffixe « -virus » à la place de « -viridae » (exemple ; famille : *Corticoviridae* - genre unique : *Corticovirus*) et le genre *Salterprovirus* est l'unique genre présentant une famille Non Attribué à ce jour parmi les 18 familles.

I.5.3. Espèces des bactériophages

Le nom d'espèce des phages ne répond à aucune règle de nomenclature. Cependant la notion d'espèce virale a été introduite par l'ICTV afin de transposer le concept des autres virus aux bactériophages. Ainsi une espèce virale correspond à une classe de virus occupant une niche écologique particulière et constituant une lignée répliquative. Les critères utilisés sont diverses et font intervenir la morphologie, la composition en protéines, la structure de l'ADN, l'homologie nucléotidique, le spectre d'hôte et le type du cycle infectieux développé.

I.6. Cycle infectieux du bactériophage

On discerne trois types de bactériophages : les phages dits « virulents » ou « lytiques », représentant près de 90 % des bactériophages, ceux dits « tempérés » ou « endogènes » représentant environ 10 % et ceux dits « filamenteux », bien plus minoritaires (moins d'1 %). Parmi tous les bactériophages existants, les plus étudiés sont les phages virulents (exemple du phage T4) et les phages tempérés (exemple du phage λ) (**Dublanchet, 2009**).

L'injection de l'acide nucléique du phage au sein de la cellule hôte conduit à deux parcours :

- Soit le phage intègre son ADN au génome de la bactérie. Le phage est appelé prophage et la bactérie est dite lysogène, elle poursuit son cycle de répliquon c'est le cycle lysogène
- Soit la bactérie arrête de se multiplier et procède à la construction des particules virales, c'est le cycle lytique. Au bout d'un certain temps, la bactérie éclate et libère de nombreux bactériophages qui peuvent, à leur tour, attaquer d'autres bactéries, c'est la lyse.

La différence principale entre les deux principaux types de phages (virulents et tempérés) réside dans leur comportement vis-à-vis de la bactérie après intrusion : un phage lytique va directement détruire la bactérie, tandis qu'un phage tempéré va intégrer son génome à celui du chromosome bactérien, rester « silencieux » un temps et se multiplier avec lui (**Inal, 2003**). Le passage du cycle lysogène au cycle lytique est l'induction. (**Gneaggi et Sozzi 1984**).

Le troisième type de phages existant, appelé phage filamenteux sont rares et son cycle, nommé cycle chronique, non exploitable pour la phagothérapie (comme le cycle lysogène). Après pénétration dans la bactérie hôte, ce phage ne va pas la lyser mais va produire en continu de nombreux phages par bourgeonnement de la membrane bactérienne (Ackermann, 2003).

Il existe un quatrième type de cycle de reproduction, nommé pseudo-lysogénie. Il s'agit d'un intermédiaire entre les cycles lytiques et lysogéniques, au cours duquel le génome viral ne s'intègre pas au génome de la cellule hôte, et demeure latent dans le cytoplasme. Ce cycle reste encore mal compris (Grossi, 2006).

I.6.1. Cycle lytique des bactériophages

Contrairement aux phages tempérés, les bactériophages virulents possèdent la capacité de se multiplier selon leur propre rythme, et non pas au gré des divisions bactériennes. La reproduction d'un tel phage permet d'engendrer simultanément plusieurs dizaines de virus tous identiques. Un cycle lytique complet prend quelques minutes à maximum une heure pour se réaliser (Figure 03).

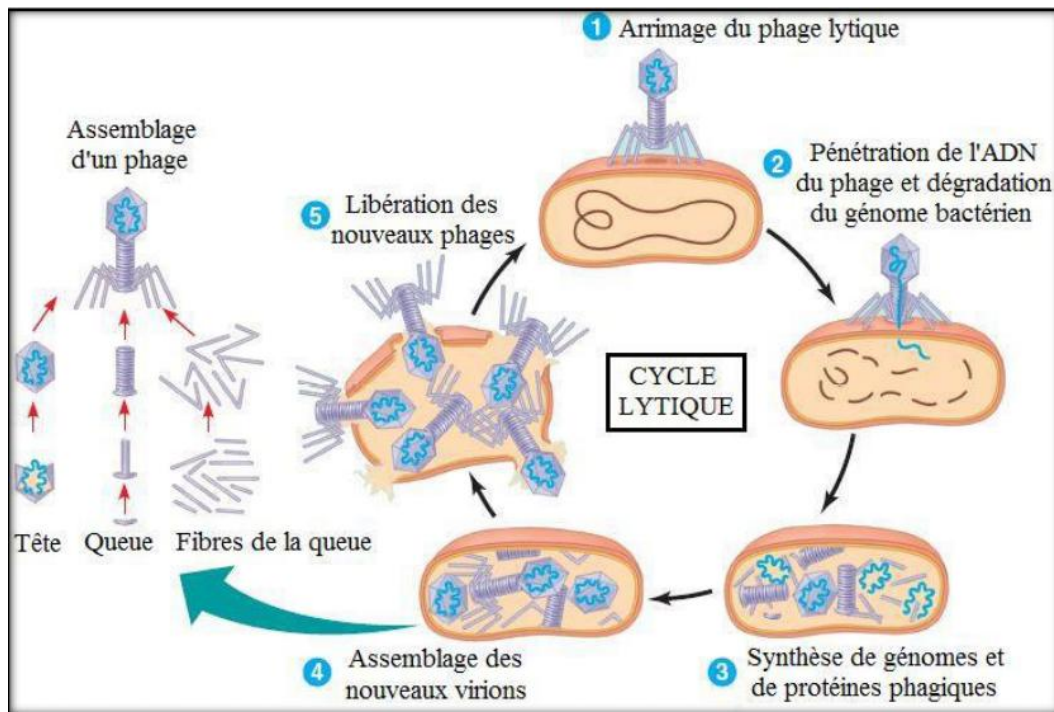


Figure 03 : Schéma du cycle lytique (Dublanche, 2009)

À côté de cela, la réplication bactérienne ne permet, dans les conditions optimales, de générer que deux bactéries filles toutes les demi-heures chez les espèces bactériennes à développement rapide. Cette réplication dichotomique bactérienne n'est pas en mesure de résister à une lyse par les dizaines, et même les centaines de bactériophages produits lors de leur

réplication. Une colonie bactérienne entière même abondante est ainsi rapidement détruite par le nombre de bactériophages à croissance exponentielle (**Dublanchet, 2009**).

Les étapes du cycle lytique sont :

I.6.1.1. Arrimage

La rencontre d'un bactériophage et d'une bactérie est un phénomène aléatoire. La probabilité que les fibres de queue d'un phage rencontrent leur récepteur sur leur bactérie cible est donc dépendante de la proportion de phages et de bactéries dans le milieu. Une fois cette rencontre effectuée, les fibres du phage vont se fixer à la bactérie cible via un récepteur spécifique situé à l'extérieur de la bactérie. Selon le phage, ces récepteurs bactériens vont être situés à des endroits différents : sur les pili s'il s'agit d'un phage appartenant à la famille des *Leviviridae*, sur la paroi si le phage appartient à l'ordre des *Caudovirales* par exemple.

Cette étape, l'arrimage, est primordiale car d'elle dépend toute la suite de l'action des bactériophages. Cette liaison entre les fibres de la queue du phage et les récepteurs bactériens est une liaison forte qui va permettre au phage de mettre en contact sa plaque terminale avec la paroi de la bactérie (**Dublanchet, 2009**).

I.6.1.2. Pénétration

Une fois solidement arrimé, une enzyme virale (endolysine) perce un trou dans la paroi cellulaire de l'hôte et la base de la queue du virus entre en contact avec la membrane cytoplasmique bactérienne. Il en résulte la perforation d'orifices dans la membrane suivie d'une contraction de la queue qui va permettre l'introduction dans le cytoplasme bactérien du génome viral (**Dublanchet, 2009**).

I.6.1.3. Expulsion du matériel génétique

Il y a alors immédiatement exportation de l'acide nucléique empaqueté dans la capsid du phage vers le cytoplasme de la bactérie. Vidée et sans objet, la capsid virale reste à l'extérieur de la bactérie (**Dublanchet, 2009**).

I.6.1.4. Réplication

Une fois à l'intérieur, le génome viral détourne le métabolisme cellulaire à son service. En premier lieu, une nucléase fragmente l'ADN bactérien en segments inutiles. Toute la machinerie cellulaire de la bactérie est détournée au profit de la néosynthèse virale : l'acide nucléique phagique est transcrit en ARNm puis traduit en protéines (enzymatiques et structurales) servant à la fabrication de nouvelles particules virales (**Dublanchet, 2009**).

I.6.1.5. Assemblage et libération des phage

C'est alors que se produit dans la bactérie infectée une maturation et l'assemblage des différents composants du phage. Ces derniers, produits en grand nombre, s'assemblent spontanément selon un modèle prédéterminé, identiques au phage infectant. Quand la bactérie a accumulé entre 100 à 200 virions, il y a activation d'une endolysine phagique qui a pour rôle de détruire la membrane bactérienne et de faire éclater la cellule, libérant de ce fait simultanément tous les virus produits qui, dispersés à proximité, sont disponibles pour attaquer les bactéries voisines (Dublanche, 2009).

I.6.2. Cycle lysogène (phages tempérés)

Certains types de bactériophages peuvent intégrer leur matériel génétique dans le génome de la bactérie hôte sans pourtant la détruire : on parle alors de phages lysogènes. Le cycle lysogénique ou lysogénisation (Figure 04), a lieu lorsque le génome du phage (prophage) s'insère dans celui de la bactérie et devient partie intégrante de celle-ci. La réplication du génome du phage a lieu en même temps que celui de la bactérie. Celle-ci transmet ensuite lors de sa division de nouveau patrimoine génétique à sa descendance. La bactérie hôte ne sera pas lysée mais va exprimer des gènes du phage jusqu'à ce le cycle lysogénique s'active en cycle lytique. Le génome du phage s'excise du chromosome bactérien (Dublanche et Patey, 2011).

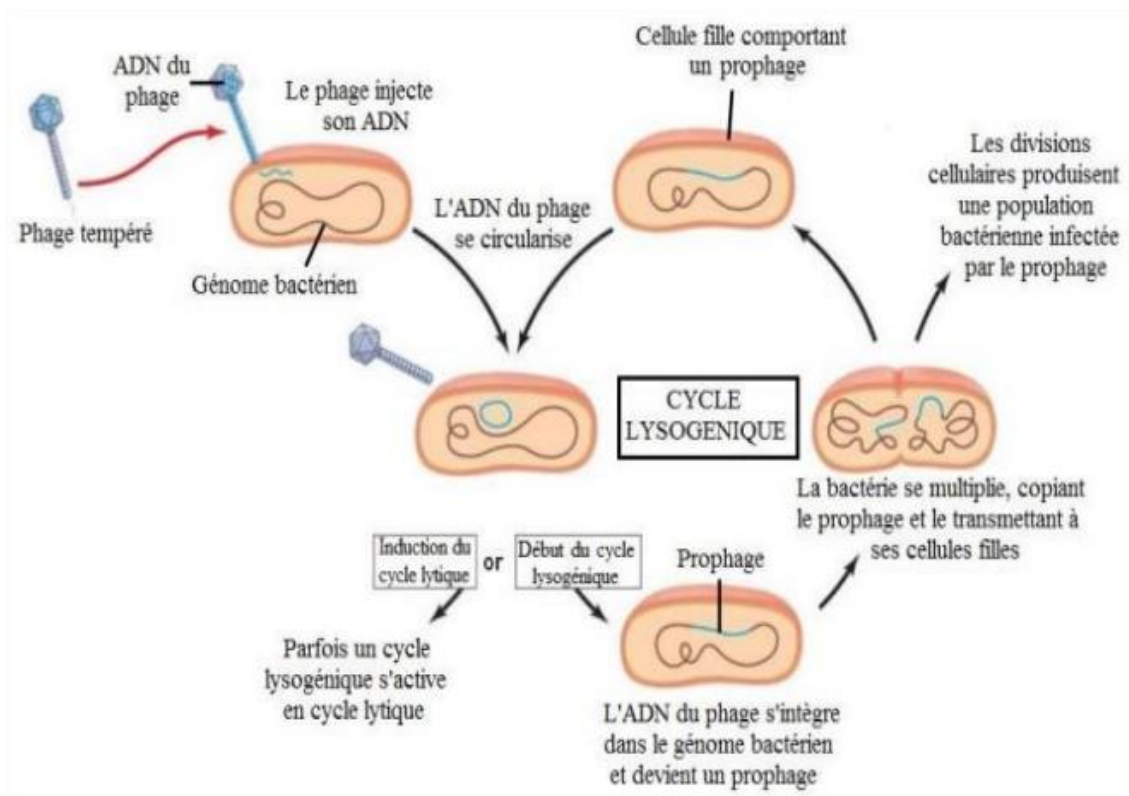


Figure 04 : Schéma d'un cycle lysogénique (Chen, 2008)

Ce changement d'état est relativement rare : un cas pour 100 000 phages tempérés environ (**Dublanchet, 2009**), mais sa fréquence est augmentée lors d'un stress, induit par exemple par des rayons ultra-violet, des rayons X ou des substances chimiques comme des oxydants.

I.7. Habitat des phages

On peut rencontrer les phages dans différents environnements naturels : sur le sol, dans les eaux salées ou douces, sur les surfaces cutanées et muqueuses des êtres vivants (et entre autres dans l'appareil digestif), ...ou plus généralement dans tous les environnements comportant des bactéries. Une des constantes que l'on retrouve chez tous les bactériophages est leur résistance aux milieux extrêmes, généralement meilleure que celle des bactéries. Nombre de ces virus ont même la capacité de survivre plusieurs mois, voire plusieurs années dans des milieux aussi différents et inhospitaliers que les déserts chauds ou froids, les sources thermales volcaniques ou les profondeurs abyssales des océans où règnent des pressions gigantesques (**Dublanchet et Patey, 2011 ; Dublanchet, 2009**)

Ces virus particuliers participent activement à l'évolution des écosystèmes, en détruisant une partie des bactéries, engendrant ainsi un renouvellement de la biomasse bactérienne, ou en interagissant avec les bactéries de telle sorte que des échanges de gènes entre bactéries aient lieu.

On estime qu'en règle générale, les bactériophages réduisent la population bactérienne globale de près de moitié toutes les 48 heures (**Dublanchet, 2009 ; Gilmore 2012**). Les études datant d'une trentaine d'années parlent d'une population de bactériophages de l'ordre de 10^7 par millilitre dans les milieux marins (le milieu aquatique contenant la plus grande quantité de phages étant les eaux usées). On peut trouver en particulier une grande quantité de phages dans les sédiments marins, que l'on estime actuellement à 10^9 phages par gramme de sédiment (**Dublanchet, 2009**).

Cependant, les études des quinze dernières années ont montré que leur population dans les eaux douces et dans les habitats marins était bien plus importante qu'elle n'avait été imaginée auparavant (**Personnic et al., 2006**). Dans ces milieux, les bactériophages œuvrent à la dynamique du renouvellement biochimique, en éliminant une partie du bactério-plancton. En effet, la lyse de ce dernier permet de rendre le carbone organique biodisponible, en le faisant passer de l'état particulaire, sous forme de cellules bactériennes, à l'état dissous exploitable, sous forme de produits de lyse (**Dublanchet, 2009**).

I.8. Résistance microbienne aux phages

De nombreuses études ont montré que la lyse virale n'induisait en moyenne qu'entre 10 % et 20 % de mortalité bactérienne. Ces faibles valeurs suggèrent le développement de mécanismes de défense des bactéries face aux infections virales. Ces mécanismes peuvent se traduire par :

a- Une mutation de la structure des récepteurs membranaires empêchant la fixation des virus.

b- La production d'ectoenzymes détruisant les protéines de la capsidie des virus libres bien que la spécificité de cette production contre les virus ne soit pas prouvée.

c- La délétion spontanée d'une partie du génome bactérien.

Récemment, un nouveau mécanisme de résistance bactérienne a été révélé au cours de l'étude d'Andersson et Banfield. D'après ces auteurs, les bactéries ont la capacité d'intégrer des éléments génétiques particuliers provenant de séquences génomiques virales au niveau de locus appelés « regroupements de répétitions de courts palindromes régulièrement espacés » ou CRISPR (clusters of regularly interspaced short palindromic repeats), ce qui leur confère une résistance aux phages. (Berdjeb et Jacquet, 2009).

II. Ecologie et intérêt environnemental des bactériophages

II.1. Importance écologique de bactériophages

Les bactériophages sont considérés comme étant plus nombreux dans la biosphère que n'importe quel autre groupe d'organismes, procaryotes inclus. Ils sont présents dans tous les types d'écosystèmes. (Wommack et Colwell, 2000).

Les bactériophages jouent probablement un rôle important de régulateurs dans les écosystèmes; une hypothèse suggère que les bactériophages se multiplient lors des épidémies de choléra dans le Gange au Bangladesh et contribuent ainsi - ou seraient même responsables du déclin des épidémies. Plus tard, d'autres épidémies peuvent arriver avec d'autres souches, pas sensibles aux premiers bactériophages, mais qui seront sensibles à la prochaine vague de bactériophages (Belin et Forterre, 2011).

II.2. Reproduction et intérêt environnemental des phages

Les phages virulents permettent de réguler et de renouveler la biomasse bactérienne : les phages lytiques seraient, dans certains environnements, responsables de 50% de la mortalité bactérienne (en l'absence d'autres prédateurs des bactéries, comme les microflagellés). Les phages tempérés seraient quant à eux, et dans une certaine mesure, des acteurs du transfert

génétique entre bactéries par transduction. Ce dernier rôle influence directement la virulence bactérienne, le développement de phénomènes de résistance ou encore la formation de toxines.

L'homme et l'animal ont été, lors de la découverte des phages, l'un des premiers systèmes étudiés. La présence de phages a été montrée au niveau du tube digestif, du sang, de l'urine et de diverses muqueuses (comme celle de la cavité buccale). Cependant, la nature, la fréquence et le rôle des phages ne sont que très partiellement connus. Les phages endogènes pourraient avoir un rôle potentiel dans la protection de certaines maladies infectieuses au même titre que l'immunité. (Courtault, 2014)

II.3. Recyclage des nutriments et influence sur le climat

La lyse des bactéries par les bactériophages est un phénomène important. En effet, dans les systèmes aquatiques, les bactériophages seraient responsables de 10 à 50% de la mortalité des bactéries. Compte tenu de l'importance numérique des populations bactériennes, cette prédation a un effet primordial sur les communautés microscopiques et macroscopiques.

La lyse phagique induit la dispersion de débris cellulaires dans le milieu marin, ce qui participe à la circulation des nutriments dans la chaîne alimentaire. Cela a également un impact sur la géochimie locale de par les propriétés chimiques et physiques des éléments dispersés. Par exemple, la lyse par les bactériophages conduit à la libération de sulfure de diméthyle (DMS). Ce composé a une influence significative sur le climat terrestre. En plus de ses propriétés odorantes (il est responsable de l'odeur caractéristique de l'air marin), il exerce un effet refroidissant sur le climat. Une fois oxydées dans l'atmosphère, les molécules de DMS forment un brouillard d'aérosols et participent à la formation des nuages. Ceux-ci diminuent la dose de radiation solaire reçue au niveau des surfaces terrestres et océaniques et limitent ainsi le réchauffement de la planète. (Courtault, 2014)

III. Techniques de détection et de quantification des phages

Depuis près d'un siècle, les moyens de détection et de quantification des virus se sont peu à peu améliorés et diversifiés.

III.1. La technique de plages de lyse

La mise en évidence des premiers phages a été possible grâce à la lyse qu'ils provoquaient dans une culture de bactérie (Twort, *et al.*, 1915 ; D'herelle, 1917). Cette propriété a été utilisée très tôt pour déterminer le titre viral des phages lytiques. La technique dite de plage de lyse consiste à étaler une suspension très virale très diluée à la surface d'un tapis bactérien dans une boîte de pétri contenant un milieu nutritif solide. Après incubation, il apparaît des trous dans le tapis bactérien qui sont la résultante de la destruction des cellules (figure 05).

Ces derniers sont appelés plages de lyse et permettent après comptage d'estimer le nombre de virus en PFU (plage formant unité)/ml (**Signer, 1967**).

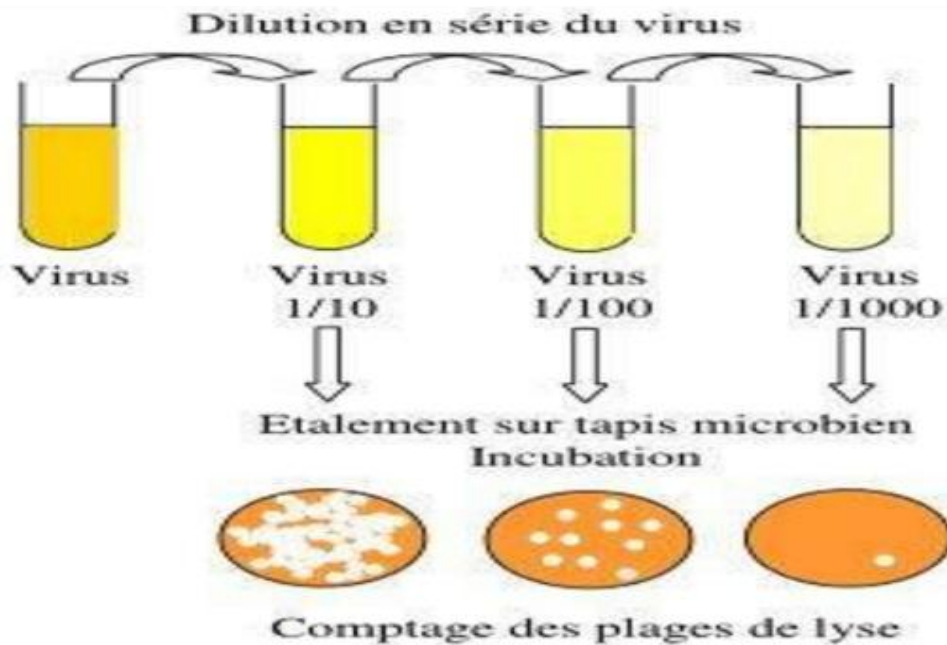


Figure 05 : Schéma du protocole utilisé dans la technique de plages de lyse

III.2. La microscopie électronique en transmission (MET)

Cette technique de microscopie basée sur le principe de diffraction des électrons permet un facteur de grossissement d'un million. Son utilisation en virologie a été initiée par (**Ruska *et al.*, 1940**).

Les virus sont absorbés sur une grille métallique recouverte d'un film de carbone puis colorés négativement. Une solution contenant un agent contrastant (Tétraoxyde d'osmium, acétate d'uranite, citrate de plomb, acide phosphotungstique, molybdate d'ammonium) est ajouté sur la grille. Celui-ci va se fixer préférentiellement au bord des échantillons absorbés. En raison de sa forte masse atomique, le contrastant dévie les électrons. Ainsi le virus apparaît plus foncé que ce qui l'entoure (**figure 06**).

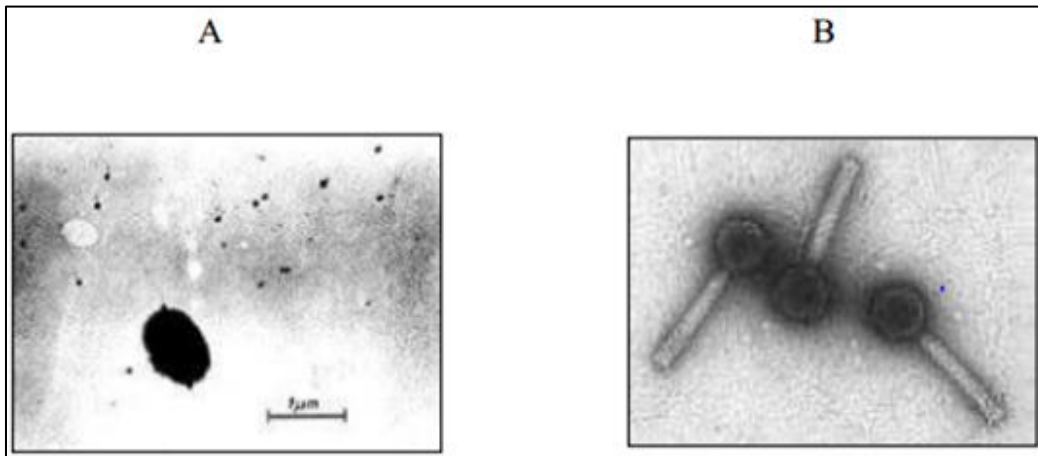


Figure 06 : photographie de bactériophages après coloration négatif et observés en MET (Ruska, 1940 (A); Inman *et al.*, 1976 (B))

III.3. Microscopie à épifluorescence ME

Le coût élevé et la faible disponibilité des met ont été les principales causes du développement de la microscopie à épifluorescence. Dans cette technique dérivée de celle utilisée pour le comptage des bactéries, l'acide nucléique des virus, concentrés par ultrafiltration, est marqué grâce à un fluorochrome caractérisé notamment par la durée de persistance de sa fluorescence appelée temps de « fading ». L'observation se fait sur un microscope à épifluorescence (Weinbauer *et al.*, 1997).

III.4. Cytométrie en flux

L'apparition d'une nouvelle génération de fluorescences spécifiquement les acides nucléique combinée à l'amélioration des cytométrie en flux a permis l'obtention d'un nouveau moyen de détection et de quantification des virus. Ce système présente le grand avantage d'être complètement adapté à l'analyse d'un très grand nombre d'échantillons grâce à l'automatisation du procédé. De plus, la cytométrie en flux permet en évidence les différentes populations de virus (Hercher *et al.*, 1979 ; Marie *et al.*, 1999). Les fluorochromes utilisés sont le SYBER GREEN I et II, le TOTO-1, le YOYO-1, le Pico Green, l'OligoGreen et le SYBER Gold.

III.5. Les techniques d'amplification de gène

Contrairement des techniques culturales et microscopiques, l'amplification du gène apporte une preuve indirecte de la présence ou l'absence de tel ou tel virus.

III.5.1. PCR (polymérase Chain reaction) et RT-PCR (reverse transcription PCR)

Dans la PCR un gène cible est amplifié à l'aide d'amorces spécifiques et d'une polymérase thermostable (souvent la Taq Polymérase) au cours de plusieurs cycles comprenant

trois phases (dénaturation, hybridation et élongation). Pour RT-PCR, une reverse transcription est réalisée en préalable pour obtenir une L'ADN complémentaire à partir de L'ARN viral une reverse transcriptase.

Ces techniques moléculaires présentent l'avantage d'être très sensible car elles permettent de détecter les génomes viraux, même s'il n'y'a que quelques copies dans l'échantillon analysé. Par ailleurs, le choix judicieux des amorces utilisées autorise une identification rapide du ou des virus présents. De plus, les provirus, invisibles en MET ou en ME car ils ne produisent pas de virions, sont alors détectables

III.5.2. PCR et RT-PCR quantitative

Plus récemment la PCR et RT-PCR quantitative ont été développées dans le but de quantifier les virus et de suivre leur développement. Cette technique est basée sur la détection et la quantification d'une molécule fluorescente dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'appliquons générés pendant la réaction de PCR et RT-PCR. Il existe deux types de marquage: des agents se liant à L'ADN double brin (comme le SYBER Green i) et les sondes fluorescentes (comme les sondes Taqman) (Gilson *et al.*, 1996 ; Gibson *et al.*, 2003).

CHAPITRE II

Application des bactériophages

I. Domaines d'utilisation des bactériophages

Si les bactériophages peuvent conférer leur virulence à certaines bactéries, ils pourraient également être utilisés comme «arme» contre celles-ci (**Grégory et Meyer, 2002**).

I.1. Utilisation en médecine

En médecine, les bactériophages offrent des possibilités intéressantes d'utilisation en thérapie. L'idée n'est pas nouvelle, puisque après la découverte des bactériophages, Félix D'Hérelle proposa de les utiliser pour combattre les infections bactériennes. L'utilisation des bactériophages dans le domaine médicale présente un intérêt certain et prometteur.

Un essai clinique, évaluant l'efficacité de la phagothérapie a été mené au Royaume-Uni, sur 24 patients souffrant d'otite chronique unilatérale à *P. aeruginosa* (**Wright et al., 2009**). Ces patients ont été traités avec une dose unique de 6×10^5 PFU d'un cocktail de six phages, administrés par voie topique. Le traitement a réduit l'intensité des symptômes jusqu'à 80% (**Hawkins et al., 2010**).

I.2. Utilisation dans le traitement des infections à biofilm

Les infections à biofilm sont une plaie dans le domaine médical actuel. Actuellement, 65% des infections recensées chez l'homme dans les pays développés sont causées ou entretenues par des biofilms. Plus de 80 % des infections bactériennes sont chroniques à cause de ces biofilms. Parmi ces infections, les plus courantes sont les infections dentaires, pulmonaires et urinaires, ainsi que de nombreuses maladies nosocomiales liées à l'usage de matériel médical contaminé par des biofilms (cathéters, prothèses cardiaques, matériel orthopédique) (**Høiby et al., 2010**).

Dès lors qu'un biofilm est installé, les bactéries qu'il héberge échappent aux défenses immunitaires de l'hôte et aux thérapeutiques antimicrobiennes, et notamment antibiotiques.

Les antibiotiques vont détruire les bactéries circulantes, supprimant ainsi les symptômes, mais ne pourront pas atteindre celles enchâssées dans le biofilm. Sans traitement efficace, le biofilm va alors servir de nid à partir duquel les infections vont récidiver. La seule thérapeutique actuellement efficace est le retrait chirurgical de la zone de biofilm (**Høiby et al., 2010**).

L'utilisation des bactériophages semble indiquée lors de présence de biofilms, puisqu'ils seraient capables d'en détruire la matrice. Une fois ce biofilm éliminé, les bactéries qui s'y protégeaient sont de nouveau exposées aux antimicrobiens et peuvent alors être détruites par les phages (**Magali et al., 2014**).

I.3. Utilisation en agro-alimentaire

L'intérêt des phages dans l'industrie agro-alimentaire est de détruire certaines bactéries (principalement *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* et *Escherichia coli* susceptibles de contaminer les produits alimentaires frais (Magali *et al.*, 2014).

Aux États-Unis d'Amérique, la FDA (Food and Drug Administration) a récemment émis des directives pour lutter contre l'expansion des antibiorésistances. Pour mieux lutter contre les antibiorésistances, elle a autorisé en 2006 la pulvérisation sur la viande d'un cocktail de six phages anti-*Listeria monocytogenes* nommé ListShield™ (anciennement LMP 102), fabriqué et conditionné par la société Intralytix (FDA, 2013).

Depuis, d'autres produits du même type ont rejoint l'arsenal et sont classés sous le concept Generally Recognized As Safe (GRAS), qui indique l'approbation par la FDA après reconnaissance de la non dangerosité du produit par des experts, et qui permet de contourner l'habituelle loi fédérale d'autorisation des additifs pour les aliments. C'est le cas du Listex P100 (contre *Listeria monocytogenes* pour la viande, le fromage, le poisson et les fruits et légumes) (Figure 11), produit par la firme Micros Food Safety ainsi que d'autres produits provenant d'Intralytix tels que l'EcoShield™ (contre *Escherichia coli* O157 :H7 pour la viande rouge) et le SalmoFresh™ (contre *Salmonella* spp. pour la volaille, les poissons, les coquillages, les fruits et les légumes (Housby et Mann, 2009).

I.4. Désinfection des surfaces inertes

Les phages se sont avérés efficaces en application sur des surfaces inertes pour les débarrasser des bactéries ou des biofilms. Leur usage serait particulièrement indiqué pour traiter l'intérieur des réseaux hydrauliques, comme par exemple les tuyaux de circulation d'eau de boisson pour les volailles, qui regorgent généralement de bactéries (surtout des bactéries générant des infections entériques, comme *Campylobacter* spp.) et de biofilms (Inal, 2003).

I.5. Applications vétérinaires

L'utilisation des phages contre les infections animales ainsi que pour prévenir la transmission des pathogènes des animaux au système agroalimentaire est une autre sphère importante de la recherche avec les phages (Adhya *et al.*, 2014). Une expérience faite par Smith et Huggins dans les années 80 a démontré l'efficacité d'une suspension de phage administrée de manière intramusculaire à des souris qui avait été infectées par *E. coli*.

L'administration d'une seule dose de suspension de phage a été plus efficace que les multiples administrations d'antibiotiques qui avaient été donnés aux souris. Ce même groupe de recherche a utilisé les phages pour prévenir la diarrhée causée par *E. coli* chez des veaux, des

porcelets et des agneaux (Wittebole *et al.*, 2014). Les applications dans le milieu agroalimentaire et vétérinaires sont vastes et gagnent à être exploitées. Pour l'instant, la réglementation n'est pas aussi rigoureuse que dans pour les applications thérapeutiques humaines, ce qui en fait un domaine en pleine évolution.

I.6. Le traitement des eaux usées

Les phages peuvent potentiellement améliorer le traitement des eaux usées. Des phages provenant de sources environnementales aquatiques peuvent s'attaquer aux bactéries non désirées telles que *Salmonella*, *E. coli entéropathogène*, *Shigella*, *Vibrio cholera*, etc., afin d'empêcher ces bactéries dangereuses d'atteindre les rivières, étangs et lacs (Jassim *et al.*, 2016). De plus, les phages sont peu coûteux à produire, rapide et respectueux de l'environnement par rapport aux méthodes actuelles utilisées dans les stations d'épuration.

Néanmoins, l'application réussie du biocontrôle des phages pour le traitement des eaux usées nécessite une meilleure compréhension de la dynamique et des interactions de la communauté microbienne des eaux usées (Jassim *et al.*, 2016).

I.7. L'agriculture

Dans le contexte agroalimentaire, les deux types d'antimicrobiens (phages et protéines lytiques du phage) peuvent être utilisés pour assurer la sécurité alimentaire tout au long de la chaîne de fabrication (de la ferme à la fourchette) (García *et al.*, 2008). Un secteur cible potentiel pour l'application de bactériophages est la production primaire, où ils peuvent remplacer ou compléter les antibiotiques et les pesticides. En conséquence, les phages pourraient aider à limiter l'augmentation de la résistance aux antibiotiques associée aux pratiques agricoles et d'élevage. (Fernandez *et al.*, 2018).

I.8. Effet des phages sur l'explosion respiratoire

L'explosion respiratoire est une rapide augmentation de la production de dérivés réactifs de l'oxygène par le métabolisme oxydatif des phagocytes lors d'une infection. D'une part, cette réaction est une composante essentielle de l'immunité innée, permettant aux cellules phagocytaires d'éliminer les pathogènes. D'autre part, une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène mène à un stress oxydatif à l'intérieur de la cellule. Les bactéries et les virus peuvent induire un stress oxydatif dans les cellules hôtes lors d'une infection. Il est donc primordial de connaître les effets des phages sur la production des espèces réactives de l'oxygène, afin de s'assurer de l'innocuité de la thérapie phagique à cet égard.

La première étude pour évaluer l'influence des phages sur la génération des espèces réactives de l'oxygène a montré, *in vitro*, qu'une préparation purifiée de phage T4 induit une très faible explosion respiratoire comparativement aux cellules bactériennes, que ce soit dans les monocytes ou les neutrophiles (**Przerwa et al., 2006**). De plus, lorsqu'ils sont incubés ensemble, les phages réduisent, de manière dose-dépendante, l'explosion respiratoire induite par *Escherichia coli*. Les effets sont significatifs avec des titres en phages élevés (10^9 et 10^{10} PFU/ml).

Une autre étude a montré qu'une préparation purifiée de phages T4 peut inhiber l'explosion respiratoire induite par des lipopolysaccharides ou des cellules bactériennes (**Miedzybrodzki et al., 2008**). Il a également été montré que ni les préparations purifiées ni les lysats de phages A3/R dirigés contre les staphylocoques n'induisent, *in vitro*, une explosion respiratoire significative des monocytes ou des neutrophiles.

II. La phagothérapie

I.1. Historique

La phagothérapie a été découverte par Félix D'Hérelle en 1919 (**D'Hérelle, 1921**). La première application des phages pour traiter des maladies infectieuses humaines remonte à 1921 par Bruynogue et Maisin qui les ont utilisés avec succès pour traiter des maladies de peau dues au *Staphylococcus sp.* Ils ont aussi été utilisés pour traiter la dysenterie, le choléra et la fièvre typhoïde. Dans les années 1930, plusieurs produits à base de phages qui ont été commercialisés aux États-Unis ont reçu des rapports positifs sur leur efficacité, particulièrement pour les infections dues aux *Staphylococcus sp.* et les maladies intestinales. En Géorgie, où les phages sont étudiés depuis 1934, des chercheurs ont rapporté que la thérapie phagique avait un taux de succès de 80% contre les infections d'entérocoques. En Pologne, les médecins ont eu un taux de succès de 90 % contre des cas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* (**Pirisi, 2000**).

Les résultats mitigés de la thérapie phagique, l'usage inapproprié des phages, le manque de connaissances sur la nature des bactériophages, le manque de standards de pureté et les études incontrôlées ont fait, qu'avec la découverte des antibiotiques et l'éclatement de la deuxième guerre mondiale, la phagothérapie a été abandonnée dans les pays occidentaux. Toutefois, les phages ont toujours continué à être utilisés comme agents thérapeutiques avec succès en Europe de l'Est et dans l'ex-Union soviétique.

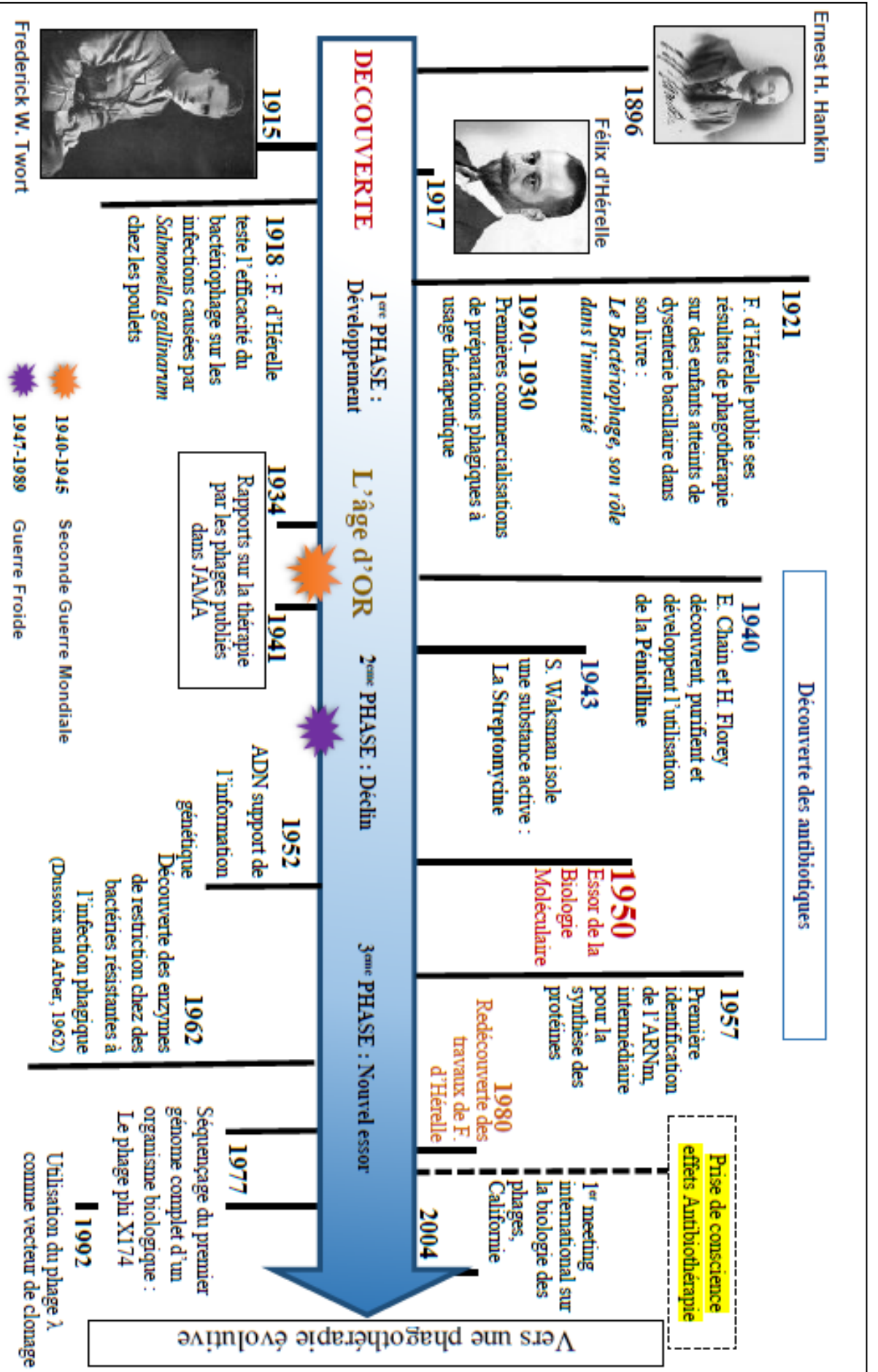


Figure 07 : Frise chronologique retraçant les grandes phases de la découverte des phages et de leur utilisation en biologie moléculaire et en tant qu'agents antibactériens (Magali, 2019).

Aujourd'hui, le taux alarmant de bactéries résistantes aux antibiotiques, combiné au fait que les nouvelles classes d'antibiotiques pour les affronter se font plus rares, nous obligent à nous tourner vers d'autres alternatives, d'où un regain d'intérêt pour les bactériophages (**Sulakvelidze et al., 2001**). De nos jours, la technologie biomédicale est bien différente de ce qu'elle était aux premiers temps de la recherche sur la thérapie phagique. Les connaissances sur les propriétés biologiques des phages et les mécanismes régissant l'interaction phage-bactérie se sont grandement élargies.

Ces avancées peuvent maintenant permettre le développement de préparations de phages thérapeutiques sécuritaires ayant une efficacité optimale envers leurs hôtes bactériens spécifiques afin d'intégrer la thérapie phagique aux méthodes de prévention et de traitement des infections bactériennes (**Martineau, 2009**).

II.2. Définition de la phagothérapie

Il s'agit d'une thérapie fondée sur l'utilisation du bactériophage, virus parasite exclusif des bactéries. Les caractéristiques biologiques des phages en font un agent idéal pour le traitement des maladies infectieuses d'origine bactérienne. Ils sont classés comme médicaments par l'Union européenne depuis 2011. Certains experts contemporains affirment que la phagothérapie peut être plus efficace que les antibiotiques dans certaines conditions cliniques: de ce fait, elle se voudrait une solution à l'antibio-résistance (**Fruciano, 2011**).

L'utilisation des bactériophages est reconsidérée dans de nombreux pays devant le double constat du développement inquiétant des infections nosocomiales à bactéries multirésistantes et de l'absence de nouveaux antibiotiques efficaces. Aujourd'hui, des applications sont envisagées non seulement dans le domaine médical mais aussi dentaire, vétérinaire, agricole ou environnemental (**Dublanchet, 2009**).

II.3. Principe et thérapie

Elle repose sur le traitement des infections bactériennes à partir des phages qui détruisent la cellule bactérienne hôte (**Biofutur et GEEPhage, 2013**). Un ensemble de phage appelé Cocktail peut être utilisé à cet effet (**Magali, 2014**). Le cocktail « Pyophage » présentant une excellente activité contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique), et la préparation nommée « PhagoBioDerm » associant des phages semble donner de bons résultats. Cependant, ces cocktails sont des préparations standards et ne sont pas forcément les plus appropriés lors d'infections graves. Dans ces derniers cas, il vaut mieux privilégier une méthode avec des phages adaptés et donc plus virulents (**Dublanchet, 2009**).

II.4. Obtention de bactériophages thérapeutiques

II.4.1. Phagothèque

Des collections de bactériophages ont été créées dès les prémices de la phagothérapie. Les phages contenus dans ces collections sont stockés sous formes de suspensions purifiées et un listing des bactéries sur lesquelles ils sont efficaces est tenu à jour. Le principal avantage de telles collections est le gain de temps qu'elles offrent lors de la mise en place d'un traitement en urgence. En effet, il n'y a plus besoin chercher dans la nature un phage efficace et de préparer à partir de celui ci une suspension thérapeutique puisque ces étapes ont déjà été faites en amont. Il suffira juste de vérifier l'efficacité réelle du phage sur la souche du germe concerné avant de débiter le traitement.

Bacteriophage host	Number of phages
<i>Escherichia coli</i>	121
<i>Klebsiella pneumoniae</i> or <i>Klebsiella oxytoca</i>	95
<i>Enterococcus faecalis</i> or <i>Enterococcus faecium</i>	73
<i>Enterobacter cloacae</i>	48
<i>Shigella flexneri</i> or <i>Shigella sonnei</i>	39
<i>Citrobacter freundii</i>	38
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> or <i>Pseudomonas fluorescens</i>	37
<i>Salmonella enteritidis</i> or <i>Salmonella typhimurium</i>	32
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	18
<i>Serratia marcescens</i> or <i>Serratia liquefaciens</i>	17
<i>Proteus mirabilis</i>	17
<i>Morganella morganii</i>	14
<i>Staphylococcus aureus</i>	7
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5
<i>Burkholderia cepacia</i>	2

Figure 08 : Composition de la phagothèque de l' « Institute of Immunology and Experimental Therapy » en mai 2011

Le Centre Félix d'Herelle, au Canada, est un exemple de ces phagothèques, mais les phages qu'il propose sont destinés à la recherche, et ne sont pas utilisables pour la phagothérapie tel quel.

En Allemagne, le « Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen » (DSMZ) Institut de Leibniz propose également des ampoules contenant des bactériophages déshydratés et tout un protocole pour reconstituer une suspension utilisable (**Figure 08**).



Figure 09 : Ampoule contenant des bactériophages déshydratés.

D'autres suspensions dites *Cocktails* comportent un mélange de phages connus, généralement actifs sur la même bactérie ou sur des bactéries phylogéniquement proches. Ils sont habituellement prévus pour agir contre des infections courantes et dont la bactérie habituellement en cause est connue.

II.4.2. Préparation des suspensions phagiques

Voici succinctement les différentes étapes permettant l'obtention des suspensions phagiques (Dublanche, 2009).

II.4.2.1. Propagation

Un échantillon d'eau contenant probablement le ou les phages recherchés doit être centrifugé puis filtré pour éliminer les bactéries étrangères. Pour séparer les phages de ces bactéries (et plus grosses particules), il convient d'utiliser un filtre de 0,2 micromètres. Cette préparation contient probablement un nombre important de bactériophages différents de celui recherché

Il faut ensuite mettre les bactériophages éventuels en présence de la bactérie pathogène, en mélangeant la bactérie avec la préparation précédente et incubé quelques heures à 35°C (Selon d'Hérelle, après quelques heures, l'expérience donne un nombre de bactériophages de trois milliards par centimètre cube (D'Hérelle, 1946).

On peut éventuellement ajouter un peu de chloroforme pour détruire les bactéries résiduelles, cela ne dénature pas les phages. Il faut alors centrifuger puis filtrer la suspension obtenue pour éliminer les débris bactériens.

On obtient alors une suspension contenant un nombre inconnu de bactériophages et peut-être même un mélange de plusieurs variétés capables d'attaquer la même bactérie. Il faut alors

procéder à la purification de cette suspension afin de n'avoir plus que le phage souhaité (Dublanche, 2009).

II.4.2.2. Purification

Elle se fait à partir du principe qu'une plaque de lyse correspond à un clone phagique. Il suffit de diluer (de dix en dix) la préparation précédente et d'étaler les dilutions sur une gélose en boîte de Pétri. Le but est de séparer chaque élément les uns des autres. Pour cela, on ajoute à une gélose la bactérie hôte du phage en un tapis régulier. On dépose ensuite la dilution du phage sur cette gélose. Après vingt-quatre heures d'incubation, les bactéries se sont multipliées, créant un tapis bactérien à travers la gélose sauf à l'endroit où un phage était présent. A cet endroit, comme les phages ont lysé les bactéries rencontrées, il apparaît une tache vierge correspondant à une colonie de bactériophages (Figure 09).

On peut alors adapter les phages à leur bactérie, en les remettants en suspension avec leur cible puis en les repurifiant de nouveau. Cette étape réalisée plusieurs fois (passage en série) permettrait d'augmenter l'efficacité de la phagothérapie.

Il restera ensuite à éliminer les débris de bactéries restants, soit par centrifugation et filtration, soit de préférence par chromatographie d'affinité (Abedon *et al.*, 2011).

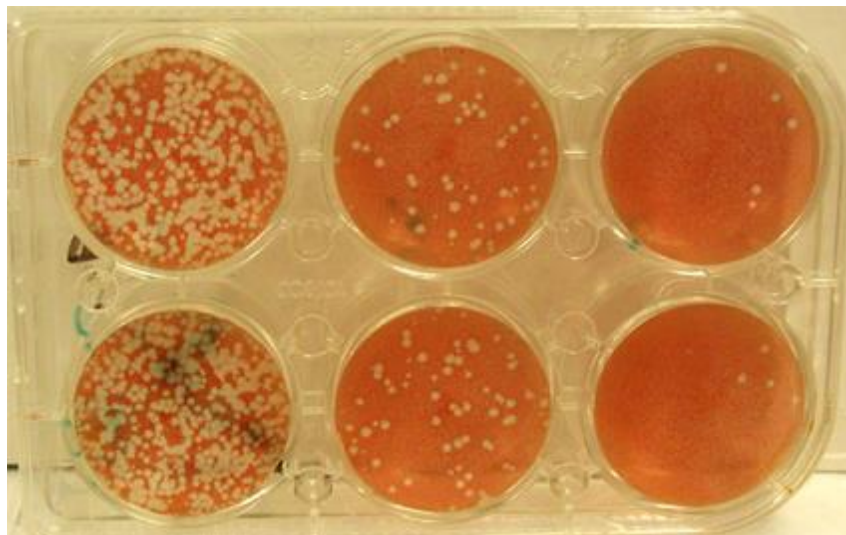


Figure 10 : Visualisation sur boîte de Pétri des plages de lyse (Hunt et McIlroy. 2013).

II.4.2.3. Numération

A partir de l'étape précédente, une fois la suspension finale obtenue, il faut de nouveau ensemer des boîtes de Pétri avec plusieurs dilutions de la suspension, et il suffira de compter le nombre de plages de lyse sur cette boîte après incubation. On exprime alors la concentration

de la suspension (titre) utilisée pour l'ensemencement en UFP (Unité Formant Plage) par millilitre.

II.4.2.4. Phagogramme

Comme dans le cas d'un antibiogramme pour les antibiotiques, un « phagogramme » peut être réalisé pour choisir le meilleur phage (ou mélange de phages) disponible pour initier le traitement (**Figure 10**).

Sa réalisation est relativement simple : il suffit de préparer une suspension par phage à tester, dans laquelle la concentration du dit phage est connue. On ensemence alors une boîte de Pétri avec la bactérie qui nous intéresse, et on y dépose une goutte de chaque suspension de phage.

Après incubation, le diamètre des plages de lyse donne une bonne idée de l'efficacité de chacun des phages testés (**Dublanchet, 2009**).

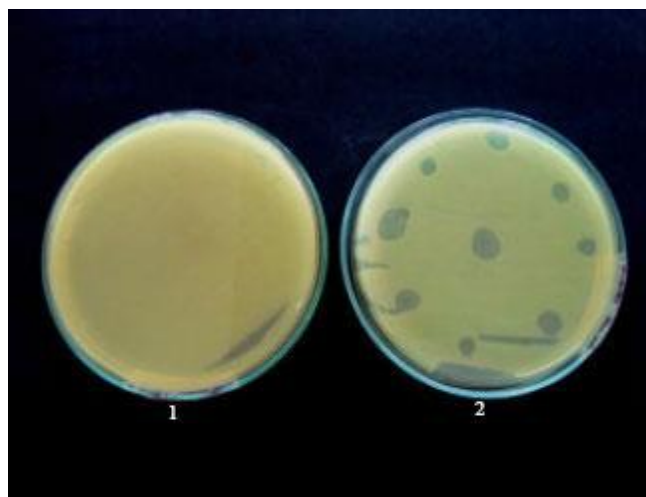


Figure 11 : Résultat d'un « phagogramme » réalisé sur *E. coli* (**Duclos, 2011**).

III. Bactériophages et Antibiotiques

Les antibiotiques sont irremplaçables dans certaines situations (infections à germes intracellulaires / infections parenchymateuses). Les phages semblent indispensables dans d'autres situations (infections à bactéries multirésistantes aux antibiotiques).

De plus, il y aurait avantage à utiliser phages et antibiotiques concomitamment, car le bactériophage réduit l'inoculum bactérien ce qui permet à l'antibiotique d'agir plus efficacement et probablement avec une pression de sélection réduite (moindre probabilité d'apparition de résistances puisque l'inoculum bactérien est plus faible). De plus, l'utilisation des bactériophages va s'accompagner d'un moindre recours aux antibiotiques. Dans la mesure où c'est précisément l'utilisation des antibiotiques qui fait le lit des résistances bactériennes, l'utilisation de la

phagothérapie doit permettre de réduire les résistances bactériennes aux antibiotiques. On le voit, il y a un bénéfice à utiliser antibiotiques et bactériophages non seulement pour leur effets synergiques mais aussi parce que tant les antibiotiques que les bactériophages sont irremplaçables dans certaines situations. Antibiotiques et bactériophages ne sont donc pas concurrents mais bien complémentaires et la phagothérapie doit être envisagée comme une arme supplémentaire dans l’arsenal de la lutte contre les infections bactériennes. (**Tableau II**) (**Ravat et al., 2014**).

Tableau II : Caractéristiques respectives de la phagothérapie et de l’antibiothérapie

Bacteriophages	Antibiotiques
Très spécifiques (1 seule espèce bactérienne)	Non spécifiques (y compris action sur la flore commensale)
Procédé industriel Rapide et peu couteux	Développement industriel Long et très couteux
Bactérie cible Connue ou supposée	Bactérie cible Possiblement inconnue
Pas d’effets secondaires	Effets secondaires multiples
Limites Bactérie intracellulaires Infections parenchymateuses	Limites Effets secondaires

Conclusion

Conclusion

Présents dans l'ensemble des écosystèmes, les bactériophages (ou phages) sont des virus qui infectent naturellement et spécifiquement les bactéries. Ils sont de ce fait incapables d'infecter les cellules eucaryotes.

La plupart des bactéries responsables de pathologies infectieuses chez l'homme sont couramment la proie de phages présents dans le milieu naturel. Il est ainsi aisé d'isoler des phages actifs contre ces pathogènes, à partir d'échantillons prélevés simplement dans l'environnement (lacs, fleuves, eaux usées, matières fécales, etc.). À côté de cette technique ancestrale éprouvée, les progrès de la biologie moléculaire et de la bio-ingénierie font qu'ils sont maintenant à même de modifier génétiquement des phages naturels de façon à combiner certaines caractéristiques d'intérêt.

La phagothérapie n'est pas une arme thérapeutique universelle mais une alliée incontournable pour le futur. Elle doit faire l'objet d'une évaluation approfondie et rigoureuse, unique condition à même d'établir son champ d'activité le plus efficace et le plus sûr. Face à la progression de l'antibiorésistance, il s'agit à ce jour de l'arme thérapeutique la plus prometteuse de par le polymorphisme et le mode d'action de ses agents antibactériens. Par rapport aux antibiotiques, la phagothérapie demandera un changement complet des habitudes de prescriptions médicales avec notamment une collaboration étroite avec les laboratoires de microbiologie.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographiques

1. Ackermann HW. (2003). Bacteriophage observations and evolution. *Research in Microbiology*, 154, 245–251.
2. Ackermann HW., Prangishvili D. (2012). Prokaryote viruses studied by electron microscopy. *Arch Virol*. 157(10):1843-9.
3. Adhya S., Merrill, C.R., & Biswas, B. (2014). Therapeutic and prophylactic applications of bacteriophage components in modern medicine. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 4(1), a012518.
4. André M.C, Françoise. T, Sabrina N. et al. (2008). La « synergie phages-antibiotiques ». *Médecine/Sciences*. 24 (5) 449-451.
5. Martineau A. (2009). Isolement et caractérisation de bactériophages comme moyen de lutte naturel contre les infections nosocomiales. Page 48, 49 et 50.
6. Belin. D et Forterre, P. (2011). Les microbes menace ou espoir, 4èmes journées de Microbiologie de l'Université de Genève; p 26.
7. Biofutur et GEEPhage. (2013). Le renouveau de la phagothérapie. Pourquoi ? Comment ? - Institut Mutualiste Montsouris-Paris In : Supbiotech.
8. Berdjeb. L, jacquet. S. (2009). La viriosphère: quelle place dans le fonctionnement et l'évolution des écosystèmes aquatiques (partie 2) ; *Virologie*. Volume 13, Numéro 4;P 99-189.
9. Chen P. (2008). Lysogenic cycle – phage lambda in: biology 1151, principles of biological *Science*. <http://bio.1151.nicerweb.net/1151>.
10. D'Hérelle, F. (1917). Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. *Compte Rendu de l'Académie des Sciences de Paris* 165, 373-375.
11. D'Hérelle F. (1921). le microbe bactériophage, agent d'immunité dans la peste et le barbone. *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 172, 99-100.
12. DSMZ (Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH) Leibniz Institut. Revitalisation of vacuum-dried bacteriophages.
13. Dublanche A. (2009). Des virus pour combattre les infections – la phagothérapie renouveau d'un traitement au secours des antibiotiques. Favre.
14. Dublanche A. (2014). Qu'est-ce que la phagothérapie ? *Hegel Vol. 4 N° 4 – 2014*. 361-365p. DOI : 10.4267/2042/54390
15. Dublanche A, Patey O. (2011). La phagothérapie: passé et avenir (faits nouveaux et procédure[s] pour une réhabilitation). *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 26, 165–175.

16. FDA (Food additives permitted for direct addition to food for human consumption): Listeriaspecific bacteriophage preparation In: U.S. Food and Drug Administration. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?fr=172.785> (Consulté le 09/05/20)
17. Fernández, L., Gutiérrez, D., Rodríguez, A., García, P. (2018). Application of Bactériophages in the Agro-Food Sector: A Long Way Toward Approval. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 8. 2018.00296. <https://doi.org/10.3389/fcimb>
18. Fruciano. E. (2011). La phagothérapie: émergence d'une idée controversée et logique d'un échec (1917-1949). L'Atelier du Centre de recherches historiques. <http://acrh.revues.org/4805> .
19. García, P., Martínez, B., Obeso, J.M., Rodríguez, A. (2008). Bacteriophages and their application in food safety. *Letters in Applied Microbiology* 47, 479–485. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02458.x>
20. Gilmore BF (2012). Bacteriophages as anti-infective agents: recent developments and regulatory challenges. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 10, 533–535.
21. Gilson, U.E.M., heid, C.A., and Williams, P.M. (1996). A novel method for real time quantitative RT-PCR. *Genome research* 995-1001.
22. Gnaegi.F, Sozzi.T, Cazzeles .O et al. (1984). “Connaissances sur les bactériophages de *Leuconostoc oenos* et progrès dans la maîtrise de la fermentation malolactique des vins”, *Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic*;Vol 16 (2): 59-65.
23. Górski, A., Kniotek, M., Perkowska-Ptasinska, A., Mróz, A., Przerwa, A., Gorczyca, W. (2006) : « Bacteriophage translocation », *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 46 :313-319 .
24. Grégory. R, Meyer. J. (2002). Bactériophages, nouvelle perspective dans le traitement des maladies infectieuses? *Institut de Médecine Dentaire Préventive et de Microbiologie Buccale, Université de Bâle. revue mensuelle suisse d'odonto stomatologie*, Vol 112;P 643-644.
25. Hegel (2014). Qu'est-ce que la phagothérapie ? Vol. 4
26. Høiby. N, Bjarnsholt. T, Givskov. M, Molin. S, Ciofu. O. (2010). Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International journal of antimicrobial agents*. (35); P 322–332
27. Housby. J.N, Mann. N.H. (2009). Phage therapy. *Drug discovery today*, (14); p 536–540.
28. Hunt M., Mcllroy D. *Microbiologie et Immunologie On-line*, 2013. <http://www.microbiologybook.org/French-virology/virol-french2.htm>
29. ICTV. (2012). Virus Taxonomy: 2012 Release In: International Committee on Taxonomy of Viruses. <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2012> .

30. Inal J.M. (2003). Phage therapy: a reappraisal of bacteriophages as antibiotics. *Archivumimmunologiae et therapiae experimentalis*. 51: PP237–244.
31. Jassim, S.A.A., Limoges, R.G., El-Cheikh, H. (2016). Bacteriophage biocontrol in wastewater treatment. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 32.
<https://doi.org/10.1007/s11274-016-2028-1>
32. Rodier. (1996). *L'analyse de l'eau, les eaux usées résiduaires, eau de mer*, Duno, 2^{ème} édition, Paris.
33. Courtault JR. (2014). Place de la phagothérapie dans le traitement des infections humaines bactériennes: intérêts, enjeux et limites. *Sciences pharmaceutiques*. dumas-01020724
34. Magali. C, Elisabeth. B.S. (2014). La phagothérapie: historique et potentielle utilisation contre les infections à bactéries multirésistantes; P 122-123
35. Magin V., Garrec N., Andrès Y. (2019). Selection of bacteriophages to control 24h-old biofilm of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from drinking and thermal water, *Viruses*, 13.
36. Miedzybrodzki et al. (2008) : « Bacteriophage preparation inhibition of reactive oxygen species generation by endotoxin-stimulated polymorphonuclear leukocytes », *Virus Res.*, 131 :233- 242.
37. Neurohr S. (2016). *La phagothérapie : des virus au service de la médecine*. Thèse de doctorat, UNIVERSITE DE LORRAINE, 57p.
38. Orlova EV. (2012). *Bacteriophages and Their Structural Organisation*. In: Kurtböke Ī, editor. *Bacteriophages*. IntechOpen;. DOI: 10.5772/1065. ISBN: 978-953-51-0272-4
39. Personnic S, Duhamel S, Bettarel Y, Sime-Ngando T, Jacquet S. (2006). Les virus planctoniques : un compartiment biologique clé des milieux aquatiques. *Courrier de l'environnement*, 19–34.
40. Pirisi A. (2000). Phage therapy-advantages over antibiotics? *The Lancet*, 356, 1418.
41. Przerwa, A., Zimecki, M., Switala-Jelen, K., Dabrowska, K., Krawczyk, E., Luczak, M., Weber-Dabrowska, B., Syper, D., Miedzybrodzki, R., et Gorski, A. (2006): « Effects of bactériophages on free radical production and phagocytic functions », *Med. Microbiol. Immunol*, 195:143-150,
42. Ravat F., Jault P. Gabard J. (2014). Bactériophages et phagothérapie : utilisation de virus naturels pour traiter les infections bactériennes. *Annals of Burns and Fire Disasters* - vol. XXVIII - n. 1 - March 2015,18p
43. Rivasi. M. (2013). *La phagothérapie une solution complémentaire aux antibiotiques*. Députée européenne Europe Écologie Les Verts du grand Sud-Est; P 8.

44. Rodier J., Bazin C., Broutin J. P., Chambon P., Rodi L. (2005). L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, chimie, physico-chimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats. Ed. Dunod, Paris, 1384 p.
45. Skrabber, S. (2003). *Intérêt des bactériophages en tant que témoin de contamination fécale et de présence de virus entériques pathogènes dans les eaux de la rivière Moselle* (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy 1).
46. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JG. (2001). Bacteriophage therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45, 649–659.
47. Twort, F. W. (1915). An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *The Lancet* 186, 1241-1243.
48. Weinbauer M.G., Rassoulzadegan F. (2004). Are viruses driving microbial diversification and diversity? *Environmental Microbiology*, 6, 1-11.
49. Wittebole, X., De Roock, S., et Opal, S. M. (2014). A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence*, 5(1), 226-235
50. Wommack K.E., Colwell R.R. (2000). Virioplankton : viruses in aquatic ecosystems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64, 69-114.

Résumés

Recherche des bactériophages lytiques dans les eaux usées et identification de leurs bactéries hôtes.

Résumé

L'objectif principal de notre étude était la mise en évidence des bactériophages dans les eaux usées de la wilaya de Khenchela en utilisant la méthode de plages de lyse. Nous avons aussi projeté d'identifier les différentes bactéries hôtes de ces phages et d'évaluer leur profil de résistance aux antibiotiques.

Malheureusement, avec la situation actuelle de la pandémie au COVID 19 et l'état de confinement imposé par l'état depuis le mois de mars, la partie pratique de cette étude a été annulée et on a été contraint de se contenter d'une recherche bibliographique sur les travaux antérieurs ayant la même thématique que la notre.

A partir de notre synthèse bibliographique, on peut dire qu'aujourd'hui toutes nos maladies infectieuses ne sont pas bien contrôlées par les médicaments actuels dû à l'augmentation de la résistance aux antibiotiques. C'est pourquoi il y a un regain d'intérêt pour les bactériophages qui semblent être un moyen prometteur de contrer ce problème. Les bactériophages possèdent des propriétés qui font d'eux une alternative adaptée aux traitements d'infection bactérienne définie.

Mots clés : Bactériophages , eaux usées, phagothérapie,

Search for lytic bacteriophages in wastewater and identification of their host bacteria.

Abstract

The main objective of our study was the detection of bacteriophages in wastewater in the wilaya of Khenchela using the lysis plaque method. We also planned to identify the different host bacteria of these phages and to assess their antibiotic resistance profile.

Unfortunately, with the current situation of the COVID 19 pandemic and the state of containment imposed by the state since March, the practical part of this study was canceled and we were forced to be satisfied with a research bibliographic on previous work on the same theme as ours.

From our review of the literature, we can say that today all our infectious diseases are not well controlled by current drugs due to the increase in resistance to antibiotics. This is why there is renewed interest in bacteriophages which appear to be a promising way to counter this problem. Bacteriophages have properties that make them a suitable alternative to treatments for defined bacterial infection.

Keywords : Bacteriophages, wastewater, phage therapy.

البحث عن العاثيات اللايتية في مياه الصرف الصحي وتحديد البكتيريا المضيفة لها.

ملخص

كان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو الكشف عن العاثيات في مياه الصرف الصحي بولاية خنشلة باستخدام تقنية المناطق الزائفة . خططنا أيضًا لتحديد البكتيريا المضيفة لهذه العاثيات وتقييم نسبة مقاومتها لمختلف المضادات الحيوية المستعملة في مجال الصحة

ولكن بالنظر إلى الظروف الصحية لجائحة كوفيد-19 العالمية والحجر الصحي الذي تفرضه الحكومة ، فقد تم استبدال الجزء العملي من هذه الدراسة ببحث ببيولوجرافي لأعمال سابقة في نفس الموضوع.

من خلال بحثنا، يمكننا القول أن جميع أمراضنا المعدية اليوم لا تخضع للسيطرة الجيدة بواسطة الأدوية الحالية بسبب زيادة مقاومة المضادات الحيوية. هذا هو السبب في وجود اهتمام متجدد بالعاثيات التي يبدو أنها طريقة واعدة لمواجهة هذه المشكلة. تمتلك العاثيات خصائص تجعلها بديلاً مناسباً للعلاجات للعدوى البكتيرية المحددة.

الكلمات المفتاحية : العاثيات ، مياه الصرف الصحي ، العلاج بالعاثيات ،