

UNIVERSITE MOHAMMED V-RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE : 2017

THESE N° : 95

**PHAGOTHÉRAPIE : DES VIRUS POUR
COMBATTRE LES INFECTIONS**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mr Zakaria ELMOUATASSIM

Né 18 Aout 1990 à Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES : Bactériophages-Phagothérapie-Antibiotique-Infections

MEMBRES DE JURY

Pr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

PRESIDENT

Pr. M. CHADLI

Professeur de Microbiologie

RAPPORTEUR

Pr. A. LAATIRIS

Professeur de Pharmacie Galénique

Pr. S. TELLAL

Professeur de Biochimie

JUGES

Pr. Y. SEKHSOKH

Professeur de Microbiologie

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا
ما علمتنا إنك أنت
العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. Mohamed KARRA

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <i>Clinique Royale</i>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENSAID Younes	Pathologie Chirurgicale
--------------------	-------------------------

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. CHAHED OUZZANI Houria	Gastro-Entérologie
Pr. LACHKAR Hassan	Médecine Interne
Pr. YAHYAOUI Mohamed	Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib	Chirurgie Pédiatrique
--------------------------------	-----------------------

Pr. DAFIRI Rachida

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine

Radiologie

Médecine Interne – *Doyen de la FMPR*
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation



Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation – *Doyen de la FMPO*
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – *Dir. du Centre National PV*
Chimie thérapeutique *V.D à la pharmacie+Dir du CEDOC*

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Radiothérapie

Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz

Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques

Doyen de la FMPA

Gynécologie Obstétrique
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie



Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur HMI Med V**
Urologie
Ophtalmologie
Génétique

Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*

Réanimation Médicale

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie



Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen de la FMP Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie
Cardiologie

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie- *Dir. Hop. Av. Marr.*

Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar

Anesthésie-Réanimation **Inspecteur du SSM**
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie **Directeur Hop. Chekikh Zaied**
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Neurologie

ORL

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie **Directeur. Hop.d'Enfants**
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie



Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHA Mohamed Zakariya*
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam

Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie Directeur Hôpital Ibn Sina
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale



Ophtalmologie
Anatomie Pathologique

Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOURIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Nouredine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZAOUI Sakina*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie



Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Cardiologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie (*mise en disponibilité*)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Saïd*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saïda*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie



Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leïla
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation **Directeur ERSM**
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation

Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. BELYAMANI Lahcen*

Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologie
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie



Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Rhumatologie
Neuro-chirurgie
Anesthésie Réanimation

Pr. BJIJOU Younes
 Pr. BOUHSAIN Sanae*
 Pr. BOUI Mohammed*
 Pr. BOUNAIM Ahmed*
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
 Pr. CHAKOUR Mohammed *
 Pr. CHTATA Hassan Toufik*
 Pr. DOGHMI Kamal*
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. EL OUENNASS Mostapha*
 Pr. ENNIBI Khalid*
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. L'KASSIMI Hachemi*
 Pr. LAMSAOURI Jamal*
 Pr. MARMADÉ Lahcen
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

Anatomie
 Biochimie-chimie
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Traumatologie orthopédique
 Hématologie biologique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Hématologie clinique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Médecine interne
 Gynécologie obstétrique
 Rhumatologie
 Gastro-entérologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Microbiologie Directeur Hôpital My Ismail
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Pédiatrie
 Hématologie biologique
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Cardiologie
 Pneumo-phtisiologie



PROFESSEURS AGREGES :
Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufik*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. MOSADIK Ahlam

Anesthésie réanimation
 Médecine interne
 Physiologie
 ORL
 Microbiologie
 Médecine aéronautique
 Biochimie chimie
 Radiologie
 Chirurgie pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Urologie
 Gastro entérologie
 Anatomie pathologique
 Anesthésie Réanimation

Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Chirurgie générale
Hématologie
Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie



Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSGHIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique.
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologie

Pr. EL KHLOUFI Samir
Pr. EL KORAICHI Alae
Pr. EN-NOUALI Hassane*
Pr. ERRGUIG Laila
Pr. FIKRI Meryim
Pr. GHFIR Imade
Pr. IMANE Zineb
Pr. IRAQI Hind
Pr. KABBAJ Hakima
Pr. KADIRI Mohamed*
Pr. LATIB Rachida
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
Pr. MEDDAH Bouchra
Pr. MELHAOUI Adyl
Pr. MRABTI Hind
Pr. NEJJARI Rachid
Pr. OUBEJJA Houda
Pr. OUKABLI Mohamed*
Pr. RAHALI Younes
Pr. RATBI Ilham
Pr. RAHMANI Mounia
Pr. REDA Karim*
Pr. REGRAGUI Wafa
Pr. RKAIN Hanan
Pr. ROSTOM Samira
Pr. ROUAS Lamiaa
Pr. ROUIBAA Fedoua*
Pr. SALIHOUN Mouna
Pr. SAYAH Rochde
Pr. SEDDIK Hassan*
Pr. ZERHOUNI Hicham
Pr. ZINE Ali*

Anatomie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Physiologie
Radiologie
Médecine Nucléaire
Pédiatrie
Endocrinologie et maladies métaboliques
Microbiologie
Psychiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Pharmacologie
Neuro-chirurgie
Oncologie Médicale
Pharmacognosie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Pharmacie Galénique
Génétique
Neurologie
Ophtalmologie
Neurologie
Physiologie
Rhumatologie
Anatomie Pathologique
Gastro-Entérologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie



Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
Pr. GHOUNDALE Omar*
Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Urologie
Médecine Interne

***Enseignants Militaires**

MARS 2014

ACHIR ABDELLAH
BENCHAKROUN MOHAMMED
BOUCHIKH MOHAMMED
EL KABBAJ DRISS
EL MACHTANI IDRISSE SAMIRA
HARDIZI HOUYAM
HASSANI AMALE
HERRAK LAILA
JANANE ABDELLA TIF
JEAIDI ANASS
KOUACH JAOUAD
LEMNOUER ABDELHAY
MAKRAM SANAA
OULAHYANE RACHID
RHISSASSI MOHAMED JMFAR
SABRY MOHAMED
SEKKACH YOUSSEF
TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

***Enseignants Militaires**

DECEMBRE 2014

ABILKACEM RACHID'
AIT BOUGHIMA FADILA
BEKKALI HICHAM
BENAZZOU SALMA
BOUABDELLAH MOUNYA
BOUCHRIK MOURAD
DERRAJI SOUFIANE
DOBLALI TAOUFIK
EL AYOUBI EL IDRISSE ALI
EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM
EL MARJANY MOHAMMED
FEJJAL NAWFAL
JAHIDI MOHAMED
LAKHAL ZOUHAIR
OUDGHIRI NEZHA
Rami Mohamed
SABIR MARIA
SBAI IDRISSE KARIM

***Enseignants Militaires**

AOÛT 2015

Meziane meryem
Tahri latifa

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique
Génécologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Cardiologie
Médecine Interne
Génécologie-Obstétrique



Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Microbiologie
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

Dermatologie
Rhumatologie

JANVIER 2016

BENKABBOU AMINE
EL ASRI FOUAD
ERRAMI NOUREDDINE
NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia
Pr. ALAMI OUHABI Naima
Pr. ALAOUI KATIM
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
Pr. ANSAR M'hammed
Pr. BOUHOUCHE Ahmed
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
Pr. BOURJOUANE Mohamed
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia
Pr. DAKKA Taoufiq
Pr. DRAOUI Mustapha
Pr. EL GUESSABI Lahcen
Pr. ETTAIB Abdelkader
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes
Pr. HAMZAOUI Laila
Pr. HMAMOUCHE Mohamed
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. KHANFRI Jamal Eddine
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
Pr. REDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed
Pr. ZELLOU Amina

Physiologie
Biochimie – chimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Génétique Humaine
Applications Pharmaceutiques
Microbiologie
Biochimie – chimie
Physiologie
Chimie Analytique
Pharmacognosie
Zootechnie
Pharmacologie
Biophysique
Chimie Organique
Biologie moléculaire
Biologie
Chimie Organique
Chimie
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique



*Mise à jour le 14/12/2016 par le
Service des Ressources Humaines*

DEDICACES

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il
faut...*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,
L'amour, le respect, la reconnaissance...*

*Aussi, c'est tout simplement que Je dédie cette
thèse ...*

A Allah

Tout puissant

Qui m'a inspiré

Qui m'a guidé dans le bon chemin

Je vous dois ce que je suis devenue

Louanges et remerciements

Pour votre clémence et miséricorde

A ma tendre mère

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et
l'affection que j'ai toujours eus pour toi.*

*Tes conseils, ta bienveillance et tes encouragements
m'ont permis de dépasser toutes les difficultés.*

*Ce travail est le fruit des efforts et sacrifices que tu
as consentis pour mon éducation et ma formation.*

Que dieu te prête longue vie et bonne santé.

*Avec beaucoup de patience et de volonté, tu t'es
sacrifiée pour nous, tu as tout fait pour que j'arrive à
mon but.*

*Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand
secours pour mener à bien mes études.*

*Je te dédie ce travail en gage de mon amour et de
mon estime les plus profonds.*

A mon très cher père

*A qui je dois tout, et pour qui aucune dédicace
ne saurait exprimer l'amour, l'estime et la reconnaissance
pour l'ampleur des sacrifices que tu as endurés pour nous éduquer.*

*Pour tes immenses sacrifices, ton courage et ton
dévouement pour le bonheur et le succès de notre foyer et
de notre famille.*

Je n'ai été guidée que par le désir de t'honorer.

J'espère qu'aujourd'hui tu es fier de moi.

Que ce travail soit le témoignage de ma gratitude et de toute mon affection.

*Que Dieu vous garde et vous procure, maman et
toi, longue vie, santé et bonheur, afin que vous
demeuriez le soleil qui illumine notre vie.*

A vous, je dois ce que je suis.

*Je suis fier et content de réaliser une partie
de ce que vous avez tant espéré et attendu de moi.*

A ma très chère sœur

Je ne saurais exprimer tout ce que je ressens pour toi.

*Je te dédie ce travail en témoignage de l'affection et des sentiments de fraternité
qui nous unissent. Tu m'as toujours soutenu tout au long de mes études.*

Je te souhaite santé, réussite et l'envie de réaliser tes rêves.

A mes frères

*Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de
tendresse envers vous.*

Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais.

*Je vous souhaite la réussite dans la vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour
vous combler.*

*A la mémoire de mes chers grands-parents paternels,
mon oncle Belkacem et ma tante oumekltoum*

Que leurs âmes reposent en paix,

A mes grands-parents maternels

Je vous dédie cette thèse en témoignage de gratitude d'estime et d'attachement.

Puisse dieu vous accorder santé, Longue vie et prospérité.

A Mes Oncles et Tantes A Mes Cousins et Cousines

Veillez accepter l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien, encouragements, et affection. J'espère que vous retrouvez dans la dédicace de ce travail, le témoignage de mes sentiments sincères et de mes vœux de santé et de bonheur.

A Zineb

Nulle dédicace ne saurait exprimer l'amour,

l'estime et l'affection que j'ai pour toi

A mon meilleur ami Saïd

Nous vivons tous des situations pendant lesquelles il est dur de continuer et on a envie de tout laisser tomber. C'est à ce moment-là que le meilleur ami nous motive et nous aide à vaincre les obstacles pour atteindre nos objectifs.

Merci pour tout.

A mes amis

Abdelilah Elbarrichi, Mehdi Elkhadir, Hamza Lamkhezni, Ismail Chahbouni, Issam Nasry, Hiba Zahi, Hicham Belkhir, Boualaoui Imad, Lamya Elmidaoui, Jihane Elmahi, Tarik Elmountassir, Lahbib Elmibrak, Oumaima M'hamdi, Nora Dakhch, Jihad Lakssir, Khalid Ouahmane, Nadia Abounouh, Ilyass moumadi, Mhedi Elhailouch, Rihab Sadqi, Jaber Elkaisi, Abdelilah Hedfaoui, Omar Elaoufir, Anas Zouine ...

Veillez accepter l'expression de ma gratitude et mon amitié éternelle. Merci pour votre soutien durant les moments difficiles. Merci pour votre encouragement, la joie que vous m'avez procurée et tous les moments inoubliables que nous avons passés ensemble. Puisse ce travail être le témoignage de mes sentiments sincères. Je vous souhaite bonheur, santé et prospérité. Que notre amitié reste à jamais.

A tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.

A tous Mes enseignants tout au long de mes études.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A tous ceux qui ont cette pénible tâche de soulager les gens et de diminuer leurs souffrances.

REMERCIEMENTS

A

*notre Maître et Président de Jury, Mimoun
ZOUHDI Professeur de microbiologie à la Faculté de
Médecine et de Pharmacie de Rabat et Chef de service
de Microbiologie au CHU Ibn SINA de Rabat.*

*Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous faites en
acceptant la présidence de notre thèse. Votre compétence pratique, vos
qualités humaines et professionnelles, ainsi que votre compréhension à
l'égard des étudiants nous inspirent une grande admiration et un
profond respect. Qu'il soit permis, cher maître, de vous exprimer notre
sincère reconnaissance.*

A

notre Maître et Rapporteur de thèse Mme. Mariama CHADLI, Professeur de Microbiologie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat,

Pour vos propositions judicieuses, inhérentes au choix du sujet de cette thèse. Pour les efforts inlassables que vous avez déployés pour que ce travail soit élaboré. Pour Votre aptitude intellectuelle, vos compétences professionnelles, ainsi que votre modestie. Pour votre gentillesse, votre soutien indéfectible durant toutes les étapes de ce travail. Veuillez accepter mes sincères remerciements de même que le témoignage de mon profond respect.

A

NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE

Madame Saida TELLAL

Professeur de biochimie

*C'est pour nous un honneur et un grand privilège de vous avoir dans
notre jury de thèse.*

*Merci pour la simplicité dont vous avez témoigné en acceptant de siéger
dans notre jury.*

*Veillez trouver dans ce travail, l'expression de notre gratitude et de
notre grande estime.*

Merci !

A

NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE

Monsieur Abdelkader LAATIRIS

Professeur de pharmacie galénique

Vous nous avez reçus avec beaucoup d'amabilité, nous en avons été très touchés. C'est pour nous un grand honneur de vous avoir dans notre Jury de thèse.

Veillez recevoir l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Merci !

A

NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE

Monsieur Yassine SEKHSOKH

*Professeur de Microbiologie à la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de Rabat,*

*Nous vous remercions vivement pour l'honneur que vous nous faites en
acceptant de juger ce travail.*

*Nous sommes très sensibles à votre simplicité et à votre accueil très
aimable.*

*Que ce travail soit pour nous l'occasion de vous exprimer notre
gratitude et notre profond respect.*

Merci !

ILLUSTRATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS

ACdeBMR	: Alliance contre le développement des bactéries
AMM	: Autorisation de Mise sur le Marché
ADN	: Acide désoxyribonucléique
ADVIN	: Association des Victimes d'Infections Nosocomiales
ADME	: Absorption-Distribution-Métabolisation-Excrétion
AMPc	: Adénosine monophosphate cyclique
ARN	: Acide ribonucléique
ARNm	: ARN messenger
BMR	: Bactéries multirésistantes
CHU	: Centre Hospitalier Universitaire
CRISPR	: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (groupe decourtes répétitions palindromiques régulièrement espacées)
CSP	: code de la santé publique
EIBMV	: Eliana institue of bacteriophage, microbiology and virology
IOA	: Infections ostéoarticulaires
ICTV	: International Committee on Taxonomy of Virus (Comité internationalde taxonomie des virus)
IL	: Interleukine
IN	: infections nosocomiales
JAMA	: journal of the American medical association
Kb	: kilobase
LPS	: Lipopolysaccharide
MOI	: multiplicity of infection
mL	: millilitre
MAP	: <i>Mycobacteriumavium paratuberculosis</i>

NCBI : National Center for Biotechnology Information (Centre national américain d'information en biotechnologie)

NK : Natural killers (tueurs naturels)

NDM : New Delhi metallo-beta-lactamase

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie

P.H.A.G.E. : Phages for Humain Application Group Europe (Groupe européen d'application de phages en médecine humaine)

PAS : Phage-Antibiotic Synergy (synergie phage-antibiotique)

PFU : Plages Formant Unité

US : United states

URSS : Union des républiques socialistes soviétiques

UV : Ultraviolet

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SWOT : Strengths – Weaknesses – Opportunities – Threats (Forces – Faiblesses – Opportunités – Menaces)

TNF : Tumor necrosis factor (facteur de nécrose tumorale)

TA : Toxine-antitoxine

LISTE DES FIGURES

Figure 1: F. W. Twort Royal Army Medical Corps at the Base laboratory in Salonika, Greece, in 1916.	6
Figure 2: Portrait de Félix d'Hérelle	8
Figure 3: Cocktail "Bacté-intesti-phage"	11
Figure 4 : Portrait d'André Gratia	14
Figure 5: Le centre Eliava de la phagothérapie - situé sur les terrains de l'Institut Eliava de bactériophages, de microbiologie et de virologie (EIBMV) à Tbilissi	16
Figure 6 : Visualisation de phages par Edmund Ruska.....	19
Figure 7: En 1929, Sir Alexander Flemming découvre la pénicilline.....	21
Figure 8 : Incidence de six infections antibiorésistantes (Hongrie 2005)	23
Figure 9: Pourcentage de publications contenant le terme "phage therapy"	26
Figure 10 : Structure schématique d'un phage caudé [50]	31
Figure 11 : Morphotypes des différentes familles de bactériophages	38
Figure 12 : Représentation schématique des 3 familles des bactériophages composant l'ordre des <i>Caudovirales</i>	39
Figure 13 : Schéma du cycle lytique	44
Figure 14 : Schéma général du cycle de vie du bactériophage tempéré λ	46
Figure 15 : Boîte de Pétri avec des plages claires	67
Figure 16 : Photo du PhagoBioDerm	71
Figure 17 : Matrice SWOT, avec mots anglais et traduction	74

Figure 18 : Cycle de formation du biofilm bactérien chez <i>P. aeruginosa</i>	76
Figure 19 : La dégradation de la capsule polysaccharidique bactérienne par une glycanase véhiculée par un phage	78
Figure 20 : Résistance aux Céphalosporines de 3ème génération chez <i>Klebsiella Pneumoniae</i> et <i>Escherichia coli</i> dans les infections invasives, France, 2002 – 2012	81
Figure 21 : Schéma représentant le système CRISPR/Cas.....	88
Figure 22 : Action locale d'un polymère biodégradable imprimé de bactériophages sous le nom « phagobioderm ».....	98
Figure 23 : Les différentes étapes des essais cliniques	100
Figure 24 : Le nombre de publications par an sur Pubmed contenant le terme « phage therapy », entre 1945 et 2012	101
Figure 25 : Le phénomène de « Synergie Phages-Antibiotiques » (PAS) avec le phage ϕ MFP	
103	
Figure 26 : Le phénomène de « synergie phages-antibiotiques » (PAS) dans l'environnement	104

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les différents genres de la famille des Myoviridae	33
Tableau 2 : Les différents genres de la famille des Siphoviridae	34
Tableau 3 : Les différents genres de la famille des Podoviridae.....	34
Tableau 4 : Les différents genres de la famille des Lipothrixiviridae.....	35
Tableau 5 : La famille des Rudiviridae	35
Tableau 6 : Avantages et inconvénients comparés de la phagothérapie et de l'antibiothérapie	83
Tableau 7 : Synthèse des avantages et inconvénients de l'utilisation thérapeutique des bactériophages.....	94

SOMMAIRE

Table des matières

INTRODUCTION.....	1
PREMIÈRE PARTIE : HISTOIRE DE LA DÉCOUVERTE ET DE L'ÉTUDE DE LA PHAGOTHÉRAPIE	4
I- La découverte des bactériophages	5
II- Les premières polémiques	8
III- Le développement de la phagothérapie à travers le monde	12
IV- Le déclin.....	17
V- Renaissance de la phagothérapie	21
DEUXIÈME PARTIE : DESCRIPTION DES BACTÉRIOPHAGES ET DE LA PHAGOTHÉRAPIE	27
I- Les bactériophages.....	28
1- Définition.....	28
2- Morphologie des bactériophages	29
3- Classification des bactériophages	31
4- Ecologie et intérêt environnemental des bactériophages.....	39
5- Cycles infectieux des bactériophages	41
6- Transduction	47
7- Spécificité phages-bactéries	48
II- La phagothérapie	50
1- Principe.....	50
2- Pharmacologie	51
3- Préparation des phages pour une utilisation thérapeutique	63
4- Phagogramme	66
5- Phagothèque.....	68
6- Cocktails	68
TROISIÈME PARTIE : LA PHAGOTHÉRAPIE AUJOURD'HUI.....	72
I- Méthode d'analyse employée	73
II- Forces.....	75

1- Avantage sur les antibiotiques	75
2- Peu d'effets secondaires	79
3- Autres bénéfices thérapeutiques	80
4 - Accessibilité.....	83
III- Faiblesses	84
1- Tous les phages ne sont pas aptes à être utilisés en phagothérapie	84
2- Phago-résistances.....	85
3- Handicap pharmacologique	89
IV- Indications	95
1- Passé, présent et avenir	95
2- Traitement anti-infectieux	105
3- Phagoprophylaxie	113
V- Limites.....	113
1- Une redécouverte compliquée	113
2 - Absence de réglementation adaptée	115
3- Limites industrielles	117
CONCLUSION.....	118
RESUME.....	120
BIBLIOGRAPHIE	124

INTRODUCTION

La résistance bactérienne aux antibiotiques est une problématique à l'échelle mondiale. Les prescriptions trop importantes des antibiotiques en médecine humaine mais aussi en médecine animale sont à l'origine d'une plus forte résistance des bactéries face aux traitements.

Face à l'augmentation des infections impliquant des bactéries multirésistantes, le besoin de nouveaux traitements antibactériens efficaces est de plus en plus impérieux.

De plus, aujourd'hui, pour diverses raisons, le développement de nouvelles molécules est quasi inexistant à tel point que certains n'hésitent pas à évoquer la fin d'une période et annoncent une ère « post antibiotique »

Parmi les différents traitements envisagés pour éviter la menace d'une « ère post-antibiotiques », la phagothérapie apparait comme un candidat particulièrement intéressant.

Cette technique consiste à utiliser des bactériophages dont la particularité est d'infecter uniquement les bactéries, afin de les détruire. Seuls certains pays appartenant à l'ancien bloc soviétique (Géorgie, Pologne, Russie, etc.) continuent à l'utiliser de nos jours.

Le principal objectif de cette étude est de découvrir cette phagothérapie et de comprendre sa place dans l'enjeu actuel de lutte contre les infections multi-résistantes aux traitements antibactériens.

Cette thèse s'organise en trois parties. Dans un premier temps, j'explorerai l'histoire riche en rebondissements de la phagothérapie, de sa découverte au début des années 1900 à sa disparition dans les pays occidentaux, puis à sa redécouverte dans les années 1980. Je traverserai ses périodes d'essor tout comme ses périodes de déclin, à travers les multiples espoirs, les différentes controverses et les réussites ou échecs thérapeutiques qu'elle a pu connaître.

Puis, dans la deuxième partie, je détaillerai les multiples caractéristiques des phages et de la phagothérapie.

Enfin, dans la troisième et dernière partie, j'analyserai la place de la phagothérapie face à l'actualité des infections à germes multirésistants. Pour ce faire, j'évaluerai les différents avantages et inconvénients de cette thérapie. J'examinerai ainsi la potentialité de la

réhabilitation de cette approche en milieu médical à la lumière de cette analyse et déterminerai les écueils à éviter et les points encore obscurs à explorer.

**PREMIÈRE PARTIE : HISTOIRE DE
LADÉCOUVERTE ET DE L'ÉTUDE
DE LAPHAGOTHÉRAPIE**

I- La découverte des bactériophages

Le moment précis de la découverte des bactériophages a souvent été sujet à débats et à controverses.

La découverte des bactériophages s'est déroulée en plusieurs étapes, par l'intermédiaire de scientifiques différents et cela de façon indépendante les uns des autres.

La première observation d'une activité bactéricide est attribuée à Ernest Hanbury Hankin (bactériologiste britannique) en 1896. Il travaillait alors en Inde sur le microbe du choléra (*Vibrio cholerae*) et plus particulièrement sur deux rivières, le Gange et la Jumna.

Il remarqua que la quantité de microbes dans celles-ci était très faible comparativement aux rivières européennes de même importance. De plus, il observa que lorsque le fleuve était contaminé par le microbe du choléra (cadavres des cholériques, baignades des Indous, drainage des villes, etc.), le nombre de microbes allait en décroissant rapidement en aval du fleuve.

Ce phénomène n'était pas dû à un manque de nutriments dans la rivière, qui n'aurait pas permis d'entretenir la vie du microbe, mais bien à une action bactéricide puissante sur le vibron du choléra provoquant une asepsie du fleuve. Enfin, il démontra que cette action bactéricide était présente uniquement avec de l'eau provenant de la rivière, filtrée sur un filtre Pasteur afin d'éliminer les microbes, mais dont l'effet disparaissait avec l'eau bouillie.

Pour les spécialistes des phages, ce travail est le premier témoignage scientifique de l'existence de ces virus de bactéries et de leur potentiel en thérapeutique antibactérienne.

Ernest Hanbury Hankin, malgré ses observations, ne parvint pas à découvrir la nature et l'origine de la substance active présente dans le Gange et la Jumna.[1][2]

En 1915, Frederick Twort (figure 1), chercheur bactériologiste anglais, rapporta lui aussi le même phénomène. Il émit de nombreuses hypothèses sur la nature de la substance antibactérienne impliquée et proposa entre autres qu'il pourrait s'agir d'un virus. Cependant,

pour des raisons principalement financières, Twort ne put approfondir ses recherches sur le sujet [3][4][5].



Figure 1 : F. W. Twort Royal Army Medical Corps at the Base laboratory in Salonika, Greece, in 1916.

Il fallut attendre les travaux de Félix d'Hérelle (figure 2), chercheur franco-canadien travaillant à l'Institut Pasteur pour commencer à comprendre la nature et l'importance de cette substance inconnue, nommée alors par certains « phénomène de Twort-d'Hérelle ».

Félix d'Hérelle a pressenti très tôt le rapport entre un phénomène observé au laboratoire et le phénomène de la guérison clinique en 1917. Pour lui, l'apparition de plages claires, observée dans les boîtes de Petri sur lesquelles cultivaient les bactéries responsables de dysenterie bacillaire, semblait annoncer la guérison. En effet, dès le 9 décembre 1918, d'Hérelle après avoir constaté que « la pathogénie et la pathologie de la dysenterie bacillaire sont dominées

par deux facteurs agissant en sens contraire : le bacille dysentérique, agent pathogène et le microbe filtrant bactériophage, agent d'immunité », affirma que c'est « logique de proposer comme traitement de la dysenterie bacillaire l'administration, dès l'apparition des premiers symptômes, de cultures actives du microbe bactériophage ».[6]

Il eut à s'intéresser à une épizootie de typhose aviaire[7] qui sévissait en France. Il profita de cette occasion pour généraliser ses conclusions quant à l'histoire naturelle de la guérison par le bactériophage. Il alla plus loin encore affirmant dès ce moment que « l'immunité est contagieuse au même titre que la maladie elle-même. Il résulte également des faits énoncés que l'ingestion d'une culture du microbe bactériophage provenant d'une souche douée d'une virulence exaltée pour le bacille pathogène doit être de nature à conférer l'immunité ». D'Herelle a isolé du bactériophage actif contre différentes espèces de bacilles (outre les précédents, *Escherichia coli*, *Proteus*, plusieurs *Salmonella*).[8]

Il a démontré avec beaucoup d'assurance qu'il s'agissait d'un « microbe » et non pas d'une « diastase ». Le principal critère démontrant la nature virale du phénomène étant l'apparition de plages claires sur les boîtes de Petri.



Figure 2 : Portrait de Félix d'Hérelle

II- Les premières polémiques

Pendant les vingt années qui suivirent, la phagothérapie vécut une très forte expansion à travers le monde. À cette époque, aucun traitement contre les infections bactériennes n'était vraiment efficace. Pourtant, la crédibilité de d'Hérelle fut dès le départ mise en doute. En particulier, la nature réelle des bactériophages et leurs mécanismes d'action, le comportement *in vivo* des phages suite à leur administration, la variabilité des résultats thérapeutiques, le développement non standardisé du marché des suspensions phagiques étaient les principales sources de polémique.

En émettant l'hypothèse que les phénomènes de l'immunité et de la guérison étaient liés à la présence d'un « virus » invisible (et non pas aux anticorps, qui avaient été découverts par Jules Bordet), la théorie sur laquelle reposait la phagothérapie était à la fois provocatrice et hors des théories officielles.

Ceci a valu de nombreux détracteurs et de nombreuses critiques à l'encontre de laphagothérapie.

De plus, beaucoup d'éléments contribuaient à un méconnaissance de la nature réelle du principe lytique. En particulier, la virologie était encore une science balbutiante et le microscope électronique n'existait pas encore.

Dès le début de l'année 1920, Tamezo Kabeshima a rejeté, comme de nombreux chercheurs par la suite, la théorie virale pour expliquer le phénomène lytique observé. Pour cela, il a tenté de démontrer la nature chimique du bactériolysat, qu'il a appelé ferment (« Sur le ferment d'immunité bactériolysant, du mécanisme d'immunité infectieuse intestinale, de la nature du dit « microbe filtrant bactériophage » de d'Hérelle », 1920).

A la fin de l'année 1920, Jules Bordet (immunologiste et microbiologiste belge, lauréat du prix Nobel de physiologie et de médecine en 1919 pour ses travaux sur les mécanismes de l'immunité) et Michael Ciuca (scientifique roumain, chercheur et enseignant dans le domaine de la bactériologie) se sont intéressés à la découverte de d'Hérelle. Ils ont profité d'un des voyages de d'Hérelle en Indochine pour se procurer et analyser des tubes supposés contenir des bactériophages isolés par d'Hérelle. Cet épisode fut le point de départ d'une polémique qui opposa d'Hérelle aux savants de l'Institut Pasteur de Bruxelles et a duré une décennie.

Deux notes de Bordet et Ciuca (« Exsudats leucocytaires et autolyse microbienne » ; « le bactériophage de d'Hérelle, sa production et son interprétation » en 1920) ont contesté la nature particulière (virale) du phénomène de d'Hérelle.

Par la suite les théories virales et enzymatiques du principe lytique avaient leurs défenseurs, ce qui n'a pas empêché, comme on l'a vu précédemment, que plusieurs essais thérapeutiques soient entrepris.

Les personnalités scientifiques les plus éminentes de l'époque se sont acharnées à vouloir que la phagothérapie soit la résultante d'un principe chimique ou enzymatique. La conception infectieuse du phénomène, dont d'Hérelle avait fait l'hypothèse, était sans doute trop audacieuse dans le contexte scientifique du moment.

Face à des autorités éminentes comme l'Institut Pasteur de Bruxelles en Europe, ou l'Institut Rockefeller aux Etats-Unis, qui travaillaient en étroite collaboration, les tenants de la nature

virale du phénomène peinaient à se faire entendre. D'autres arguments négatifs à l'encontre de la phagothérapie trouvaient leur fondement dans les échecs de travaux entrepris et publiés. D'Hérelle, lui-même, a combattu ces arguments et rappelé les conditions indispensables pour éviter ces échecs : en priorité, l'utilisation de phages réellement actifs contre la bactérie responsable de l'infection à traiter.

Les produits commercialisés par de nombreuses firmes dans le monde ne respectaient pas cette condition essentielle. Devant des conséquences aussi variables, le doute s'est installé. Dans le même temps, D'Herelle défendait invariablement ses idées princeps :

- Le phage est « vivant »
- Il n'existe qu'une seule espèce capable de s'adapter à n'importe quel hôte bactérien (alors qu'il fut clairement démontré dès 1928 que les propriétés antigéniques et d'ultracentrifugation des phages étaient suffisamment variables pour qu'il s'agisse de structures différentes)
- Son rôle dans l'immunité est majeur.

Il n'hésita pas à critiquer avec mauvaise foi les travaux qui le contredirent. Bénéficiant malgré tout d'une réputation internationale, D'Herelle devint en 1928 professeur dans la célèbre Université de Yale, où fut créé spécialement pour lui, une chaire de « protobiologie ». Puis pour des raisons obscures, il en claqua la porte en 1933, et partit fonder avec l'un de ses plus fervents disciples, Eliava, un Institut dans la jeune République Soviétique de Géorgie. Le but de cette structure était de promouvoir le développement de la phagothérapie en Union Soviétique. Malgré le décès tragique d'Eliava en 1937, l'Institut perdura tout au long des années de communisme. Il survécut à la guerre civile de 1991 qui suivit l'effondrement du bloc soviétique, et continue encore aujourd'hui, dans des conditions extrêmement difficiles à produire des phages à des fins thérapeutiques.

De retour à Paris, tout en poursuivant ses travaux de recherche fondamentale, il céda l'exploitation de sa découverte au laboratoire « Robert et Carrière » qui devint plus tard Synthelabo (filiale de l'Oréal). Le « laboratoire du bactériophage » fabriqua et commercialisa des suspensions buvables de phages aux noms très explicites tel que « Bacté-Intesti-Phage » (figure 3). Pour le traitement des entérites coliques et des diarrhées infantiles, ou « Bacti-Pyelo-Phage » pour le traitement des colibacilluries, des pyélonéphrites et des cystites. De

nombreux autres laboratoires dont Eli Lilly Compagny (US) se lancèrent dans ce commerce. La qualité des produits phagiques n'était cependant pas toujours assurée. À la limite du charlatanisme, un de ces laboratoires n'hésita pas à vendre une suspension aux multiples vertus qui se vantait en plus du traitement de nombreuses infections bactériennes de pouvoir soigner l'herpès, l'urticaire et l'eczéma. Pis encore, d'autres laboratoires sans scrupule, commercialisèrent des suspensions qui ne contenaient aucun principe lytique (en fait les stabilisants utilisés par ces fabricants détruisaient les phages) [9].



Figure 3 : Cocktail "Bacté-intesti-phage"

III-Le développement de la phagothérapie à travers le monde

Malgré ces critiques, d'Hérelle maintint ses positions et poursuivit ses recherches sur le sujet. Il se tourna très rapidement vers l'utilisation des phages dans les soins thérapeutiques. Ainsi, en 1919, il employa pour la première fois *in vivo* le fruit de sa découverte contre une épidémie de typhose aviaire (*Salmonella enterica* serovar Gallinarum) en Europe.

Il se rendit dans vingt-cinq élevages de volailles contaminés situés dans différents départements éloignés les uns des autres et élaborait une suspension de bactériophages à partir de fèces de volailles malades. Il administra cette suspension oralement à des animaux sains, et par injection à des animaux malades. Alors que cette infection était normalement mortelle pour 95 à 100 % des volailles contaminées et non traitées, le traitement de d'Hérelle permit à 95 % des poules de survivre. Le biologiste en conclut que sa suspension avait été efficace tant sur le plan thérapeutique que prophylactique.[10]

Fort de ce succès thérapeutique, d'Hérelle partit quelques mois plus tard à Saïgon (ancien nom de Hô-Chi-Minh-Ville, située en Cochinchine, province historique au sud de l'actuel Viêt-Nam) soigner, avec succès, des buffles (*Babulus bubalis*) atteints de barbone (septicémie hémorragique bovine mortelle due à *Pasteurella multocida*). Ses travaux sur la barbone, relus à la lumière des connaissances d'aujourd'hui, laissent cependant penser que ce n'est pas la phagothérapie qui a permis la guérison des bovins, mais qu'il s'agirait plutôt d'une immunisation involontaire créée par l'administration de débris bactériens souillant les suspensions.[11]

Ces réussites thérapeutiques sur les animaux confortèrent d'Hérelle sur l'intérêt des bactériophages et le poussèrent à promouvoir la phagothérapie et à l'appliquer chez l'homme. Félix d'Hérelle effectua au cours de l'été 1919, une première tentative à l'hôpital Necker-Enfants Malades sur des patients atteints de dysenterie bacillaire. Il administra *per os* (dans un verre d'eau) « son » bactériophage et observa une guérison rapide des enfants avec une disparition des selles sanglantes et une amélioration de l'état général en 6 à 24 heures. Ces

résultats très positifs ne seront publiés que deux ans plus tard dans son livre : *Le bactériophage : son rôle dans l'immunité*

En 1921, le scientifique belge Richard Bruynoghe et son élève d'alors Joseph Maisin, sont parvenus à traiter six patients souffrant d'infections staphylococciques (anthrax et furoncles) grâce à un bactériophage du staphylocoque. Les guérisons sont survenues rapidement en 24 à 48 heures après l'injection de bactériophages, le plus près possible des zones infectées. Enfin, ils n'ont observé qu'un seul effet indésirable, la fièvre qui est apparue essentiellement chez les malades atteints de vastes lésions et cela à cause de la lyse bactérienne importante qui a libéré une grande quantité de produits microbiens pyrogènes.[12][13][14]

Toujours en 1921, André Gratia (figure 4), un scientifique travaillant dans les laboratoires du *Rockefeller Institute for Medical Research* aux États-Unis, publia dans une revue scientifique américaine les découvertes effectuées par Félix d'Hérelle .[15]

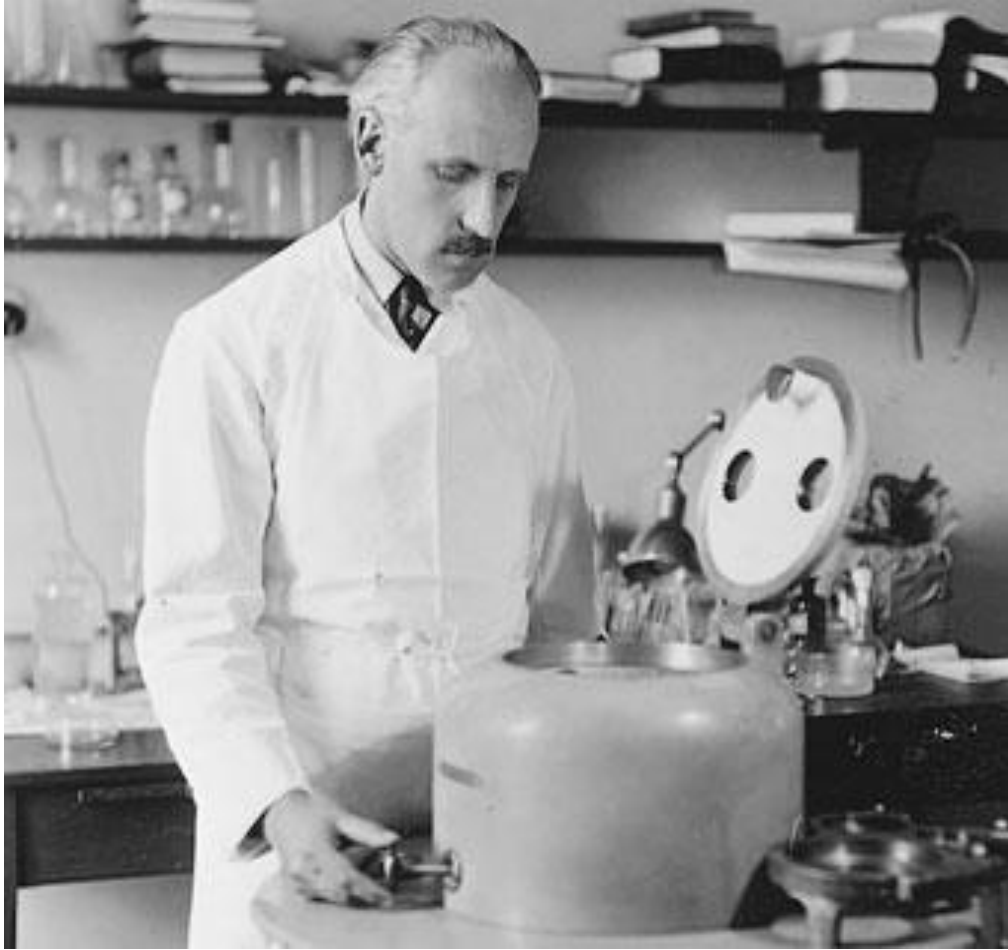


Figure 4 : Portrait d'André Gratia

La rédaction de cet article a sûrement permis une diffusion mondiale et un accroissement de la renommée des phages et de Félix d'Hérelle lui-même. De plus en 1922, André Gratia a réussi à isoler un bactériophage dirigé contre la bactérie staphylocoque et à l'employer à des fins thérapeutiques, d'abord sur le lapin, puis sur l'homme. En effet, il a pu soigner dans les hôpitaux de Bruxelles, une cinquantaine de patients atteints d'affections staphylococciques cutanées (abcès, furoncles, anthrax) grâce à l'application locale du bactériophage.[16]

La même année, A. Beckerich et Paul Hauduroy effectuèrent le traitement de plusieurs patients atteints de la fièvre typhoïde ou paratyphoïde par un bactériophage. Ils obtinrent des résultats mitigés : sur sept patients, deux n'ont pas pu être guéris. Ils tentent d'expliquer leur échec par trois hypothèses : une intervention trop tardive, une dose administrée trop faible ou encore une infection polymicrobienne .[17]

Les essais cliniques sur différentes pathologies (fièvre typhoïde ou paratyphoïde, infections urinaires hautes ou basses, affections staphylococciques ou streptococciques, etc.) se poursuivaient à travers le monde (France, Belgique, Italie, Angleterre, Allemagne, États-Unis, Brésil, etc.) et Félix d'Hérelle parcourait le globe afin de promouvoir et d'aider partout où on le sollicitait. Malheureusement, il serait trop long d'exposer toutes les publications réalisées pendant cette période, d'autant plus que les résultats des nombreuses expériences furent très variables et parfois même contradictoires. On pouvait observer une rémission totale et qualifiée de miraculeuse ou un échec complet avec parfois la mort du patient. Ces différences peuvent s'expliquer par un manque de standardisation et de protocole dans l'élaboration des suspensions de phages, des voies d'administration, des posologies, etc.[18]

Malgré tout, les bactériophages démontrèrent un potentiel inespéré pour lutter contre les infections bactériennes qui faisaient des ravages à cette époque. C'est ainsi que sont apparues dans les années 1920-1930 les premières commercialisations de préparations phagiques à usage thérapeutique *via* les entreprises pharmaceutiques, notamment Robert & Carrière en France où Félix d'Hérelle installa son laboratoire à partir de 1928. Cinq spécialités à base de phages seront créées et connurent un grand succès pendant les années 1930 : bacté-staphyphage, bacté-intesti-phage, bacté-rhino-phage, bacté-coli-phage ou encore bacté-pyo-phage .[19]

En 1933, Félix d'Hérelle rejoint son ancien élève de l'Institut Pasteur, Georgi Eliava (microbiologiste géorgien) à Tbilissi en Géorgie où se trouve l'Institut du bactériophage, de microbiologie et de virologie (figure 5), fondé par ce dernier en 1923. Ils collaborèrent ensemble pendant dix-huit mois à la recherche et à la production de phages thérapeutiques. Aujourd'hui encore, l'Institut continue à avoir un rôle très important dans la phagothérapie, discipline qu'ils n'ont jamais cessé d'étudier .[5]



Figure 5 : Le centre Eliava de la phagothérapie - situé sur les terrains de l'Institut Eliava de bactériophages, de microbiologie et de virologie (EIBMV) à Tbilissi

IV-Le déclin

Malgré les recherches de l'époque, plusieurs points intriguaient toujours les scientifiques :

- la nature des phages toujours inconnue ;
- la variabilité des résultats thérapeutiques ;
- la découverte par certaines études pharmacologiques de la neutralisation des phages par certains liquides biologiques ;
- le développement anarchique du marché des suspensions phagiques.

Ces points inquiétaient beaucoup les autorités sanitaires et, en 1934, le *Council on Pharmacy Chemistry*, sorte d'agence du médicament aux Etats-Unis (ancêtre de la *Food and Drug Administration*) demanda en 1934 au microbiologiste Monroe Eaton et au bactériologiste Stanhope Bayne-Jones un rapport sur l'ensemble des publications, afin de juger de la pertinence de cette nouvelle thérapeutique. Le rapport fut publié dans le prestigieux journal médical JAMA (*Journal of the American Medical Association*) et rendit des conclusions sans appel pour la phagothérapie[20]:

- La nature du bactériophage à l'origine du principe lytique découvert par Félix d'Hérelle n'est pas prouvée.

- Il n'est pas démontré que le bactériophage soit une entité vivante, il semble plutôt indiquer qu'il s'agisse d'un principe inanimé ou d'une enzyme.

- Si l'action lytique du bactériophage est efficace *in vitro*, il le devient beaucoup moins *in vivo* car le sang et les fluides de l'organisme l'inhibent.

- Seul le traitement des infections locales à *Staphylococcus aureus* et des infections urinaires basses à *Escherichia coli* ou à *Staphylococcus aureus* par un bactériophage est efficace.

- Les autres résultats positifs décrits semblent être dus à l'action immunisante des protéines bactériennes contenues dans les suspensions utilisées.

Malgré cette publication négative et en l'absence d'antibactériens alternatifs, les travaux se poursuivirent jusqu'à ce qu'en 1941[21], une nouvelle révision, là encore demandée par le «

Council on Pharmacy and Chemistry » livre une fois de plus des conclusions très sévères (Krueger et Scribner, 1941). Les scientifiques Albert Krueger et Jane Scribner indiquèrent dans ce document que la substance nommée bactériophage était apparemment une protéine de haut poids moléculaire synthétisée par des bactéries sous forme de précurseur inactif et activée ensuite par d'autres phages matures. Les autres conclusions allèrent dans le même sens que celles faites par Eaton et Bayne-Jones. Le point qui accabla la phagothérapie fut l'affirmation par les auteurs de son caractère potentiellement dangereux, pouvant déclencher des réactions anaphylactiques.

Face à cette dernière conclusion, le « Council on Pharmacy and Chemistry » trancha en refusant définitivement d'officialiser la phagothérapie et en interdisant son accès au marché pharmaceutique américain.

En 1943, Helmut Ruska, grâce à l'avènement du microscope électronique, mit en évidence pour la première fois un bactériophage de la bactérie *Escherichia coli* ainsi que son action lytique (figure 6) .[22][23]

En dépit de la confirmation de la nature virale du bactériophage, les affirmations publiées dans les travaux de synthèse précédemment évoqués ne furent pas remises en question. La phagothérapie débuta alors une lente agonie que les événements majeurs de l'époque, ne firent qu'aggraver.

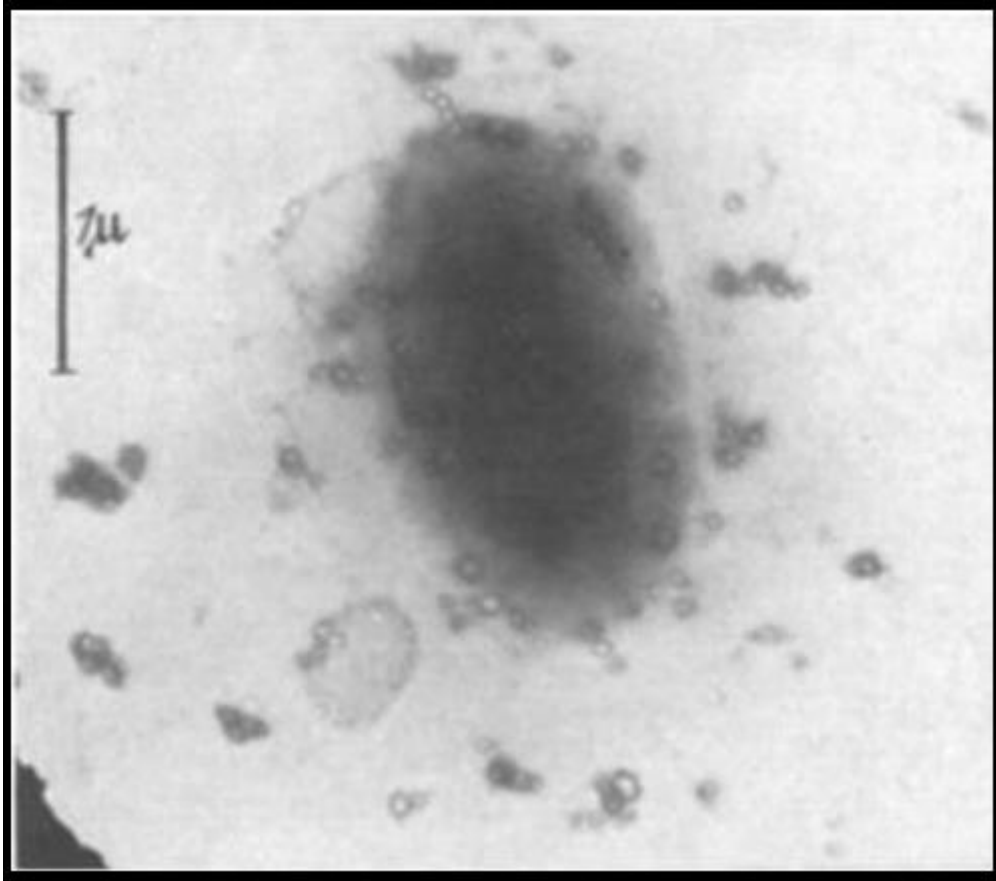


Figure 6 : Première visualisation de phages par Edmund Ruska

Le deuxième tournant dans le déclin de la phagothérapie réside dans l'avènement des antibiotiques au milieu du XXème siècle. Si Sir Alexander Fleming remarqua dès 1928 l'effet inhibiteur du champignon *Penicillium notatum* sur des cultures bactériennes de staphylocoques (figure 7) , il faudra attendre 1940 pour voir le biochimiste Ernst Chain ainsi que le pharmacologiste Howard Florey découvrir, purifier et développer l'utilisation en masse de la pénicilline[24]. Puis en 1943, le microbiologiste Selman Waksman isole à partir d'une souche d'*Actinomyces griseus* une substance active sur les bactéries à Gram négatif, c'est la streptomycine[25] Et ainsi de suite, de nombreuses autres molécules actives sont découvertes et le plus souvent, elles sont issues de bactéries du sol ou de champignons. Face aux résultats très probants des antibiotiques (facilité d'utilisation, stabilité et efficacité) la phagothérapie est abandonnée petit à petit par la communauté scientifique.

Cette période correspond également à la Seconde Guerre Mondiale prolongée par la Guerre froide qui coupa le monde en deux. Époque trouble durant laquelle les deux grands blocs s'opposèrent pendant des années limitant les contacts notamment scientifiques[26].

Les laboratoires occidentaux se focalisèrent sur l'antibiothérapie tandis que quelques laboratoires indépendants et bientôt marginaux continuaient à produire des préparations phagiques. Cette production se prolongea jusque dans les années soixante-dix. En France, des préparations de bactériophages demeurèrent inscrites au VIDAL également jusqu'en 1974, puis en furent effacées, malgré les protestations de quelques rares scientifiques comme André Raga-Clémenceau, chirurgien et directeur de clinique à la Salpêtrière à Paris qui tenta en vain des pétitions de soutien à la phagothérapie. Les publications sur le sujet se clairsemèrent[27].

Si les pays occidentaux ont favorisé l'antibiothérapie au détriment de la phagothérapie, certains pays de l'Europe de l'Est, notamment ceux de l'ex-Union Soviétique (Géorgie, Pologne et Russie) ont continué d'étudier et d'utiliser les bactériophages.

Dès 1940, les plans quinquennaux, mis en place par Staline, donnèrent une place importante à la phagothérapie, promouvant de nouvelles formes galéniques et évaluant leur efficacité. Ainsi, les chercheurs soviétiques développèrent pendant dix ans ces nouvelles formes (comprimés gastro-résistants pour les atteintes intestinales, poudres et compresses imprégnées de phages pour les plaies humides, ...). Puis entre 1950 et 1960, toujours dans le cadre de ces plans quinquennaux, les scientifiques étudièrent l'utilisation potentielle de l'association entre phages et antibiotiques.

A partir de cette époque, médecins et chercheurs de l'URSS effectuèrent un vaste travail sur la phagothérapie .[28]



Figure 7 : En 1929, Sir Alexander Flemming découvre la pénicilline

V-Renaissance de la phagothérapie

En quarante ans, l'antibiothérapie devint le traitement de référence antibactérien, incontesté et incontestable. Son utilisation massive, voire excessive, aussi bien en médecine humaine et vétérinaire que dans l'agriculture et l'agronomie ne fut pas sans conséquences. Très tôt après le début de l'exploitation de sa découverte, Sir Flemming avait décrit des souches de staphylocoques capables de résister à la pénicilline (figure 8). Il avait justement appréhendé le risque de sélectionner des souches insensibles, et tentait de convaincre qu'un emploi inconsidéré de sa découverte la rendrait rapidement caduque. Mais sa mise en garde eut peu d'échos.

Longtemps l'industrie pharmaceutique se donna les moyens d'enrichir l'arsenal thérapeutique en mettant au point de nouvelles molécules. Le marché pour ces nouvelles familles d'antibiotiques était florissant et extrêmement rentable.

En médecine humaine, les mauvaises habitudes de prescription devinrent « consensuelles ». Ainsi, les médecins confrontés à une résistance bactérienne avaient la possibilité de recourir à un antibiotique plus « fort » de la même ou d'une autre famille de molécules. La mise au point

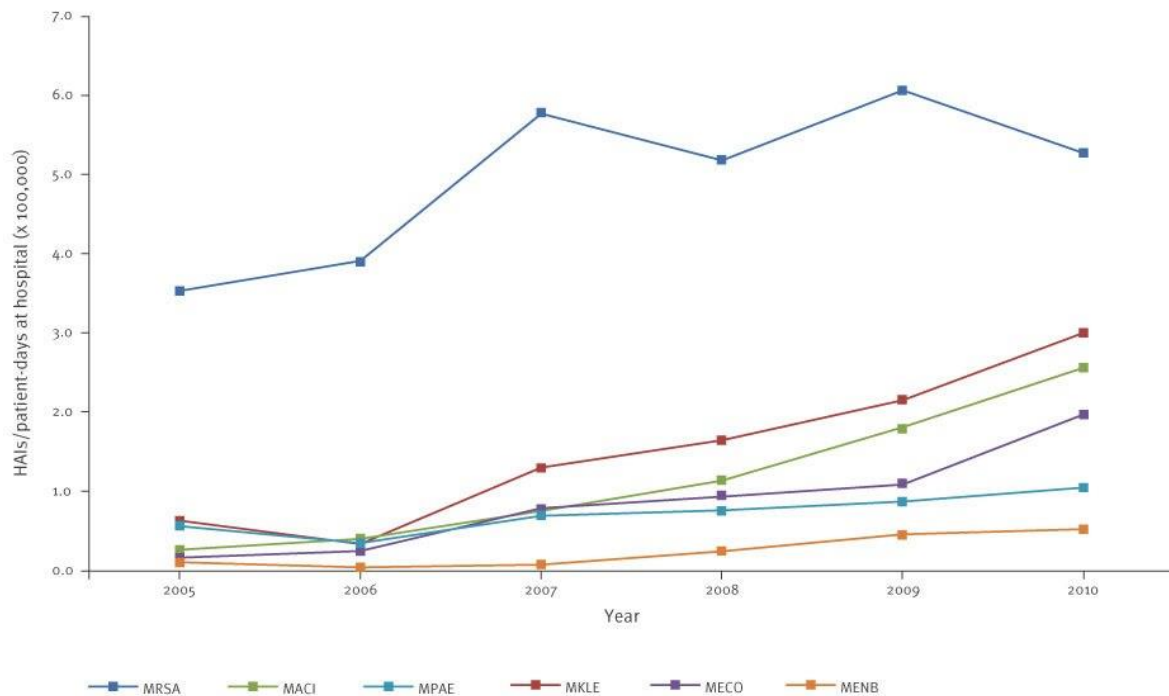
continue de nouvelles molécules rendait toujours possible le contournement de ce type d'obstacle. Peu à peu, les antibiotiques devinrent un produit d'usage courant.

Avec tous les antibiotiques disponibles, il semblait inconcevable qu'une infection bactérienne ne puisse pas être traitée.

Dès lors, les grands laboratoires jugèrent l'investissement en temps et en argent dans la découverte de nouvelles familles de molécules peu intéressantes. Ils arrêtaient le financement des travaux de recherche et se contentèrent d'améliorer et d'exploiter la grande gamme de traitements déjà disponibles[29].

Dans ce contexte tendu, découvrir de nouvelles thérapies antibactériennes efficaces s'avérait urgent. La phagothérapie, qui n'était plus qu'un souvenir quasi effacé, resurgit alors en Occident dans les publications scientifiques et dans la mémoire de certains. En effet, durant toutes ces dernières années, et malgré l'avènement des antibiotiques, les scientifiques de l'Europe de Est avaient continué à utiliser et développer la phagothérapie, mais leurs travaux, qui étaient écrits dans leur langue natale dans des revues nationales, n'étaient jamais parvenus jusqu'aux yeux et aux oreilles des occidentaux[30]

C'est dans ce contexte que la phagothérapie suscite un nouvel intérêt en Occident. Elle fut aidée en cela par deux séries de travaux publiés durant les années quatre-vingt.



HAI: healthcare-associated infection; MACI: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*; MECO: multidrug-resistant *Escherichia coli*; MENB: multidrug-resistant *Enterobacter* sp.; MKLE: multidrug-resistant *Klebsiella* sp.; MPAE: multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

Figure 8 : Incidence de six infections antibiotiques résistantes (Hongrie 2005)

De 1985 à 1987, pour la première fois depuis près de cinquante ans, une équipe de l'Est publia en langue anglaise, dans une revue occidentale, les résultats de son expérience de l'usage de la phagothérapie chez l'Homme. Slopek *et al.* De l'Institut Wroclaw (Pologne) montrèrent au travers de sept articles, les bénéfices qu'ils avaient pu tirer de l'utilisation de phages dans le traitement d'infections à germes multirésistants en impasse thérapeutique.

Les résultats présentés furent obtenus entre 1985 et 1987, dans dix départements hospitaliers différents répartis dans 3 villes de Pologne, sur 550 patients atteints d'infections multirésistantes et en situation d'impasse thérapeutique. Parmi ces patients, 518 suivaient une antibiothérapie (de nature non précisée) qui s'avérait inefficace pour cause de résistances bactériennes. Pour 398 d'entre eux, l'antibiothérapie fut arrêtée au profit de la phagothérapie. Tous les patients inclus dans la cohorte souffraient d'infections spontanée ou post-opératoire,

dues à *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Staphylococcus* et *Streptococcus*. Parmi eux, 372 sujets étaient atteints d'une infection mono-microbienne, dont 73 % dues au genre *Staphylococcus*. Les phages, sélectionnés pour leur efficacité *in vitro* parmi les 250 espèces conservés à l'Institut, étaient ensuite administrés, soit par voie orale en trois prises quotidiennes (après neutralisation de l'acidité gastrique par une solution de bicarbonate de soude ou d'eau gazeuse), soit par voie topique pour les atteintes cutanéomuqueuses (compresses imbibées, collyres, gouttes auriculaires ou nasales), soit par injections lors de collections fermées (intrapéritonéales, intrapleurales ou intra-articulaires). Les médecins traitaient les patients pendant une à seize semaines et vérifiaient l'absence d'apparition de résistances bactériennes vis-à-vis des phages au moyen de prélèvements bactériologiques systématiques. Cependant, ces contrôles bactériologiques n'étaient pas les critères sur lesquels se sont basés les scientifiques pour évaluer la réussite de leurs protocoles ; ils se sont appuyés dans leurs conclusions sur la disparition des symptômes.

Dans ces conditions, le taux de réussite fut compris entre 75,9 et 100 % selon la bactérie incriminée et le type d'infection, avec des résultats thérapeutiques positifs chez 508 des 550 patients traités, soit 92,4 % des patients [31].

Malgré l'envergure impressionnante de ce travail, tant par la quantité de cas suivis que par le taux de réussite, le manque notoire de rigueur scientifique, notamment l'absence de groupes contrôles, ne permit que de remettre en lumière l'existence de la phagothérapie et de son potentiel thérapeutique, sans pour autant convaincre les scientifiques occidentaux.

De leur côté, deux vétérinaires britanniques, Smith et Huggins, se penchèrent sur la question. Ils reprirent en 1982 les expériences que Dubos avait arrêtées en 1943, au sujet du traitement par les phages de septicémie-encéphalite à *Escherichia coli* K1 sur des modèles murins (cette bactérie est également responsable de méningites et de septicémies chez l'homme). Pour leur étude, ils n'utilisèrent que des phages ayant pour cible l'antigène capsulaire K1, facteur de virulence de la bactérie, et sélectionnèrent les phages les plus actifs *in vitro*. Les différents protocoles qu'ils mirent en place réduisirent très significativement la mortalité des animaux, allant même jusqu'à 100 % de réduction. Ils montrèrent également qu'une seule injection intramusculaire de phage avait de meilleurs résultats que l'antibiothérapie intraveineuse

préconisée comme traitement à cette époque. Ils observèrent que les prélèvements bactériens d'un des cas contenaient des souches résistantes aux bactériophages, mais, la résistance provenant de l'absence de l'antigène K1, la virulence de ces bactéries en était grandement atténuée. La conclusion de ces travaux était que, dans ce modèle, les bactériophages étaient plus efficaces que les antibiotiques et que l'apparition de résistances envers les phages se produisait aux dépens de la virulence bactérienne[32]. Cette publication fut étudiée par une équipe de biostatisticiens qui en confirma la bonne reproductibilité ainsi que la validité statistique[33].

Ils étudièrent de nouveau, en 1983, les résultats d'une phagothérapie appliquée à des diarrhées à *Escherichia coli* entéropathogène chez des veaux, des porcelets et des agneaux nouveau-nés. Cette maladie est constamment létale en l'absence de traitements. Ils obtinrent là encore des résultats prometteurs, allant, selon les protocoles employés, d'une légère diminution à une réduction de 100 % de la morbidité et de la mortalité. Ils montrèrent de plus que l'utilisation de plusieurs types de phages ciblant cette bactérie limitait l'apparition de résistances aux phages. Enfin, ils remarquèrent que l'administration prophylactique de phages permettait de diminuer la densité de bactéries pathogènes présentes dans le tube digestif sous un seuil critique, et que les phages persistaient jusqu'à éradication totale des bactéries, démontrant que l'utilisation prophylactique de la phagothérapie protégeait efficacement de la maladie[34].

Les publications de ces deux vétérinaires, rigoureuses et de qualité (procédures bien encadrées et contrôlées, groupes témoins inclus dans les études), furent fondamentales dans le regain d'intérêt qui s'ensuivit pour la phagothérapie car elles montrèrent que la phagothérapie avait été considérée comme inefficace et obsolète à tort[35][36][37][38][10][5]

De nombreux scientifiques prirent le relais et enrichirent le panel d'expériences prouvant l'efficacité des phages (figure 8). On peut par exemple citer les travaux de Soothill, qui expérimenta cette thérapie sur des modèles murins de sepsis-péritonite à *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* multirésistants. Il mit en évidence que l'administration intra-péritonéale d'une faible concentration de phages

permettait de traiter les infections, hormis celles dues à *Staphylococcus aureus*, pour lesquelles même une dose importante fut sans effets[39]

Depuis cette redécouverte, la phagothérapie suscite chaque jour de plus en plus d'intérêt. Dans la situation actuelle où se trouvent les médecines humaines et vétérinaires modernes, victimes d'elles-mêmes, le traitement par phagothérapie s'apparente pour de nombreux scientifiques à un nouvel espoir pour traiter les infections multirésistantes et endiguer leur propagation.



Figure 9 : Pourcentage de publications contenant le terme "phage therapy" (Google Ngram Viewer)

DEUXIÈME PARTIE : DESCRIPTION DES BACTÉRIOPHAGES ET DE LA PHAGOTHÉRAPIE

I- Les bactériophages

1- Définition

Le terme « bactériophage » a été créé et proposé par Félix d'Hérelle, pour désigner un nouveau virus qu'il avait découvert et qui était capable selon lui de « manger » les bactéries (d'après sa publication « Princeps » de 1917). Ce terme est formé des mots grecs baktêria (bâton, à cause de la forme allongée des premières bactéries observées) et phagos (mangeur) ; il signifie donc littéralement « mangeur de bactéries ». Toutefois, d'Hérelle a lui-même nuancé quelques années plus tard la signification du mot qu'il avait inventé (en 1921, dans son premier livre publié « Le bactériophage : son rôle dans l'immunité »). En effet, il précise que le suffixe « phage » est utilisé non pas dans le sens strict de « manger » mais plutôt dans celui de « se développer au dépens de ».[40]

Les bactériophages sont des virus spécifiques des cellules procaryotes qui 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 Terre est estimée au total à environ 5×10^{30} cellules bactériennes [41] .

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 Terre. L'estimation actuelle de la quantité de bactériophages existants est comprise entre 10^{30} et 10^{32} . On identifie à l'heure actuelle plus de 5 500 phages différents (entre 5000 et 6000, ce qui représenterait apparemment 10 % seulement des phages existants[42], classés à partir de leur morphologie, de leur composition et de leur spécificité d'hôte bactérien[43] .

2- Morphologie des bactériophages

Les virions (particules virales) des phages sont constitués de deux éléments constants: un *acide nucléique* (ADN ou ARN) support de l'information génétique, et une structure protéique entourant et protégeant ce dernier : la *capside*. L'association de l'acide nucléique et de la capsidie forme la *nucléocapside*. Un troisième élément synonyme de fragilité, l'enveloppe, entoure parfois la capsidie [44].

Ce sont ces trois critères (type d'acide nucléique, symétrie de la capsidie et présence ou non d'enveloppe) qui permettent d'établir la classification des bactériophages.

2.1. Génome viral ou phagique

Le génome contient, comme pour les autres virus, l'ensemble des informations génétiques nécessaires à la multiplication de la particule phagique. Il est le support des gènes codant pour les protéines de structure et les protéines non structurales. Sa composition biochimique est un des critères majeurs de différenciation et de classification des virus. Il est constitué d'une molécule d'acide nucléique (ADN ou ARN). On distingue quatre grandes organisations génomiques chez les phages: ADN bicaténaire (linéaire ou circulaire) principalement, ou ADN monocaténaire et ARN bicaténaire ou monocaténaire. La taille et le nombre de gènes qui le composent sont directement liés à la complexité morphologique de la particule virale. La capacité de codage varie de quelques centaines de paires de bases pour les phages à ARN de la famille des Cystoviridae à plusieurs centaines de kb pour les phages les plus complexes de la famille des Myoviridae (phages caudés contractiles à ADN) comme le phage G (480 000 pdb) [44].

2.2. Capside

La forme de la capsid est variable et généralement proportionnelle à la taille du génome qu'elle contient mais aussi protège. De plus, l'architecture de la capsid est différente selon sa symétrie, que l'on peut classer en quatre groupes (Figure 10) [45]:

- Symétrie hélicoïdale : la capsid est cylindrique. Les bactériophages ont alors une forme de filaments ou de bâtonnets.
- Symétrie cubique ou icosaèdre : la capsid est à symétrie icosaédrique. Les bactériophages peuvent alors apparaître sphériques.
- Symétrie binaire ou phage caudé : la capsid ou « tête » est à symétrie icosaédrique et la « queue » est à symétrie hélicoïdale.
- Symétrie complexe : la capsid est de forme très diverse, on parle alors de phage pléomorphe.

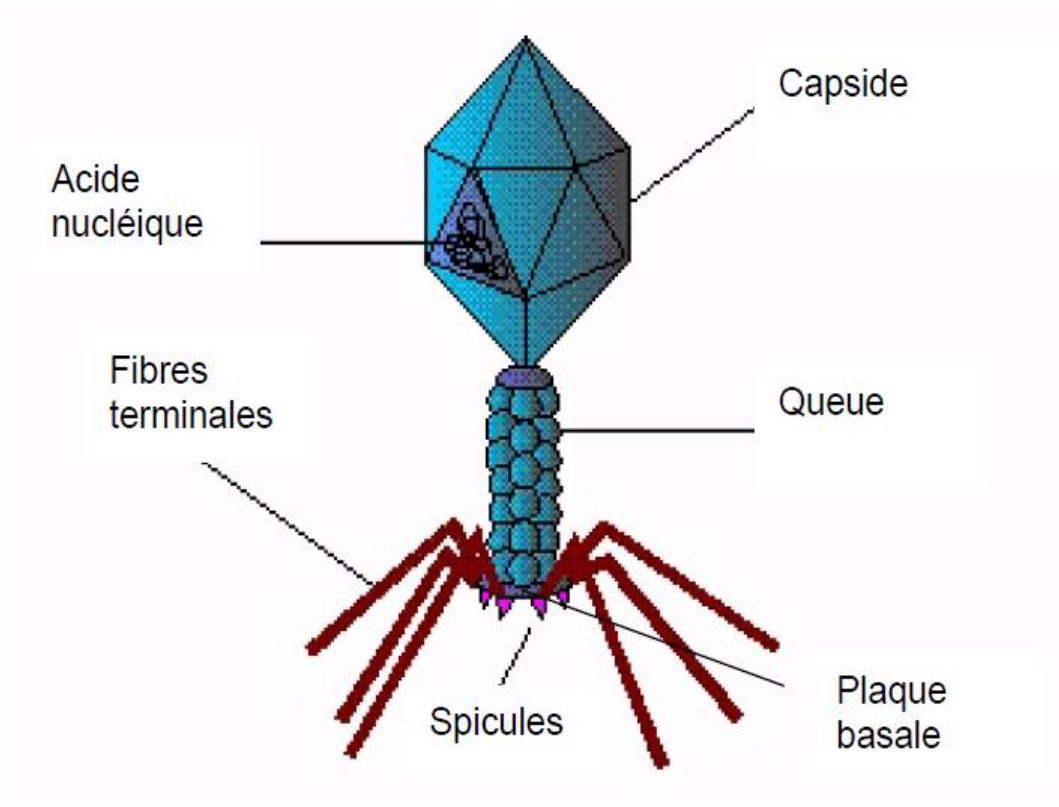


Figure 10 : Structure schématique d'un phage caudé [46]

3- Classification des bactériophages

Différentes classifications ont successivement été opérationnelles, depuis les premières observations microscopiques dans les années 1940 jusqu'à nos jours.

Aucune de ces classifications, basées sur la morphologie, le type d'acide nucléique supportant le génome (ADN simple ou double brin, ARN) ou la présence d'une enveloppe par exemple, ne permet de classer dans des catégories homogènes l'ensemble des virus de procaryotes tant leur diversité est grande (figure 11). La classification actuelle, telle que définie par l'ICTV (*International Committee on Taxonomy of Viruses*) est basée pour les bactériophages et les virus d'archées sur une approche morphologique. Ainsi, l'immense majorité (96 %) des

bactériophages appartient à l'ordre des *Caudovirales* (virus avec une queue) et sont des virus à ADN double brins, non Enveloppés. D'une taille variable (25 à 800 nm, axe tête-queue).

L'ordre des *Caudovirales*(figure12)regroupe trois familles: les *Podoviridae*(queue courte), les *Myoviridae* (queue contractile) et les *Siphoviridae* (queue longue et flexible).

Les bactériophages n'intégrant pas l'ordre des *Caudovirales* sont certes minoritaires sur le plan écologique mais illustrent bien la grande variété virale existante (par exemple M13, phiX174, P1...).

3.1. L'ordre des *Caudovirales*

Les virions (particules virales) sont constitués d'une « tête » à symétrie icosaédrique et d'une « queue » à symétrie hélicoïdale. De plus, ils ne sont pas enveloppés et le génome est formé d'une molécule d'ADN bicaténaire, non segmentée et linéaire.

Cet ordre est divisé en trois familles : les *Myoviridae*, les *Siphoviridae* et les *Podoviridae*.

3.1.1. La famille des *Myoviridae*

Ce sont des phages à queue longue et contractile, infectant lesbactéries du domaine des *Bacteria* et du domaine des *Archaea*. Elle comporte de nombreux genres :

Genre	Espèce type	Principaux hôtes
« T4-like viruses »	<i>Enterobacteria phage T4</i>	<i>Acinetobacter</i> spp., <i>Aeromonas</i> spp., Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp.
« P1-like viruses »	<i>Enterobacteria phage P1</i>	<i>Aeromonas</i> spp., <i>Acetobacter</i> spp., Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp.
« P2-like viruses »	<i>Enterobacteria phage P2</i>	<i>Aeromonas</i> spp., Entérobactéries, <i>Haemophilus</i> spp., <i>Pasteurella</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Rhizobium</i> spp.
« SP01-like viruses »	<i>Bacillus phage SP01</i>	<i>Bacillus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp.
« Mu-like viruses »	<i>Enterobacteria phage Mu</i>	Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp.
« ϕ H-like viruses »	<i>Halobacterium phage ϕH</i>	<i>Halobacterium</i> spp.
« PBS1-like viruses »	<i>Bacillus phage PBS1</i>	<i>Bacillus</i> spp.

Tableau 1 : Les différents genres de la famille des Myoviridae

3.1.2. La famille des Siphoviridae

Ce sont des phages à queue longue et non contractile ,infectant les bactéries du domainedes *Bacteria* et du domaine des *Archaea*. Ellecomporte les genres suivants :

Genre	Espèce type	Principaux hôtes
« <i>λ</i> -like viruses »	<i>Enterobacteria phage λ</i>	<i>Rhizobium</i> spp.
« T1-like viruses »	<i>Enterobacteria phage T1</i>	Entérobactéries
« T5-like viruses »	<i>Enterobacteria phage T5</i>	Entérobactéries, <i>Vibrio</i> spp.
« L5-like viruses »	<i>Mycobacterium phage L5</i>	<i>Mycobacterium</i> spp.
« c2-like viruses »	<i>Lactococcus phage c2</i>	<i>Lactococcus</i> spp.
« <i>φ</i> M1-like viruses »	<i>Methanobacterium phage φ</i> <i>M1</i>	<i>Methanobacterium</i> spp., <i>Methanobrevibacter</i> spp.
« <i>φ</i> C31-like viruses »	<i>Streptomyces bacteriophage</i> <i>φC31</i>	<i>Streptomyces</i> spp.
« N15-like viruses »	<i>Enterobacteria phage N15</i>	Entérobactéries

Tableau 2 : Les différents genres de la famille des *Siphoviridae*

3.1.3. La famille des *Podoviridae*

Ce sont des phages à queue courte et non contractile, infectant les bactéries du domaine des *Bacteria*.

Genre	Espèce type	Principaux hôtes
« T7-like viruses »	<i>Enterobacteria phage T7</i>	<i>Caulobacter</i> spp., Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Rhizobium</i> spp., <i>Vibrio</i> spp.
« <i>φ</i> 259-like viruses »	<i>Bacillus phage φ29</i>	<i>Bacillus</i> spp., <i>Kurthia</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.
« P22-like viruses »	<i>Enterobacteria phage P22</i>	<i>Aeromonas</i> spp., <i>Azotobacter</i> spp., Entérobactéries, <i>Hyphomicrobium</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Vibrio</i> spp.
« N4-like viruses »	<i>Enterobacteria phage N4</i>	Entérobactéries

Tableau 3 : Les différents genres de la famille des *Podoviridae*

3.2. L'ordre des *Ligamenvirales*

Un second ordre, celui des *Ligamenvirales*, regroupe deux familles où les phages possèdent une capsid e à symétrie hélicoïdale :

3.2.1. La famille des *Lipothrixiviridae*

Ce sont des phages filamenteux ou en forme de bâtonnets, infectant les bactéries du domaine des *Archaea*.

Genre	Espèce type	Principaux hôtes
<i>Alphalipothrixvirus</i>	<i>Thermoproteus tenax virus 1</i>	<i>Thermoproteus</i> spp.
<i>Betalipothrixvirus</i>	<i>Sulfolobus islandicus filamentous virus</i>	<i>Desulfurolobus</i> spp., <i>Sulfolobus</i> spp., <i>Thermoproteus</i> spp.
<i>Gammalipothrixvirus</i>	<i>Acidianus filamentous virus 1</i>	<i>Acidianus</i> spp.

Tableau 4 : Les différents genres de la famille des *Lipothrixiviridae*

3.2.2. La famille des *Rudiviridae*

Ce sont des phages à ADN bicaténaire, non enveloppés, en forme de bâtonnets, infectant les bactéries du domaine des *Archaea*.

Genre	Espèce type	Principaux hôtes
<i>Rudivirus</i>	<i>Sulfolobus islandicus Rodshaped virus 2</i>	<i>Sulfolobus</i> spp.

Tableau 5 : . La famille des *Rudiviridae*

3.3. Les autres familles

Toutes les autres familles existantes ne sont pas rattachées à un ordre, mais on peut regrouper les familles en fonction de la géométrie de leur capsid, comme premier critère, établi de façon arbitraire.

3.3.1. Phage à symétrie cubique ou icosaèdre

-*Corticoviridae* : phage à ADN bicaténaire, circulaire et possédant une capsid complexe (un genre pour une espèce). Exemple : le phage PM2.

-*Cystoviridae* : phage à ARN bicaténaire, linéaire, segmenté et possédant une enveloppe lipidique (un genre pour une espèce). Exemple : le phage $\phi 6$.

-*Leviviridae* : phage à ARN monocaténaire, linéaire et ne possédant pas d'enveloppe (deux genres pour quatre espèces). Exemple : le phage MS2.

-*Microviridae* : phage à ADN monocaténaire, circulaire et possédant une petite capsid non enveloppée (quatre genres pour douze espèces). Exemple : le phage $\phi X174$.

-*Tectiviridae* : phage à ADN bicaténaire, linéaire et dépourvu d'enveloppe (un genre pour cinq espèces). Exemple : le phage PRD1.

3.3.2. Phage à symétrie hélicoïdale ou phage filamenteux

-*Inoviridae* : phage à ADN monocaténaire, circulaire et dépourvu d'enveloppe (deux genres pour quarante-trois espèces). Exemple : le phage M13.

3.3.3. Phage à symétrie complexe ou phage pléomorphe

-*Plasmiviridae* : phage à ADN bicaténaire, circulaire et possédant une enveloppe lipidique mais dépourvu de capsid (un genre pour une espèce). Exemple : le phage L2.

-*Fuselloviridae* : phage à ADN bicaténaire, circulaire et possédant une enveloppe lipidique mais dépourvu de capsid (deux genres pour neuf espèces). Exemple : le phage SSV1.

-*Salterprovirus* : phage à ADN bicaténaire et linéaire (non rattaché à une famille donc ce genre pour une espèce). Exemple : le phage His 1.

-*Guttaviridae* : phage à ADN bicaténaire et possédant une enveloppe lipidique (deux genres pour deux espèces). Exemple : le phage SNDV.

-*Ampullaviridae* : phage à ADN bicaténaire et linéaire (un genre pour une espèce). Exemple : le phage ABV.

-*Bicaudaviridae* : phage à ADN bicaténaire et circulaire (un genre pour une espèce). Exemple: le phage ATV.

-*Globuloviridae* : phage à ADN bicaténaire et linéaire (un genre pour deux espèces). Exemple : le phage PSV.

La classification est indispensable pour simplifier et généraliser l'étude des phages. En effet, le classement par ordre, famille, sous-famille, genre et espèce, bien que fastidieux, facilite les comparaisons, la recherche et la compréhension des bactériophages. Aujourd'hui, les taxonomistes travaillent à standardiser la dénomination des phages[47][40].

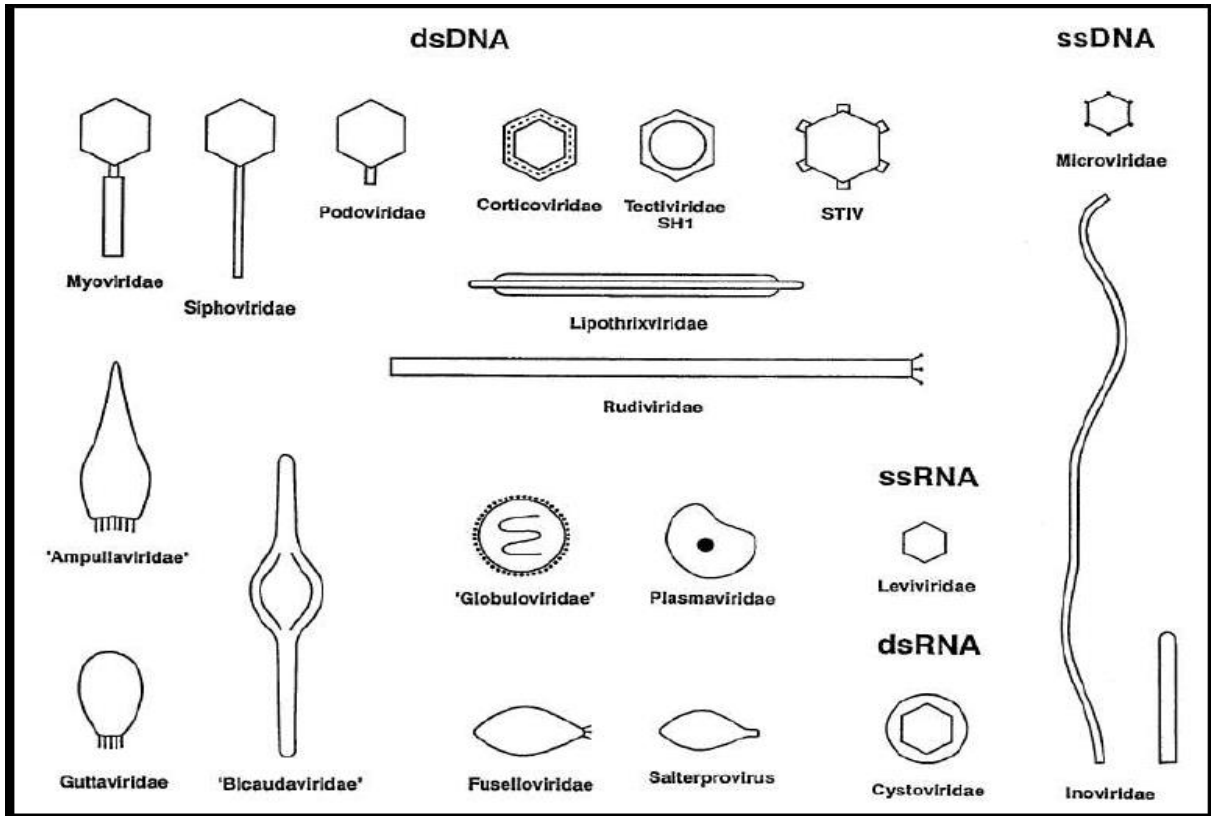


Figure 11 : Morphotypes des différentes familles de bactériophages

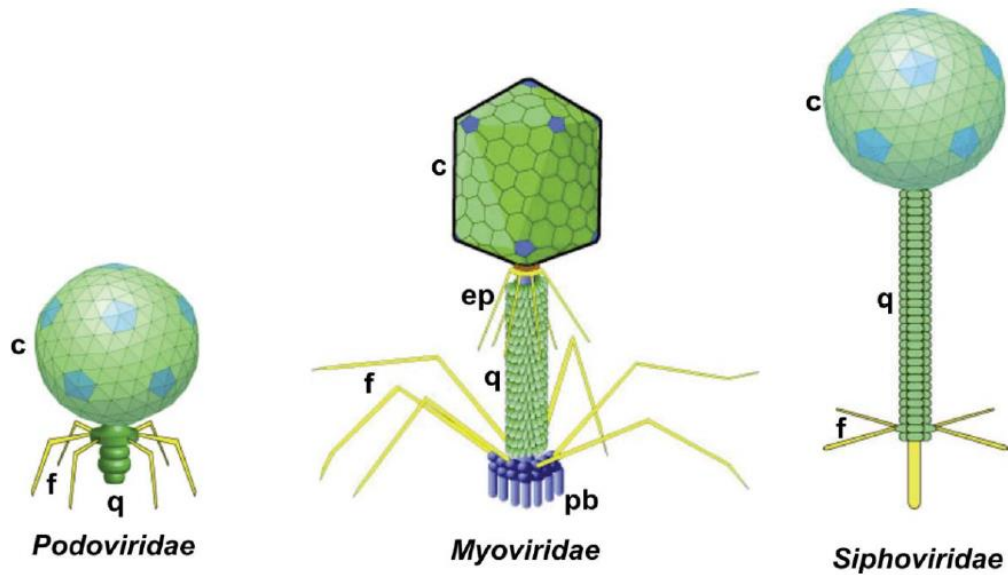


Figure 12 : Représentation schématique des 3 familles des bactériophages composant l'ordre des *Caudovirales*. Légende : c=capside, f=fibres de queue, q=queue, pb=plateforme basale, ep=fibres secondaires.[48]

4-Ecologie et intérêt environnemental des bactériophages

Les bactériophages sont présents dans l'ensemble des écosystèmes. Nous en avons sur la peau, dans notre tube digestif, sur nos muqueuses et ils sont partie intégrante de notre alimentation [49][50].

Les bactériophages représentent les virus les plus importants sur la planète, en nombre et en diversité. On estime le nombre de bactériophages supérieur à 10^{30} sur la planète, grossièrement 10 fois supérieur à celui des bactéries. Le milieu marin constitue notamment un important réservoir de bactériophages avec une concentration moyenne évaluée à 10^7 virus/mL[51].

Lors d'une étude des communautés virales des eaux côtières, une analyse métagénomique établissait que 75 à 90 % des hits correspondaient à des bactériophages lorsque soumis à la

base de données GenBank, suggérant que ceux-ci sont numériquement dominants dans cet écosystème[52].

La diversité des bactériophages, même s'il s'agit d'une donnée mal appréhendée, est de façon certaine énorme : on estime que 100 millions de génomes différents seraient présents dans la nature[53]. Par ailleurs, les bactériophages (essentiellement les tempérés) participent à l'évolution bactérienne : ils permettent l'acquisition de nouveaux traits génétiques et la variabilité de ceux-ci en étant des acteurs importants du transfert horizontal de gènes, via la transduction généralisée et spécialisée [54].

Enfin, indissociable du règne bactérien qui assure leur pérennité, les bactériophages sont également de puissants régulateurs quantitatifs des populations bactériennes dans l'ensemble des écosystèmes. La nature des relations entretenues entre ces deux protagonistes (relation proie-prédateur) n'est pas sans rappeler ce qui est observé dans les macro-systèmes de régulation des populations animales, à l'échelle des chaînes alimentaires. Ainsi, dans les écosystèmes aquatiques, les bactériophages sont responsables de la lyse de 10 à 20 % de la biomasse bactérioplanctonique par jour.

D'autres études font état de données analogues, voire supérieures, soulignant leur rôle fondamental [55][56] .

Vu la nécessaire interdépendance de l'un et l'autre des partenaires, la viabilité du système impose une situation d'équilibre dynamique. Cet équilibre est obtenu par une compétition ininterrompue entre d'un côté les bactéries qui mettent en œuvre différents mécanismes de résistance et de l'autre les bactériophages qui œuvrent à les contourner. La relative rareté des événements permettant l'acquisition de nouveaux traits phénotypiques à l'échelle d'un bactériophage et d'une bactérie (mutation, transfert génique) est ici compensée par le nombre considérable d'individus concernés par ces processus. Un exemple bien connu de cet équilibre oscillatoire des populations virales et bactériennes est illustré par le cas du choléra : au Bangladesh, la concentration des vibrions cholériques dans l'écosystème aquatique subit des fluctuations saisonnières inversement corrélées à celles des bactériophages anti-choléra, responsable d'une limitation de l'expansion bactérienne.

En prenant en compte l'effet de ces mêmes bactériophages *in vivo* (dont la concentration augmente fortement dans les selles de patients atteints de choléra et qui sont également rejetés

dans l'environnement), les bactériophages jouent un rôle de macro-régulation des épidémies et participe à leur extinction spontanée[57].

5-Cycles infectieux des bactériophages

Les phages ont absolument besoin de leur hôte pour perpétuer leur descendance. La bactérie fournit au phage parasite des éléments indispensables à la réalisation de son cycle.

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 le phage T4, appartenant aux phages virulents, et le phage λ , appartenant aux phages tempérés.[19]

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 [58].

Le troisième type de phages existant, appelé phage filamenteux ne sera que très peu abordé car ses représentants 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[47].

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 [10] .

5.1 Cycle lytique

Il conduit à la mort obligatoire de la bactérie par sa lyse et à la libération dans le milieu de particules virales (figure 13). Il présente plusieurs étapes qui sont détaillées ci-dessous en s'appuyant sur l'exemple d'un bactériophage virulent modèle, le bactériophage T4 d'*Escherichia coli*[59][44][60][61][62]

- Le contact : le bactériophage est présent dans le milieu extérieur et le contact avec l'hôte a lieu par hasard avec la diffusion du bactériophage.
- L'absorption : c'est une phase qui dure quelques minutes. Généralement, des adhésines présentes sur les fibres ou les spicules de la queue du bactériophage interagissent de manière spécifique avec des sites récepteurs de la bactérie. Cette étape peut se réaliser en plusieurs temps. Pour le bactériophage T4, au moins 3 des 6 fibres longues doivent d'abord s'attacher à un récepteur primaire pour déclencher le réarrangement du plateau de fixation. Cette interaction est réversible et le bactériophage peut encore être libéré dans le milieu. Les protéines du plateau pourront ensuite se lier, de façon irréversible cette fois, au récepteur secondaire, dans ce cas l'heptose du core du LPS d'*E. coli*. En fonction des bactériophages, ces récepteurs peuvent être chacun des composants de la surface de la bactérie (pili, flagelle, LPS, protéine, peptidoglycane ou même capsule). Certains bactériophages encodent deux formes alternatives d'adhésines au niveau de leurs fibres et peuvent ainsi élargir leur spectre d'hôte. Il est à noter que pour la majorité des bactériophages, cette étape d'absorption nécessite un cofacteur tel que les ions calcium ou magnésium.
- La pénétration : cette phase correspond au transfert de l'ADN dans la cellule hôte, la partie protéique du virion reste à l'extérieur. Elle peut être très rapide, comme chez le bactériophage T4 pour lequel 3000 à 10000 pb sont transférées par seconde. Pour l'injection de l'ADN, le plateau de fixation ou à défaut la base de la queue sont amenés au contact de la surface bactérienne. Il existe ensuite différents mécanismes pour l'injection de l'ADN. Par exemple, pour le bactériophage T4, il y a contraction de la gaine de la queue poussant ainsi le tube pour créer une structure en forme d'aiguille qui initie la pénétration de l'ADN. Cette structure en aiguille est constituée de différentes protéines formant des canaux dans la membrane et hydrolysant le peptidoglycane afin que l'ADN soit injecté dans le cytoplasme de la cellule.

Souvent, afin d'éviter la dégradation de l'ADN par les enzymes bactériennes, celui est circularisé.

- Le détournement de la machinerie bactérienne : dès le début de la pénétration de l'ADN dans la cellule hôte, et avant même la fin du transfert de l'ADN, il y a transcription des gènes très précoces. Des promoteurs forts présents sur l'ADN viral possèdent des séquences consensus reconnues par l'ARN polymérase bactérienne. Les protéines produites vont ainsi permettre, entre autre, l'inhibition des enzymes de restriction bactériennes afin de préserver l'ADN viral. Vient ensuite la phase de réplication. Souvent, l'ADN bactérien est alors inactivé et dégradé par des endonucléases et exonucléases virales afin d'affecter entièrement la machinerie cellulaire à la formation de virions. Les nucléotides issus de la dégradation de l'ADN sont utilisés pour la réplication de l'ADN du bactériophage. Certains bactériophages encodent une grande partie des protéines nécessaires à leur réplication (hélicase, ligase, polymérase) ou à la réparation de leur ADN, à l'instar du bactériophage T4.

- Assemblage : avec l'expression des gènes tardifs, il y a production des protéines de structure du bactériophage (protéines de capsid, de la queue, du collier, fibres) ainsi que des protéines nécessaires à l'encapsidation de l'ADN telles que les terminases. Si l'on reprend l'exemple du bactériophage T4, les capsomères de la capsid sont assemblés et l'ADN est alors empaqueté dans la pro-capsid. L'encapsidation de l'ADN se termine par le clivage de celui-ci après reconnaissance de sites spécifiques lorsque la capsid est pleine. Parallèlement, sont assemblées les protéines des fibres d'une part et les protéines de la queue et du plateau de fixation d'autre part. La pro-capsid est ensuite assemblée avec la queue et le collier puis l'ensemble avec les fibres.

- La libération des virions : deux types de protéines sont nécessaires à la libération des particules virales néoformées dans le milieu environnant : les holines et les endolysines. Les holines permettent la formation d'un pore dans la membrane plasmique donnant ainsi aux endolysines l'accès au peptidoglycane. Les endolysines possèdent une activité glycosylase et vont donc hydrolyser le peptidoglycane conduisant à la lyse osmotique de la bactérie. Il y aura ainsi libération de plusieurs dizaines de particules virales, ou plusieurs centaines selon le bactériophage considéré, qui pourront alors recommencer un nouveau cycle. Cette étape est

très contrôlée ; la lyse ne doit pas être trop précoce afin qu'un maximum de néo-particules soient matures, ni trop tardive afin de ne pas réduire les opportunités d'infection.

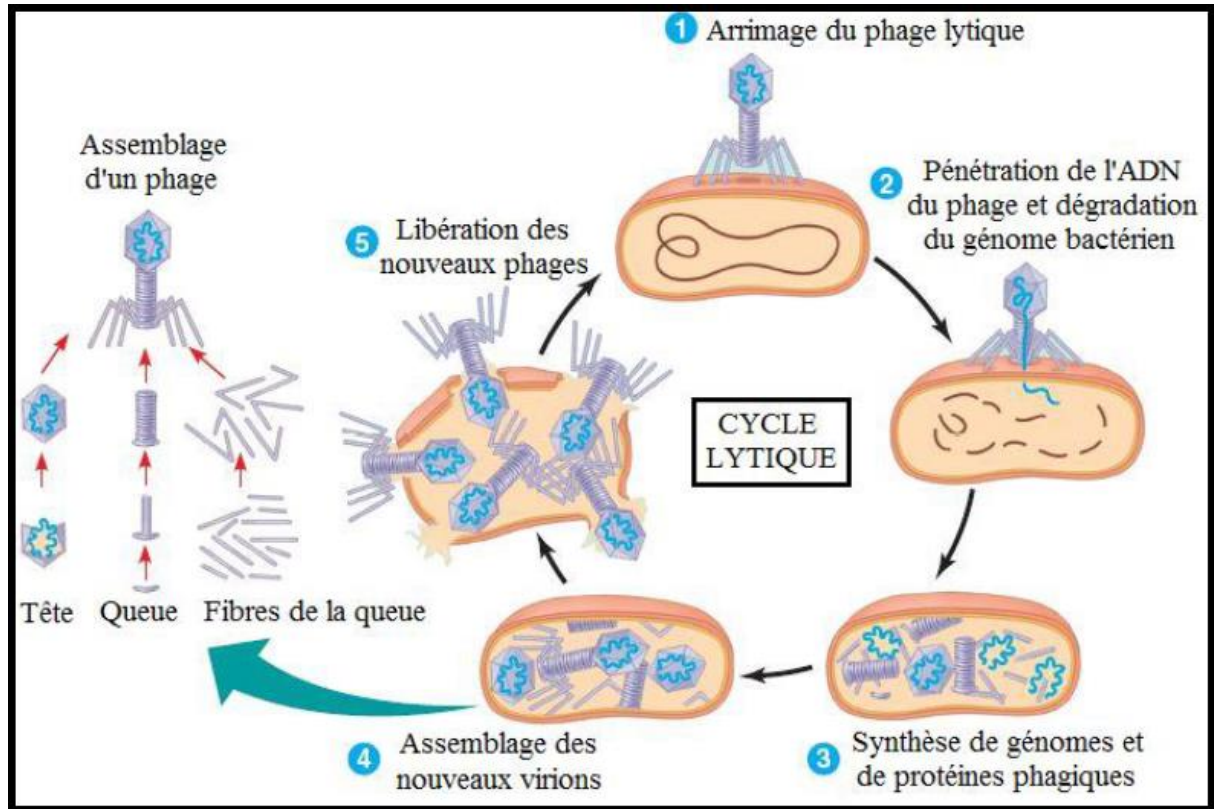


Figure 13 : Schéma du cycle lytique

5.2 Cycle lysogénique

Ce cycle (figure 14) débute de la même manière que le cycle lytique. Ensuite, le passage à la lysogénie plutôt qu'à un cycle lytique va dépendre d'interactions complexes entre les facteurs bactériens et viraux. Par exemple, pour le bactériophage λ d'*Escherichia coli*, bactériophage tempéré modèle, une fois l'ADN injecté, le génome est circularisé et les gènes précoces transcrits (dont les gènes *cII* et *cIII*). La présence du facteur de transcription viral CII en quantité suffisante est cruciale pour le choix lysogénique. Cependant, ce facteur est

déstabilisé par des facteurs bactériens Hfl (KC, B et D) et est stabilisé entre autre par l'inhibiteur de protéase viral CIII[63][64][65] .

Par ailleurs, la concentration de la protéase HflB est elle-même influencée par la concentration intracellulaire en AMPc. Si les conditions sont réunies pour permettre un cycle lysogénique (*i.e.* concentration suffisante de la protéine CII), il y aura synthèse de protéines virales réprimant l'expression de gènes intervenant dans le développement du cycle lytique, comme la protéine CI. Des protéines permettant l'intégration de l'ADN dans le chromosome bactérien (intégrase, transposase), par recombinaison au niveau de sites spécifiques ou de manière aléatoire, seront également synthétisées. Cependant, l'intégration n'est pas impérative pour le développement d'un cycle lysogénique et certains bactériophages se maintiennent sous forme de plasmide. Le bactériophage coexiste ainsi avec l'hôte sous une forme plus ou moins stable appelée prophage. Son ADN est répliqué en même temps que celui de la bactérie et peut rester intégré pendant des centaines ou des milliers de générations bactériennes. La bactérie est alors appelée bactérie lysogène. Dans certains cas, le prophage transmet ainsi à la bactérie des gènes de virulence lui conférant un avantage. Différents stress (changement de température, passage de la croissance bactérienne en phase stationnaire, UV) peuvent provoquer l'excision de l'ADN du prophage, interrompant la lysogénie et conduisant au démarrage d'un cycle lytique.

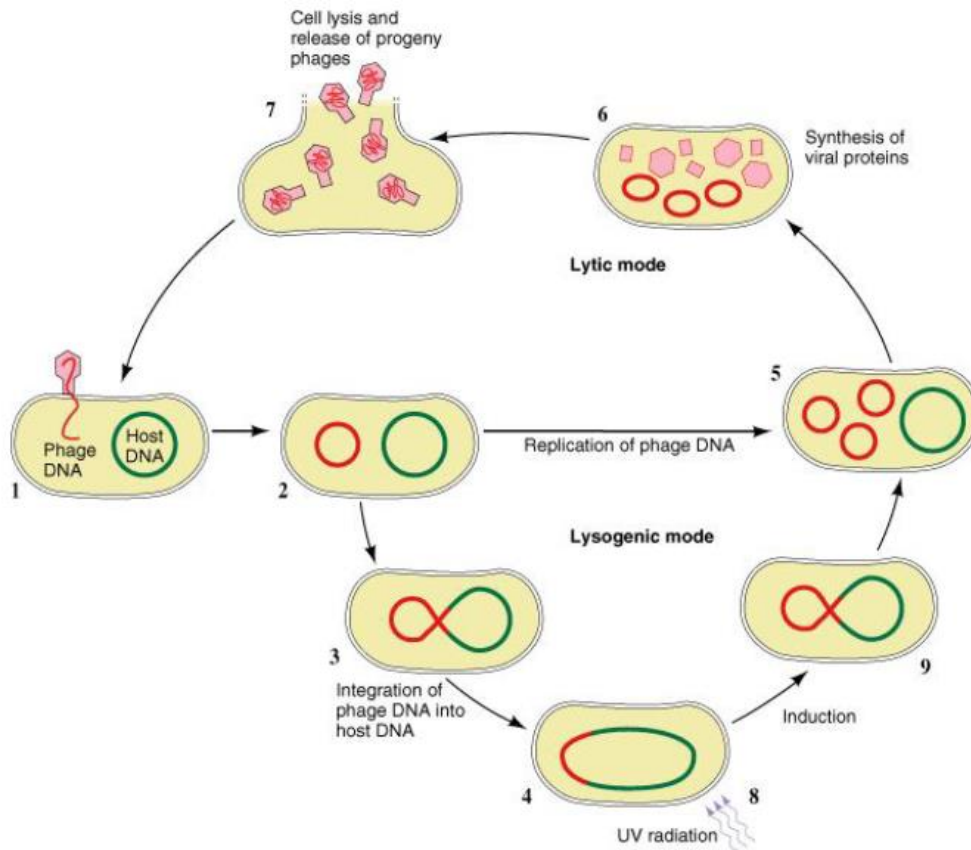


Figure 14 : Schéma général du cycle de vie du bactériophage tempéré λ

5.3 Le cycle chronique

Employé par certains bactériophages, dont le célèbre bactériophage filamenteux M13 très utilisé dans les techniques de *Phage display*, le cycle infectieux abouti à la production chronique de particules virales, à faible débit, qui sont excrétées par bourgeonnement ou extrusion. Point particulier, les virus nouvellement synthétisés sont sécrétés de la cellule hôte sans que celle-ci ne soit lysée. Les cellules infectées continuent à se diviser, transmettant le virus à la descendance et sont peu altérées par ce parasitisme chronique.[66]

5.4 Le cycle pseudolysogénique

La pseudolysogénie peut être interprétée comme un état de non-choix entre un cycle lytique et un cycle lysogénique[67]. Après l'injection du matériel génétique dans la cellule hôte, celui-ci reste quiescent, sous forme extra-chromosomique, tel un plasmide, sans intégration dans le génome de la cellule hôte. La transmission de ce matériel génétique viral à la descendance est asymétrique car il n'y a pas de réplication : seule une des cellules filles en hérite. Exceptionnellement, dans le cas du phage P1, des mécanismes particuliers aboutissent à la copie du génome viral et à sa distribution équitable lors de la division cellulaire.

La pseudolysogénie est généralement observée lors de conditions de croissance non favorables pour la bactérie (et donc également pour la réplication virale). Secondairement, le virus peut adopter l'une des deux voies classiques décrites précédemment (cycle lytique ou lysogénique). Les bases moléculaires assurant le contrôle de ces voies sont actuellement inconnues.

6- Transduction

C'est le transfert indirect de matériel génétique bactérien entre deux bactéries plus ou moins proches phylogénétiquement, par l'intermédiaire d'un bactériophage, qui joue donc le rôle de vecteur. Ces échanges de gènes peuvent être à l'origine de la dissémination dans la population bactérienne de gènes de résistance aux antibiotiques ou de facteurs de pathogénicité [68] . On distingue trois types de transduction :

6.1 La transduction généralisée et non spécifique

L'ADN bactérien est fragmenté par une nucléase phagique, par conséquent, lors de l'assemblage des virions dans la cellule hôte, des morceaux d'ADN bactérien peuvent s'incorporer, au hasard, dans la capsid d'un bactériophage. Puis, le phage peut transférer cet ADN bactérien à une autre bactérie réceptrice, où il sera intégré et recombiné à son génome.

La transduction est alors complète. Il faut noter que cette transduction généralisée peut également être effectuée par un phage virulent.

6.2 La transduction abortive

C'est le même mécanisme que la transduction généralisée, cependant l'ADN injecté dans la cellule réceptrice n'est pas intégré au génome bactérien et ne sera donc pas transmis à la descendance de la bactérie. Néanmoins, il reste fonctionnel et s'exprime normalement mais il sera dilué au cours des divisions cellulaires successives.

6.3 La transduction localisée et spécifique

Cette transduction n'est réalisée que par les phages tempérés. Lors de la libération du prophage du génome bactérien pour réaliser un cycle lytique, on observe parfois, une excision anormale aboutissant à un prophage contenant une partie du génome de l'hôte. Les gènes bactériens peuvent donc être transmis à une autre bactérie lors d'une nouvelle infestation.

7-Spécificité phages-bactéries

Une des propriétés importantes des phages est leur étroite sélectivité d'espèces. Ceci signifie qu'ils n'attaquent qu'une espèce bactérienne précise, et souvent même, uniquement quelques représentants d'une espèce donnée. D'autre part, il existe pour la plupart des espèces bactériennes plusieurs bactériophages susceptibles de les infecter.

Cette sélectivité est due au fait que pour infecter une bactérie, le phage doit reconnaître des structures situées à la surface de la bactérie qui lui permettent de s'y accrocher. Quand on se place du point de vue de la phagothérapie, cette particularité est à la fois un avantage et un inconvénient par rapport à une antibiothérapie.

7.1 Avantage

L'avantage de cette sélectivité est la reconnaissance et la destruction d'une espèce bactérienne généralement unique : l'espèce bactérienne pathogène. Les antibiotiques, notamment ceux à large spectre, détruisent (lorsqu'ils sont bactéricides) sans discernement de nombreuses espèces bactériennes, y compris celles nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme. La conséquence est la possibilité d'effets indésirables plus ou moins graves. En guise d'exemples, rappelons le risque de diarrhées (fréquent avec l'amoxicilline), préjudiciable chez les patients faibles et alités. L'administration d'antibiotiques à large spectre peut permettre à certaines bactéries commensales de la flore digestive, résistantes aux antibiotiques, de se développer de manière importante, et pour certaines d'exprimer leur virulence (comme *Clostridium difficile*).

7.2 Inconvénients

Tout d'abord, la souche bactérienne, initialement cible d'un bactériophage, peut subir une mutation qui entraîne une modification de sa structure de surface, affectant la fixation de ce bactériophage. Celui-ci devient alors inefficace. On obtient alors une bactérie devenue résistante à l'action du phage, comme cela est possible avec les antibiotiques. Il est possible de minimiser cet inconvénient par l'administration conjointe de bactériophages ayant des cibles différentes au niveau de la surface bactérienne. Ainsi, comme pour toute mutation, les fréquences respectives des mutations potentielles s'additionnent et le risque de voir apparaître un mutant résistant à tous les bactériophages administrés est infime. Cette solution avait d'ailleurs été imaginée très tôt par Felix d'Hérelle.

L'autre inconvénient de cette sélectivité est que pour les bactériophages ayant un spectre très étroit, il est nécessaire d'isoler au préalable la bactérie responsable de l'infection pathogène. En effet, seule la connaissance précise de la bactérie permet de déterminer et de propager le ou les phages qui l'infesteront. La qualité du prélèvement, tout comme le rôle du laboratoire de bactériologie est donc primordial. L'utilisation d'antibiotiques à large spectre peut, dans de nombreux cas, permettre de s'affranchir d'une qualité parfaite de l'analyse initiale. De plus,

un traitement probabiliste peut être entrepris, avec d'autant plus de chance de réussite que l'expérience du praticien est étendue et que le spectre de l'antibiotique est large. Laphagothérapie n'offre pas ou peu ces possibilités. Toutefois, l'existence de diagnostics rapides

et de suspensions phagiques ayant une activité proche de 100% sur une espèce donnée (par exemple, l'existence de préparations phagiques actives sur pratiquement 100% des souches de *Staphylococcus aureus*) permettraient un gain de temps précieux pour la mise en route d'un traitement. De plus, une stratégie complémentaire peut être envisagée, par l'utilisation de préparations adaptées à l'écologie d'un hôpital.

Enfin, les infections à germes multiples (notamment anaérobies) peuvent constituer une dernière limite aux traitements phagiques. L'existence de cocktails phagiques, ou suspensions polyvalentes, adaptés aux germes en cause peut limiter ce risque.

II- La phagothérapie

1- Principe

Comme nous l'avons vu en première partie, le traitement d'infections bactériennes à partir de bactériophages, plus communément appelé phagothérapie, a été étudié et pratiqué très tôt après la découverte des bactériophages, et même bien avant que ceux-ci soient utilisés par la recherche en biologie génétique. Cette pratique tend à utiliser leurs propriétés de prédateur naturel des bactéries pour éliminer les populations bactériennes pathogènes, en plaçant ces phages si possible au contact sinon au plus proche des sites d'infections.

En pratique, il existe deux protocoles de phagothérapie : soit on administre un cocktail de bactériophages, soit un phagogramme est pratiqué (à l'image des antibiogrammes pour les antibiotiques) pour cibler la bactérie incriminée et choisir le phage lui correspondant.

Les bactériophages étant très spécifiques d'une espèce de bactérie, voire de seulement quelques souches dans cette espèce. Utiliser un bactériophage qui ne correspondrait pas à la bactérie ciblée serait inefficace.

L'avantage du cocktail de phages réside dans le large spectre couvert par son utilisation et par le risque moindre de se confronter à des résistances. Ce type d'application est compatible avec une utilisation en urgence.

La méthode plus ciblée nécessite l'isolement de la bactérie, ce qui prend plus de temps et peut s'avérer plus compliqué. Une fois isolée, la bactérie est testée *in vitro* grâce aux nombreux phages disponibles dans une collection de bactériophages étudiés auparavant et nommée phagothèque. D'après Stephen T. Abedon, une étude russe aurait montré que la phagothérapie serait généralement plus efficace si elle était pratiquée de façon ciblée, et cette technique serait de ce fait devenue la technique généralement utilisée pour traiter les infections en Pologne [3] .

2- Pharmacologie

La pharmacologie phagique a débuté très tôt, avant même que la véritable nature de ces virus ne soit établie. Les premières études de pharmacologie ont été confrontées aux limites scientifiques de l'époque. Elles ont néanmoins permis d'en apprendre davantage sur ces virus et d'utiliser ces connaissances pour parfaire l'outil thérapeutique. Des travaux plus récents complètent, et parfois corrigent, ces premières études. Ils demeurent cependant très largement insuffisants pour connaître en détail le comportement des phages dans l'organisme.

2.1 Pharmacocinétique

La pharmacocinétique est l'étude du devenir du principe actif dans l'organisme en fonction du temps, depuis son site d'administration jusqu'à son élimination. Lorsqu'on s'intéresse aux substances (et entités) antibactériennes, le terme « organisme » doit avoir une signification plus large et intégrer les flores microbiennes associées à l'organisme. Classiquement, la pharmacocinétique fait intervenir quatre principales étapes (système ADME) :

-L'absorption : ensemble des phénomènes intervenant dans le transfert du principe actif depuis son site d'administration jusqu'à la circulation sanguine.

- La distribution : processus de répartition du principe actif dans l'ensemble des tissus et organes de l'organisme. Elle se fait à deux niveaux : la distribution plasmatique ou sanguine et la distribution tissulaire.

-La métabolisation : processus par lequel une modification de la structure du principe actif est effectuée par des systèmes enzymatiques. Elle a pour conséquence la formation de métabolites actifs, inactifs ou toxiques.

- L'excrétion : élimination définitive du principe actif de l'organisme.

D'après Sulakvelidze et ses collaborateurs, peu d'études explorent la pharmacocinétique des préparations thérapeutiques de phages [5] .

2.1.1 Absorption

Lors de la phase d'absorption, la molécule doit être capable de traverser les membranes biologiques pour atteindre la circulation systémique. Il peut s'agir des parois stomacale ou intestinale, de la peau, de muqueuse diverses, ...

Au début des études pharmacologiques, quelques travaux ont mis en évidence la présence de phages dans la circulation sanguine des animaux et des humains, qu'ils soient malades ou sains. Les scientifiques se sont alors interrogés sur l'origine de cette « phagémie » et ont étudié la possibilité d'un passage de la barrière gastro-intestinale par les phages, qu'ils ont nommé « translocation phagique ». La durée déterminée pour ce passage varie d'une étude à l'autre. Keller et Engley ont par exemple montré, en 1958, que des phages, introduits dans le tube digestif de souris, étaient retrouvés cinq minutes après dans le sang. Une autre étude, citée par l'équipe de Górski et réalisée par Reynaud en 1992 chez le lapin parle d'un délai de quatre jours pour cette absorption [69] .

D'après l'équipe de Górski, les travaux d'Hoffmann en 1965 indiquent que l'administration intra-rectale de bactériophages génère des taux de phagémie assez élevés, aussi élevés que lors d'injection (intramusculaire) et qu'ils sont obtenus plus rapidement (cinq minutes en intrarectal contre quinze minutes en intramusculaire pour obtenir le même pic de phagémie).

Concernant l'être humain, très peu de documents traitent de l'absorption des bactériophages. L'équipe de Górski relate une étude réalisée par Weber-Dabrowska en 1987 dans laquelle le scientifique atteste de la présence de bactériophages dans le flux sanguin de patients au bout de dix jours de traitements oraux par phagothérapie contre diverses infections [69].

2.1.2 Diffusion

Il a tout d'abord été mis en évidence, par les travaux d'Appelmans en 1921, que des phages injectés par voie intraveineuse disparaissaient de la circulation sanguine en deux heures[70]. Cela signifiait qu'il y avait potentiellement une migration des particules virales du sang vers un autre compartiment. La question était à présent de savoir où ces particules diffusaient.

Des études russes réalisées par Bogovazova en 1991 et 1992 et relatées par l'équipe de Sulakvelidze indiquent qu'après administration orale de phages à des animaux de laboratoire, on les retrouve deux à quatre heures après dans la circulation sanguine, puis dix heures après dans divers organes comme le foie, les reins ou la rate[5].

D'après l'équipe de Górski, certains auteurs décrivent une possible liaison entre des bactériophages et des érythrocytes. C'est le cas de Bystricky en 1964 ainsi que celui de Reynaud en 1992 à propos de coliphages CF 0103. D'autres affirment n'avoir pas trouvé de liaisons, comme Keller et Engley en 1958 à propos de coliphages T1 [69] .

D'autre part, il a été également montré, grâce aux travaux minutieux de l'équipe de Dubos, que des phages injectés par voie intrapéritonéale à des souris, saines ou présentant une encéphalite causée par *Shigella dysenteriae*, étaient décelés au sein de leur encéphale, dans une très forte proportion lorsqu'ils s'agissaient des souris infectées, témoignant d'une dissémination vers le cerveau et, lors d'infection, de la multiplication des phages sur le lieu d'infection[71] .

Il y a donc une dissémination des bactériophages dans différents organes de l'organisme, et notamment dans les organes où se situe l'infection bactérienne ciblée. Cependant, Skurnik et

Strauch affirment, sans les citer, que certaines parties de l'organisme ne permettraient pas une bonne diffusion des bactériophages jusqu'à la zone d'infection[72].

2.1.3 Métabolisation

Sur ce point, les travaux d'Evans ont montré, en 1933, l'inhibition *in vitro* de la capacité de phagocytose des phages lors de la mise en contact avec du sang, du pus, de la bile ou de la salive[73]. Bien plus tard, Smith et Huggins ont observé une inactivation des phages par l'acidité de l'estomac, par des anticorps dirigés contre ces phages ou par une température non optimale[74].

La mise en évidence par Evans de l'inactivation des phages par certains fluides corporelles plongea, à cette époque, les scientifiques dans le doute concernant l'efficacité de la phagothérapie. Ces observations *in vitro* ne concordaient pas avec la réussite des traitements généralement observée *in vivo*. Les scientifiques avaient remarqué une activité immunogène lors d'administration de suspensions de phages. Certains ont alors supposé que les réussites thérapeutiques observées n'étaient pas dues au pouvoir bactéricide des bactériophages, mais aux débris bactériens présents au sein des suspensions (les suspensions n'étant effectivement pas toujours correctement purifiées) susceptibles de stimuler le système immunitaire adaptatif ou à l'introduction de protéines (la capsid des phages étant elle-même de nature protéique) à même d'induire une réponse immunitaire innée[21]. Cependant, il n'existait à cette époque pas vraiment d'alternative au traitement des infections bactériennes et les médecins continuèrent donc de prescrire des suspensions de bactériophages. Les mécanismes mis en jeu restèrent obscurs jusqu'à la véritable compréhension de la nature et du fonctionnement des bactériophages.

2.1.4 Élimination

De nombreux travaux témoignent de l'élimination des bactériophages dans l'urine ou dans les fèces. La présence de phages dans les fèces est par exemple démontrée par les expériences de

Smith et Huggins portant sur plusieurs phages administrés oralement à des veaux [74], ou plus tard lors de celles de Bruttin et Brüßow portant sur des phages T4 administrés oralement à des humains cette fois-ci [75] .

Cette élimination s'effectue après une période plus ou moins longue (jusqu'à plusieurs jours) de persistance des phages au sein de l'organisme [5] . Lors de ses travaux, l'équipe de Merrill a réussi à sélectionner *in vivo* des bactériophages mutants dont la persistance dans le corps était accrue grâce à un mécanisme d'échappement par rapport au système immunitaire, et qui présentaient en plus une meilleure efficacité thérapeutique[76] .

2.2 Pharmacodynamique

2.2.1 Effets anti-infectieux

Pendant longtemps, peu d'études véritablement ciblées sur la pharmacodynamique ont été publiées. De nombreux travaux expérimentaux dont le but était plutôt d'étudier les résultats de la thérapie ont livré quelques informations sur ce domaine mais les informations devraient être considérées avec précaution du fait du manque de méthodologie scientifique pour certaines publications. Des travaux plus récents et plus fiables ont vu le jour à la suite de la redécouverte des bactériophages par les pays occidentaux.

Plusieurs scientifiques se sont intéressés à la dynamique de populations des bactériophages au sein de l'organisme et ont élaboré des modèles mathématiques théoriques pour la décrire ou se sont basés sur des études plus expérimentales.[33][77][78][79][80][81]

Par exemple, dans leur étude sur ce point, Kasman et ses collaborateurs ont confirmé les informations déjà présentées auparavant par Wiggins et Alexander. Tout d'abord, ils ont indiqué que l'interaction entre phage et bactérie était, comme pour tous les virus, due à une collision aléatoire entre les deux éléments. Ensuite, ils ont observé qu'une trop faible population bactérienne ne permettait pas un bon développement de la population des bactériophages, et ont donc conclu à l'existence d'un seuil de densité bactérienne nécessaire à atteindre pour la bonne prolifération des phages. Dans le cas d'une faible concentration

bactérienne initiale, la population bactérienne met du temps à atteindre la densité nécessaire à une augmentation de la concentration en bactériophages. Il apparaît de plus qu'une faible probabilité de rencontre entre phages et bactéries, selon le site d'infection, le nombre de phages administrés, etc., augmenterait la valeur de ce seuil, et vice versa.[80][72][82]

Ainsi, débiter une phagothérapie au plus tôt est primordial pour la guérison, mais la débiter trop tôt, c'est-à-dire alors qu'il n'y a encore qu'une faible population bactérienne au niveau du site d'infection, ne permettrait pas aux phages de se propager et ceux-ci seraient éliminés de l'organisme avant même d'avoir initié un début de thérapie.

2.2.2 Interaction avec le système immunitaire

Il est reconnu que les protéines, surtout sous forme d'assemblage particulière, sont très souvent fortement immunogènes lorsqu'elles sont introduites dans un organisme. De plus, normalement, le système immunitaire de tout être vivant réagit à l'intrusion d'un agent infectieux (virus, bactérie ou parasite). La capsid des bactériophages étant de nature protéique et le phage lui-même étant un virus, il est donc légitime de s'intéresser aux effets immunologiques que peut induire l'introduction de bactériophages dans un organisme.

La recherche a établi que les phages diffusant dans un organisme étaient reconnus comme des intrus par le système immunitaire de cet organisme [41]. Diverses expériences ont été menées sur de nombreuses espèces de phages en ciblant différents facteurs tels que le mode d'administration, et ont permis d'observer que, selon les cas, il existait une immunostimulation, une immunosuppression ou encore une immunotolérance.[83]

2.2.2.1 Réponse immunitaire innée

2.2.2.1.1 Macrophages

Dans les premières études pharmacologiques sur la clairance des bactériophages, ceux-ci apparaissaient principalement éliminés par le système réticulo-endothélial (notamment par les macrophages, et en particulier ceux du foie nommés cellules de Küpffer). Ce phénomène a été expliqué par Nungester et Watrous dans leur travaux démontrant l'accumulation de phages

dans le foie et la rate avant élimination [84], puis a été confirmé par Inchley dans son étude concernant l'action des cellules de Küpffer, étude dans laquelle il indiquait que l'accumulation de phages actifs la plus importante se situait dans le foie [85].

A contrario, l'équipe de Geier a, de son côté, observé une accumulation plus importante de phages actifs dans la rate que dans le foie, et ce indépendamment de la voie d'administration[86]. Les publications d'Inchley et de l'équipe de Geier s'accordaient cependant sur la moindre vitesse d'inactivation des phages dans la rate par rapport à celle survenant dans les autres organes et en particulier dans le foie, traduite par la persistance d'une concentration significative de phages dans la rate plusieurs jours après l'inoculation de ces phages. D'après Kaur, cette faible inactivation décrite à propos des macrophages de la rate pourrait avoir pour conséquence une mise en mémoire plus efficace des lymphocytes B vis-à-vis des phages qui permettrait à terme une réponse immunitaire adaptative plus efficace contre ces phages[87].

Néanmoins, les travaux plus récents menés par l'équipe de Srivastava suggèrent que les macrophages ne joueraient pas un rôle si important dans l'inactivation des phages[88].

2.2.2.1.2 Polynucléaires

Les bactériophages sont incapables d'activer les polynucléaires. Toutefois, ceux-ci, une fois activés, seraient capables d'inactiver les bactériophages. Cette inactivation est supposée être causée par l'acide hypochloreux libéré par les polynucléaires activés[89][90].

Cependant, certaines expériences laissent entendre que l'inactivation des bactériophages pourrait ne pas être due à l'activité des macrophages[88] ou à celle des polynucléaires [91].

2.2.2.1.3 Lymphocytes NK

D'après Srivastava et ses collaborateurs, les lymphocytes NK (*natural killers*) n'auraient pas de rôle dans l'inactivation des phages, puisque, dans leur expérience, des sujets dépourvus de lymphocytes NK présentent une inactivation des phages similaires à ceux présentant ces lymphocytes NK [88].

2.2.2.1.4 Cellules dendritiques

L'équipe de Barfoot a démontré, à grand renfort de clichés de microscopie électronique, que les cellules dendritiques phagocytèrent les bactériophages relativement rapidement[92].

2.2.2.2 Réponse immunitaire adaptative

2.2.2.2.1 Réponse immunitaire à médiation humorale

D'après Jerne, la majorité des anticorps observés lors d'administration de bactériophages sont des anticorps neutralisants. Ces anticorps, s'ils se lient aux protéines nécessaires au bon fonctionnement du cycle phagique, vont bloquer la pénétration des phages dans les bactéries. En revanche, si la liaison concerne d'autres protéines, on n'observe pas de modifications [93]. Lorsqu'il s'agit d'une exposition primaire à un phage, l'hôte, dit « naïf » ou « non immun », ne présenterait qu'une faible concentration d'anticorps anti-phages [93]. La présence d'anticorps anti-phage avant même l'administration de phages s'expliquerait par l'omniprésence des phages dans la nature donnant lieu à une exposition de l'être humain dès la naissance et le développement de ces anticorps suite à cette exposition, une sorte de constante immunisation naturelle [3][94].

Après administration intraveineuse de bactériophages, on observe une importante concentration d'anticorps anti-phage, témoignant d'une augmentation de leur production [93]. Clark et son équipe ont montré qu'administrer ainsi des phages ϕ X174 engendrait la production d'anticorps, et ce même chez des patients immunodéprimés [95]. Autre point, Srivastava et ses collaborateurs ont remarqué que la clearance des phages T7 dans le sang de souris était plus lente lorsque ces animaux étaient déficients en lymphocytes B [88].

Tout porte à croire que les anticorps neutralisants dirigés contre les phages pourraient diminuer l'efficacité de leur pouvoir bactéricide et ainsi affecter le rendement de la phagothérapie. Cependant, il a été démontré que cette réponse immunitaire était variable d'un phage à l'autre, et que certains phages étaient par ailleurs très peu immunogènes (pour obtenir une concentration détectable d'anticorps, plusieurs injections complémentées d'adjuvants étaient nécessaires). On rapporte également qu'après administration à des patients de traitements phagiques par voie orale, aucune augmentation du titre d'anticorps n'a été observée, contrairement aux traitements par voie intraveineuse [89]. Cependant, d'autres

substances telles que des fragments de bactéries ou des toxines dues aux suspensions utilisées ou à la lyse bactérienne par bactériophagie, comme du LPS par exemple, pourraient également interagir avec le système immunitaire et biaiser les résultats.

2.2.2.2.2 Réponse immunitaire à médiation cellulaire

Lors de la pénétration d'un virus dans l'organisme, une réponse immunitaire à médiation cellulaire (reposant sur les lymphocytes T) se met en place. Dans le cas des phages, les publications traitant de ces lymphocytes sont extrêmement rares [89].

L'équipe de Srivastava rapportent néanmoins que, lors d'administration de phages à des sujets immunocompétents et à d'autres déficients en lymphocytes T, il en résulte une cinétique des phages similaire. Ces résultats penchent donc pour l'absence de rôle significatif des lymphocytes T dans le cadre d'une phagothérapie, et ce malgré la phagocytose des phages par les cellules dendritiques impliquées dans l'activation des lymphocytes T [88].

2.2.2.3.1 Effets sur les cellules de l'immunité innée

2.2.2.3.1.1 Modulation de la phagocytose

Plusieurs auteurs rapportent que certains phages diminueraient le pouvoir de phagocytose des monocytes vis-à-vis des bactéries. La phagocytose des bactéries par les granulocytes (aussi appelé polynucléaires) se montre, elle, soit inchangée, soit augmentée, soit diminuée, en fonction des phages, des bactéries et des doses employées [89].

L'équipe de Weber-Dabrowska a également remarqué que l'utilisation de phages accélérerait le renouvellement des polynucléaires neutrophiles se traduisant par une augmentation de formes immatures et en parallèle une diminution des formes matures [96].

2.2.2.3.1.2 Réduction des dérivés réactifs de l'oxygène

Lors d'infection bactérienne, les polynucléaires libèrent des dérivés réactifs de l'oxygène comme des radicaux libres ou des peroxydes. Ces dérivés réactifs de l'oxygène sont utiles dans l'élimination des bactéries, mais leur présence en excès peut induire un stress oxydatif

néfaste pour l'organisme, d'où l'importance d'évaluer ce paramètre pour déterminer l'innocuité ou non des phages. Les travaux de Miedzybrodzki et son équipe ont montré qu'en présence de bactériophages, cette libération était atténuée et n'engendrait donc pas de risque de stress oxydatif pour l'organisme [87][97].

2.2.2.3.1.3 Effets sur les lymphocytes NK

Peu d'études s'intéressent aux lymphocytes NK. Pourtant, l'équipe de Górski indique que ce type cellulaire subirait potentiellement une modulation par la phagothérapie. Leur étude a révélé que leur nombre serait diminué lors d'administration intrarectale de bactériophages après 49 à 84 jours de traitement (selon les sujets). En revanche, aucune modulation n'a été observée après application topique ou administration orale [89].

2.2.2.3.1.4 Diminution de l'activité des cellules dendritiques

Les publications de l'équipe de Górski attestent d'une diminution de l'activité phagocytaire des cellules dendritiques lors d'une administration orale, laquelle aurait pour conséquences d'empêcher leur activité pro-inflammatoire [69].

2.2.2.3.2 Effets sur les lymphocytes B et T

Là encore, les observations expérimentales sont contradictoires. Lors de leurs expériences, l'équipe de Gorski a remarqué qu'une préparation purifiée de phage T4 inhibait l'activation et la prolifération des lymphocytes T chez l'homme [69]. D'un autre côté, les études menées par Zimecki et ses collaborateurs ont démontré l'existence d'une stimulation des splénocytes par des phages dirigés contre *Staphylococcus aureus*[98].

2.2.2.3.3 Effets sur la production de cytokines

La modulation affectant la production de cytokines varie également en fonction des phages testés et des infections étudiées [89].

Les scientifiques ont observé l'augmentation de certaines cytokines après inoculation de préparation phagiques. Par exemple, selon Zimecki, l'administration d'une préparation

purifiée de phages contre *Staphylococcus aureus* aurait pour conséquence d'activer la production d'IL-6 dans les splénocytes cultivés *in vitro*[98].

D'autres travaux démontrent une diminution de la concentration de certaines cytokines dans l'organisme. Les travaux de Kumari et son équipe montrent par exemple une diminution des IL-1b, des TNF- α et des IL-10 dans le sérum et dans les poumons de souris traitées par des phages contre une infection à *Klebsiella pneumoniae* [99]. Cette diminution des cytokines IL-6 et TNF- α induites par l'administration de suspensions de bactériophages a également été observée par l'équipe de Debarbieux lors de travaux sur des infections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa*[100].

Enfin, l'équipe de Weber-Dabrowska a montré que chez l'homme, lors de phagothérapie, la production de cytokines était effectivement modulée et que, par ailleurs, cette modulation se réalisait en fonction du niveau de TNF- α des patients préalablement sous traitement. Ceux dont le niveau était faible ou moyen voyaient leur taux de TNF- α augmenter avec le traitement, tandis que l'inverse se produisait chez les patients présentant un taux initialement élevé. Les auteurs rapportent le même type de résultat lors d'études *in vitro* sur des cellules de patients atteints de mononucléose, où du LPS est capable d'induire la production de cytokines [101].

2.2.2.4 Conséquences apparentes rares

La plupart des observations décrites sur les interactions avec le système immunitaire résultent d'études *in vitro*. Ces interactions varient selon de nombreux paramètres tels que la méthode d'administration des phages, le type et la localisation de l'infection, la dose et la nature des phages utilisés. De plus, il ne faut pas oublier que, malgré une purification, une suspension de phages contient toujours une très faible quantité de débris bactériens qui peuvent également interagir avec le système immunitaire. De la même manière, les fragments de lyse bactérienne qui suit la phagothérapie peuvent également interagir avec le système immunitaire. L'importance des phénomènes pharmacologiques liés à la phagothérapie au sein de l'organisme n'est pas encore clairement définie et de plus amples études sont donc nécessaires pour approfondir la pharmacologie des bactériophages

De toutes ces informations, il ressort que les éléments de l'organisme les plus à même d'inactiver les bactériophages seraient les anticorps dirigés contre ces virus. La répercussion sur la phagothérapie de cette synthèse d'anticorps demeure peu claire. Les inconvénients qui en résultent semblent de peu d'importance, en particulier lors de la phase initiale du traitement d'infections aiguës puisque les phages agissent plus vite que la cinétique de production d'anticorps, vu qu'une à deux semaines doit s'écouler avant que cette production d'anticorps soit effective[43].

De par la faible quantité de molécules réactives sécrétées et de par leur impact sur les phages, ces inconvénients apparaissent plus théoriques que réels. Cela pourrait s'expliquer en partie par la forte fréquence des contacts avec des phages très tôt après la naissance, notamment par voie digestive, qui induirait un certain degré de tolérance immunitaire, et expliquerait la faible réponse des lymphocytes B et l'absence de réponse effective des lymphocytes T, contrairement à une réponse immunitaire classique face à un virus, et en dépit de la phagocytose des phages par les cellules dendritiques [89][102].

Par contre il serait intéressant de connaître la durée pendant laquelle les anticorps sécrétés demeurent présents car si, lors d'un traitement, il est nécessaire de réaliser une nouvelle administration de phages, par exemple lors d'une récurrence d'infection, il ne faudrait pas que les phages nouvellement administrés soient neutralisés par les anticorps. En effet, dans le cas où cela se produirait, il serait alors nécessaire soit d'augmenter les doses de phage à administrer (de manière à ce qu'il reste suffisamment de phages actifs pour le traitement), soit d'administrer un autre phage actif contre la bactérie causale mais avec un profil antigénique différent du phage précédemment administré, pour qu'il ne soit pas neutralisé par les anticorps circulants. Des recherches ciblées sur le sujet sont encore nécessaires[35][41][5].

2.2.3 Action anti-inflammatoire

Il existerait une action anti-inflammatoire par les phages commensaux de la muqueuse du tube digestif ainsi qu'une prolifération phagique lors d'inflammation gastro-intestinale. Cette action anti-inflammatoire pourrait en partie découler de l'action immunomodulatrice précédemment exposée, notamment de l'inhibition de l'activité pro-inflammatoire des cellules

dendritiques [3][69] . La diminution des dérivés réactifs de l'oxygène ou de certaines cytokines pourraient également diminuer l'inflammation consécutive à une infection [100] .

3- Préparation des phages pour une utilisation thérapeutique

Comme cela a été mentionné précédemment (partie II. 4), les bactériophages sont présents partout où il y a des bactéries. Mais c'est dans les eaux usées, les égouts, que l'on trouve le plus facilement les bactériophages dirigés contre une bactérie pathogène. Lorsque les prélèvements (échantillons d'eau d'un fleuve ou d'une rivière qui traverse une zone habitée) sont réalisés, il suffit ensuite de suivre les principales étapes suivantes :

3.1 Propagation

- Il faut tout d'abord centrifuger les échantillons d'eau sale et laisser décanter (dissocier dans un mélange les phases solides et liquides qui ont été séparés par centrifugation) pour éliminer les débris. Les phages, de très petite taille, restent au-dessus, dans le surnageant. Puis, une filtration du surnageant, à l'aide d'un filtre de 0.2 μm , permet d'éliminer les bactéries de la préparation. Le filtrat contient en suspension un nombre important de phages différents et éventuellement un ou plusieurs phage(s) candidat(s).

- Ensuite, les bactériophages de la préparation sont mis en contact avec la bactérie pathogène isolée à partir du patient. Pour cela, on mélange la bactérie dispersée dans un milieu liquide avec la préparation précédente : on obtient un bouillon.

- Il faut laisser incuber pendant plusieurs heures, généralement sous agitation douce et à 35°C. Si la préparation contient un ou plusieurs phage(s) lytique(s) pour la bactérie pathogène, seul(s) ce(s) phage(s) se propage(nt) en grand nombre. En effet, chaque phage ayant reconnu une bactérie cible a procédé à plusieurs cycles dont chacun a produit environ 100 phages identiques en une heure. En théorie, on obtiendrait 10 000 phages au bout de 2 heures, puis 1 000 000 au bout de 3 heures et ainsi de suite... En pratique, on arrive à des limites infranchissables du fait de l'élimination complète de la bactérie au sein du bouillon. Cette croissance exponentielle dépasse largement celle des bactéries. Bien qu'ayant une excellente

faculté de reproduction, les bactéries donnent tout au plus quelques centaines de descendants dans le même temps.

Le processus peut donc s'arrêter en quelques heures, à partir du moment où il n'y a plus de bactéries en nombre suffisant.

- Au terme d'un temps convenu, il faut stopper ce développement et détruire les éventuelles bactéries pathogènes résiduelles à l'aide du chloroforme, qui ne dénature pas les phages.

- Une nouvelle centrifugation suivie d'une filtration sont nécessaires pour éliminer les débris bactériens.

A la fin de ces étapes préliminaires, la suspension contient un nombre inconnu de bactériophages et peut-être même un mélange de plusieurs espèces de bactériophages (en proportion variable), susceptibles de lyser la même bactérie. On peut s'en assurer en déposant une goutte de la préparation sur un tapis de la bactérie, identique à celui qui permet d'effectuer un antibiogramme. Il est d'ailleurs possible de réaliser les deux tests simultanément, dans la même boîte de Pétri. La présence d'une zone de lyse bactérienne témoigne de l'activité phagique de la préparation.[40][103]

3.2 Purification

L'objectif est d'isoler chacune des différentes éventuelles variétés de phages. Elle se fait à partir du principe suivant : à une plage de lyse correspond un clone phagique. (Un clone est le produit d'une multiplication à l'identique de bactériophages issus d'un même ancêtre). Pour les bactériophages, comme pour un isolement bactérien, à partir d'une colonie on obtient la purification d'un phage par clonage. Pour cela, il suffit :

- Tout d'abord de diluer un certain nombre de fois la préparation obtenue précédemment (de dix en dix) de manière à ce qu'au final, on obtienne une dispersion des phages pour qu'ils soient isolés.

- Puis d'étaler les dilutions sur une gélose en boîte de Pétri.

Deux techniques sont envisageables : l'isolement direct et la double couche. En microbiologie, l'isolement se fait grâce à la rapidité des effets observables que provoque la multiplication des micro-organismes (ou des entités) étudiés, bactérie ou virus.

Dans la technique de l'isolement direct, les bactéries pathogènes sont déposées à la surface de la gélose. Dans un deuxième temps, on isole chaque bactériophage au-dessus du « tapis bactérien ». En dix-huit à vingt-quatre heures d'incubation, les bactéries se sont multipliées et des colonies se sont formées sur la gélose, sauf à l'endroit où avait été déposé le bactériophage. Puisque le bactériophage lyse les bactéries qu'il rencontre, à certains endroits il n'y a pas de colonies bactériennes mais une tâche claire ou vierge qui correspond à une colonie de bactériophages.

Une variante de cet isolement, s'appelle la méthode de la « double couche ». Un peu plus délicate et technique, elle consiste à mélanger en des proportions définies, la bactérie pathogène et le bactériophage dans un peu de gélose liquide que l'on coule à la surface de la gélose.

- Il faut ensuite choisir un (ou plusieurs) phage(s) isolé(s). Les plages d'aspects différents correspondent généralement à des phages différents. Une fois prélevé, le phage doit être propagé sur une suspension fraîche de la bactérie, comme lors de l'étape de propagation.

- Enfin, il faut recommencer autant de fois que nécessaire cette étape afin de s'assurer d'un clonage parfait. Comme en bactériologie, deux ou trois opérations suffisent. Cette opération cyclique permet de s'assurer qu'un nombre maximal de phages est produit à chaque cycle. (L'importance de cette étape était soulignée par Felix d'Hérelle et de nombreux phagothérapeutes).[40][41]

3.3 Numération

Après l'isolement et la purification, il convient de connaître le nombre de phages actifs contenus dans la suspension. Il s'agit de s'assurer lors de cette étape que celle-ci a un pouvoir suffisant, qui est conditionné par un titre important. Le titre, nombre de particules phagiques lytiques par unité de volume, est généralement exprimé en PFU (Plage Formant Unité) par millilitre (mL). De tout temps, il a été recommandé de n'utiliser que des suspensions ayant un titre au moins égal à 10^5 PFU par mL. Mais des titres supérieurs, de 10^7 à 10^9 , peuvent être obtenus et sont préférables.

C'est par une observation de la lyse *in vitro* que le nombre de particules phagiques lytiques

présentes dans un milieu liquide sont comptabilisées. La technique n'est pas très différente de celle utilisée pour compter les bactéries. Pour ces dernières, il suffit de compter macroscopiquement les colonies présentes à la surface d'une gélose. Pour les phages, on compte le nombre de plages claires sur un tapis de culture bactérienne. Dans l'un et l'autre cas, la population de micro-organismes (ou entités pour les phages) dont on veut compter les membres doit être dispersée.[40]

3.4 Contrôle

Les suspensions commerciales ou de caractéristiques inconnues doivent faire l'objet de quelques contrôles, préalables à l'administration. En particulier, l'activité de cette suspension, pour s'assurer de la sensibilité de la bactérie cible aux phages de la suspension, et le titre de la suspension sont nécessaires.

4- Phagogramme

À la manière des antibiogrammes réalisés pour sélectionner les antibiotiques les plus adéquats au traitement d'une infection bactérienne, il est possible de réaliser ce qu'Alain Dublanche nomme « phagogramme » ou « bactériophagogramme ». Il permet d'étudier la sensibilité d'une bactérie aux phages.

Dans le but de préparer un mélange phagique, pour traiter une infection mixte à plusieurs bactéries d'espèces différentes par exemple, chaque phage peut être testé avant d'être introduit dans le cocktail phagique. Dans le cas d'une infection à une souche bactérienne donnée, la bactériophagogramme permet de sélectionner le ou les phages les plus actifs contre la bactérie en question. La bactérie, qui a été isolée chez le patient, estensemencée sur une gélose de boîte de Pétri. Les phages de la phagothèque peuvent alors être testés : il suffit de déposer une goutte (5 microlitres) de chaque suspension phagique (en lieu et place des disques de papier buvard de l'antibiogramme). Après incubation de dix-huit à vingt-quatre heures, la présence ou non et l'importance de la plage claire témoignent de l'activité lytique du dépôt et de son importance (figure 15).

Si on teste de cette façon une préparation multiphagique commerciale, on peut déterminer de façon globale la ou les spécificité(s) de ce cocktail, voire le spectre d'hôtes. Il est néanmoins impossible de déterminer quels sont les phages actifs contre la bactérie dans le mélange (un seul phage à la concentration de 10^5 PFU/mL fera une plage claire dans le tapis bactérien, même si la bactérie est résistante aux autres phages du mélange).

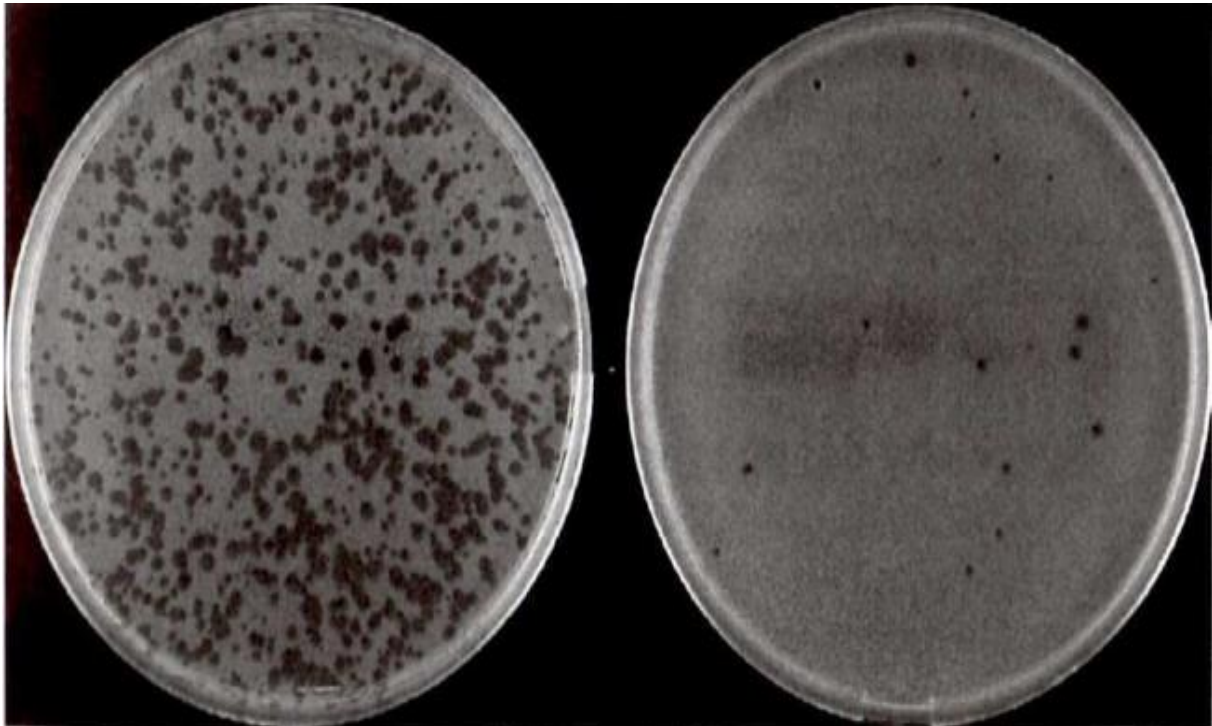


Figure 15 : Boîte de Pétri avec des plages claires [43]

Dans ces deux boîtes de Pétri un même bactériophage a été testé. On remarque un titre phagique plus élevé dans la boîte de Pétri de gauche que dans celle de droite, observable par un nombre nettement plus important de plages claires à gauche qu'à droite. Les plages claires apparaissent en foncé (gris noir) sur cette photo. [40][104]

5- Phagothèque

De manière à optimiser les soins par phagothérapie, des collections de bactériophages ont été créées dès l'époque de Félix d'Hérelle. Les phages stockés sont des virus purifiés (c'est-à-dire isolés et débarrassés de potentielles impuretés) et dont les propriétés physico-chimiques et les capacités thérapeutiques sont connues. Ces phagothèques permettent de s'affranchir de toutes les étapes de récupération, préparation et contrôle des phages, ce qui constitue un gain de temps et d'argent non négligeable. Elles sont utilisées dans l'établissement d'un phagogramme à partir d'un prélèvement bactérien au site d'infection, puis dans le traitement. Avant l'étape du traitement, il est cependant nécessaire d'adapter le phage à la bactérie (c'est-à-dire le rendre le plus efficace possible contre cette bactérie), de produire artisanalement une quantité de phages suffisante, de créer à partir d'eux les suspensions (en ampoule de 5 ou 10 mL) et de les tester pour s'assurer de leur innocuité et de leur pureté (aucune bactérie résiduelle) *via* des tests bactériologiques et des inoculations à des animaux. Toutes ces étapes ne sont pas compatibles avec le traitement d'une infection aiguë, on ne peut se permettre de prendre le temps de préparer ce genre de traitement que pour les infections chroniques. Pour prendre en charge les infections d'urgence, il est préconisé d'employer des cocktails thérapeutiques préparés en tenant compte des atteintes les plus fréquentes.

En France, les collections initiées par d'Hérelle et autrefois perpétuées par le professeur Vieu à l'Institut Pasteur de Paris et par le professeur Guillermet à celui de Lyon sont, à présent, détruites. D'autres instituts étrangers ont, eux, maintenu et amélioré leur phagothèque, notamment à l'Institut Eliava de Tbilissi en Géorgie et à Wrocław en Pologne.

6- Cocktails

Les cocktails sont des mélanges bien établis et caractérisés de plusieurs bactériophages destinés à combattre les infections bactériennes les plus courantes. On distingue les cocktails selon les atteintes et les appareils pour lesquels ils sont préconisés (appareil digestif, ...). Ces préparations thérapeutiques ont été commercialisées à large échelle en France jusque dans les

années 70 et étaient décrites dans le dictionnaire des médicaments Vidal [43] . Cinq cocktails différents étaient ainsi librement commercialisés par la firme « Le Laboratoire du Bactériophage » et distribués par le Laboratoire Robert et Carrière. Puis, subissant la diminution de l'utilisation des bactériophages au profit des antibiotiques, la firme finit par cesser sa production en 1978, malgré les protestations de quelques scientifiques et quelques pétitions militant pour le retour à la bactériophagie thérapeutique[42]. Les Instituts Pasteur de Paris et de Lyon continuèrent à fournir des cocktails préparés sur mesure jusqu'au début des années 90, puis la production finit par s'éteindre [43] .

Les bactériophages ne sont pas des virus fragiles. Ils supportent le froid et peuvent être conservés à +4°C (réfrigérateur) plusieurs mois, voire plusieurs années. Ceci est un aspect important si une production industrielle est envisagée. Congelés, les phages pourraient se conserver encore davantage (presque indéfiniment). La forme liquide (suspension) est la forme la plus fréquente. Les flacons ou ampoules sont habituellement conservés au réfrigérateur. Les suspensions permettent des voies d'administrations variées : des formes liquides destinées à être appliquées sur la peau, des préparations buccales (pour une action systémique par voie sublinguale, ou locale), des gouttes auriculaires, des gouttes nasales, des collyres (stériles d'un point de vue bactérien), des suspensions pour irrigation vaginale, des préparations liquides administrées dans les poumons sous forme d'aérosols à l'aide d'un nébuliseur (pour une action locale notamment) et des formes destinées à être injectées (voie intramusculaire, sous-cutanée, intraveineuse si la suspension est très fine voire même les voies intrapleurale, intrapéritonéale, intrarachidienne).

En guise d'exemple, on peut citer le Pyophage TM qui est une spécialité fabriquée à l'Institut de virologie de Tbilissi. C'est une suspension d'un mélange d'au moins trente phages de spécificité étendue sur staphylocoque, streptocoque, pyocyanique, colibacille et *Proteus*. Le produit est conditionné en ampoule de 5 mL sous la forme d'un liquide limpide. Le titre annoncé pour chacune des spécialités phagiques est de l'ordre de 10^5 . La conservation est d'au moins 1 an à +4°C.

Des formes semi-solides (crèmes, pommades, gels...) contenant des bactériophages peuvent être réalisées mais elles ne sont pas souvent formulées.

Des formes solides peuvent également être conçues en vue d'administration par différentes voies (rectale, vaginale ou orale notamment). Ainsi, la fabrication de suppositoires ou d'ovules vaginaux a déjà été réalisée. Les phages supportent la dessiccation. Cette propriété, couplée à leur résistance au froid, permet d'envisager la lyophilisation des phages en vue d'une administration orale ou (éventuellement) sublinguale. Si une administration *per os* est envisagée, l'administration phagique devra être précédée de celle d'anti-acides pour préserver les phages lors de leur passage dans l'estomac. La formulation de gélules gastro résistantes contenant des phages peut également permettre d'éviter l'action destructrice des sucs gastriques.

Enfin, des formes adhésives sont formulées en vue d'une action locale. Le principal exemple est le PhagoBioDerm (figure 16), développé par une équipe de biologistes géorgiens à partir de 1995. C'est un matériel biologique composé d'un support biodégradable (polyester amide) sur lequel a été déposé un mélange de bactériophages lytiques pour les cinq bactéries les plus souvent responsables de suppurations (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*), ainsi qu'un antibiotique (ciprofloxacine ou lincomycine selon le cas), un anesthésique local (benzocaïne) et une substance protéolytique

(Chymotrypsine ou trypsine). Le film protège la surface de la plaie des contaminations externes tout en activant les macrophages et la régénération tissulaire, tandis que la trypsine assurerait un « nettoyage » des tissus mortifiés. Il est indiqué dans les blessures cutanées infectées, les escarres, les ulcères (dont ceux d'origine diabétique) et les brûlures.[43]



Figure 16 : Photo du PhagoBioDerm

TROISIÈME PARTIE : LA PHAGOTHÉRAPIE AUJOURD'HUI

I-Méthode d'analyse employée

L'analyse SWOT ou matrice SWOT est un outil d'analyse stratégique. Il combine l'étude des forces et des faiblesses d'une organisation, d'un territoire, d'un produit, etc. avec celle des opportunités et des menaces de son environnement, afin d'aider à la définition d'une stratégie de développement.

Le terme SWOT est un acronyme issu de l'anglais : Strengths (Forces), Weaknesses (Faiblesses) , Opportunities (Opportunités), Threats (Menaces).

Je l'applique ici au traitement qu'est la phagothérapie, afin d'avoir une analyse globale des avantages et des inconvénients de la thérapie.

Dans le cadre de l'étude des bactériophages, les termes « Indication » et « Limite » ont été substitués à « Opportunités » et « Menaces », plus appropriés à l'univers médical.

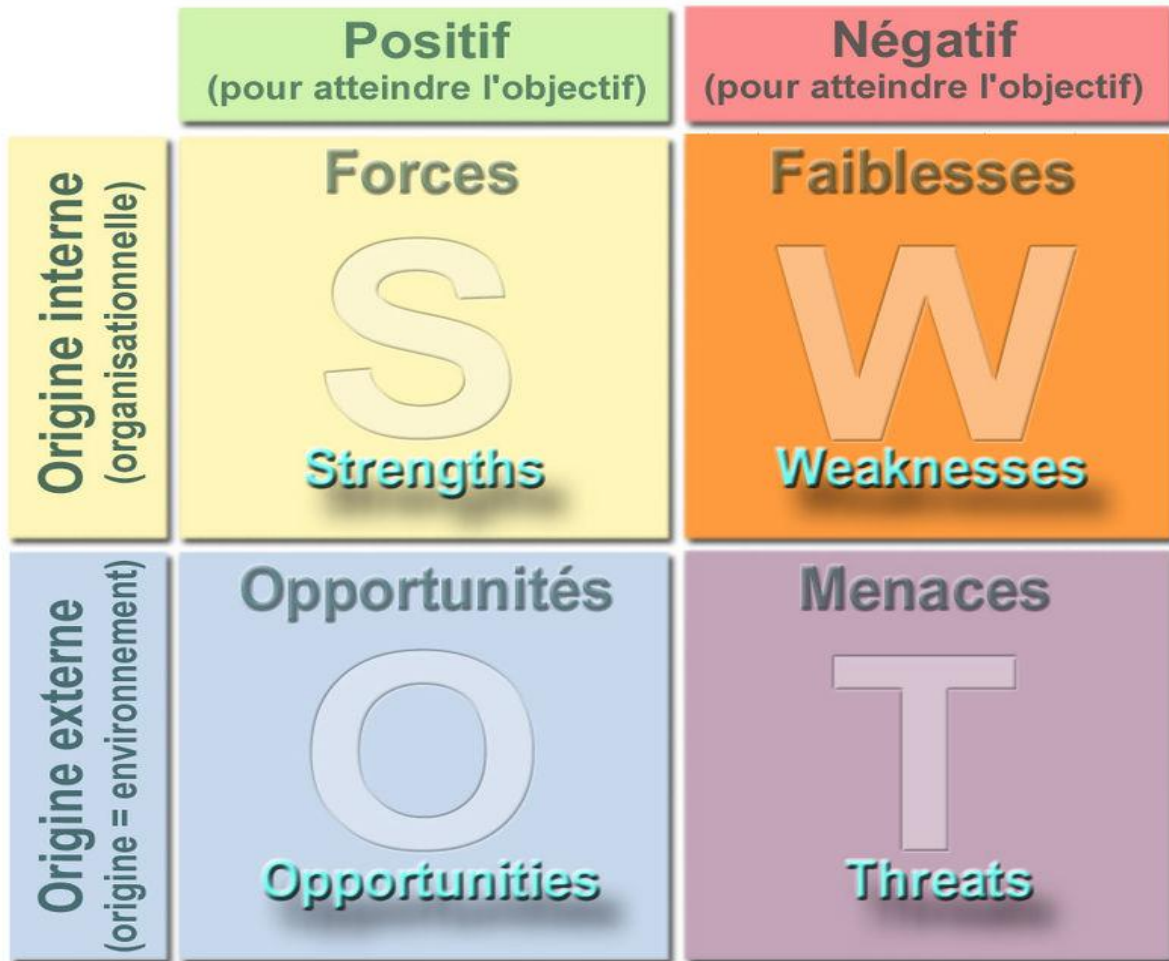


Figure 17 : Matrice SWOT, avec mots anglais et traduction

II-Forces

1- Avantage sur les antibiotiques

Un avantage très important concerne la résistance des bactéries vis-à-vis des bactériophages. En effet, cette résistance existera toujours. Mais à la différence des antibiotiques, les bactériophages sont des organismes « vivants ». Certes, on peut contester l'appellation « vivant » concernant ces virus, mais ce ne sont pas de banales molécules inertes. Les bactériophages évoluent, au même titre que les bactéries. Les phages changent avec le temps par des mutations et ils auront toujours la capacité d'infecter les bactéries, même si ces dernières développent de nouvelles résistances.

Donc les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques continuent à être attaquées et tuées par les bactériophages virulents. Il s'agit de processus aussi ancien que la vie sur terre en constante évolution[41] .

Lorsque le génome d'un bactériophage entre dans une cellule bactérienne, il se reproduit et la lyse de la bactérie qui s'ensuit libère des dizaines de nouveaux virions. Cette multiplication virale ne prend qu'un laps de temps très court. Plusieurs bactéries sont lysées en même temps par des phages différents, la quantité de virions libérés simultanément en est donc d'autant plus importante. Cette propagation virale est bien plus productive que la multiplication bactérienne la plus intense et la colonie bactérienne est rapidement dépassée et ravagée par ces attaques[105].

Ce mécanisme, créant en quelque sorte un « effet de masse », n'existe pas du tout en antibiothérapie. Le succès des traitements antibiotiques implique la répétition des administrations, et ce souvent avec de fortes doses, de manière à maintenir une concentration en principe active suffisante pour pallier leur élimination par l'organisme par destruction ou par excrétion [5] . Pour la phagothérapie, une seule administration suffit généralement à endiguer rapidement l'infection [105] , et il n'est pas nécessaire que cette dose soit élevée[106]. En effet, les bactériophages, en se multipliant au niveau de la zone d'infection aux dépens des bactéries infectantes, verront leur élimination largement compensée par cette multiplication

[5]. On peut donc presque parler de « médicament intelligent » qui, grâce à sa forte spécificité d'hôte bactérien, ne cible que l'infection pathologique diagnostiquée et qui continue à se perpétuer seul dans l'organisme jusqu'à ce que cette infection ait été complètement contrôlée [41].

Un argument qui peut peser face aux antibiotiques, est la destruction des biofilms bactériens.

Un biofilm est une communauté de micro-organismes (bactéries, champignons, ...) généralement symbiotiques, ou d'une seule espèce d'un micro-organisme, adhérant à une paroi et protégée du milieu extérieur par la sécrétion d'une matrice polymère (figure18).

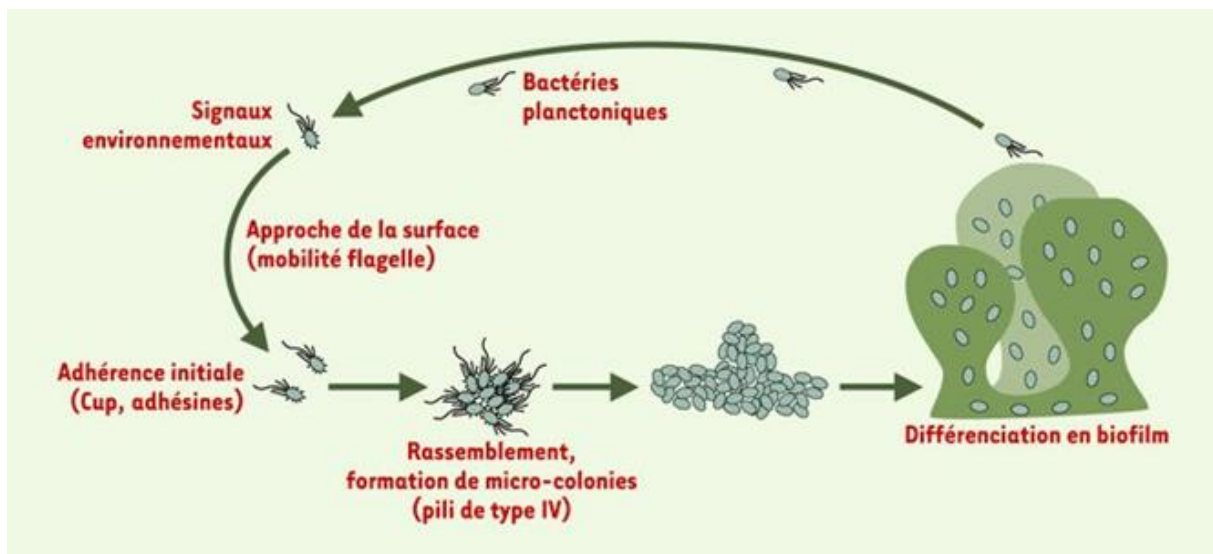


Figure 18 : Cycle de formation du biofilm bactérien chez *P. aeruginosa*[107]

Lors des premières études menées sur l'élimination des bactéries par les antibiotiques, les expériences étaient réalisées *in vitro* sur des bactéries à l'état planctonique, c'est-à-dire juste placées dans une solution ou une boîte de Petri. Dans ces conditions, les bactéries n'avaient ni le temps, ni la capacité de former des biofilms et étaient donc totalement accessibles aux

antibiotiques. Cependant, dans l'organisme, au cours d'une infection bactérienne chronique, les bactéries ont la possibilité de créer un biofilm, lequel les isole de l'attaque des antibiotiques, leur permettant de perdurer ainsi dans l'organisme en formant des micro-colonies demeurant à l'état quiescent [41] .

Depuis la première observation de destruction d'un biofilm par un phage, en 1956 par Adam et Park, quelques études se sont penchées sur le sujet et ont mis en lumière l'existence de mécanismes enzymatiques provenant des phages et entrant en jeu dans cette élimination[41] . Lors d'une étude sur l'activité des phages contre *Escherichia coli*, l'équipe de Stirm a par exemple découvert en 1971 qu'une enzyme de phage, une glycanase, avait la capacité de lyser la capsule mucoïde des biofilms[108]. De même, en 1998, l'équipe de Hugues a remarqué l'existence d'un mécanisme d'accrochage du phage à une molécule située à la surface de la capsule polysaccharidique, dite «récepteur secondaire », permettant la sécrétion d'une dépolymérase et par la suite l'arrimage du phage à une molécule dite « récepteur primaire » à la surface de la paroi bactérienne (figure 19) [109] .

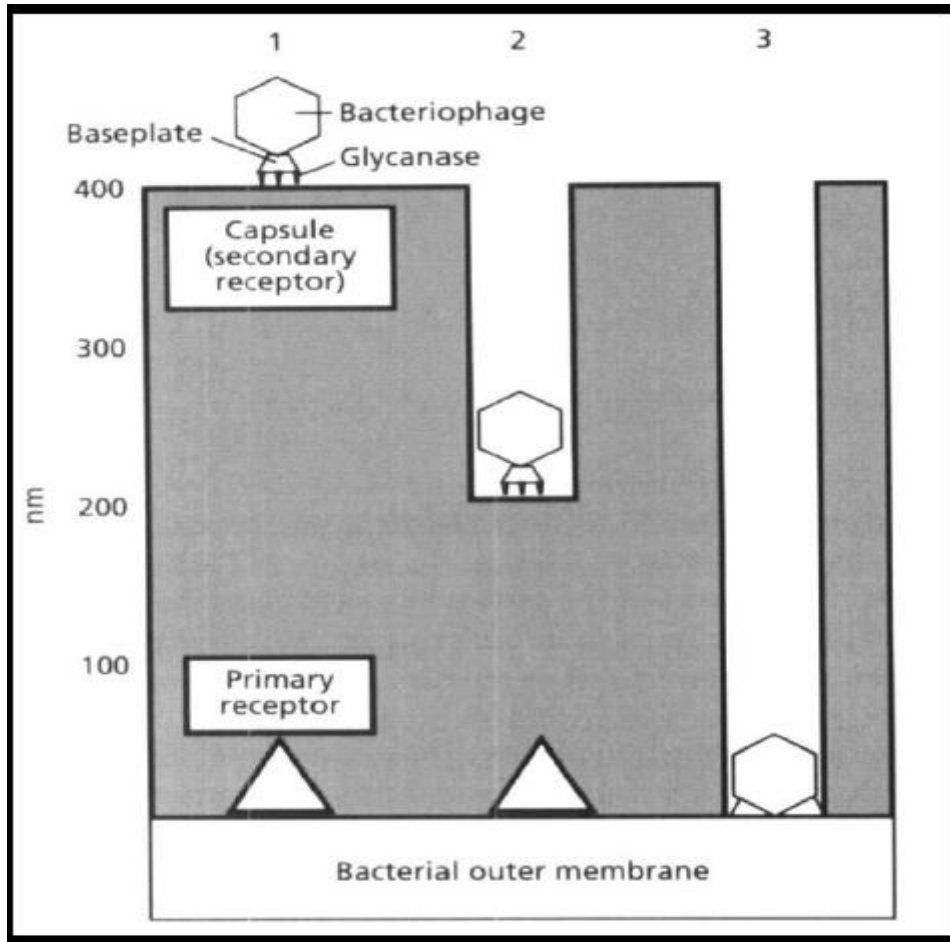


Figure 19 : La dégradation de la capsule polysaccharidique bactérienne par une glycanase véhiculée par un phage

2- Peu d'effets secondaires

Parmi les effets secondaires observés lors d'antibiothérapie, en particulier à large spectre, les plus fréquents sont les troubles digestifs (surtout des diarrhées) et les infections opportunistes secondaires (notamment des mycoses). En effet, ces antibiotiques détruisent les bactéries pathogènes, mais aussi celles de la flore commensale non pathogène, dont par exemple les flores intestinales ou génitales. Cela déstabilise l'équilibre de la flore bactérienne naturelle présent sur ces muqueuses et les autres microorganismes pathogènes peuvent alors prendre le dessus, situation donnant lieu à ces effets indésirables. Ce déséquilibre est appelé « dysbiose », les infections secondaires en résultant sont nommées « super-infections » [43] [41] [105].

Quasiment toutes les études réalisées sur les bactériophages rapportent l'absence d'effets secondaires [110]. Des essais cliniques rigoureux menés récemment chez l'homme selon les critères réglementaires actuellement en vigueur, montrent l'absence d'effets secondaires [111].

Les quelques effets secondaires rapportés dans la bibliographie apparaissent bénins, rares et transitoires, sinon facilement réversibles. Il s'agit principalement d'atteintes gastro-intestinales, de douleurs hépatiques, de fièvre ou de maux de tête, et l'intensité en est relativement légère [35][43]. Des symptômes gastro-intestinaux ou allergiques seraient rapportés chez moins de 0,5 % des patients traités [35]. Ces désagréments pourraient être engendrés soit par la suspension de phages en elle-même, soit par la réaction associée à son emploi, c'est-à-dire la lyse bactérienne, soit tout simplement par la maladie elle-même.

Comme nous l'avons vu précédemment, les bactériophages sont très spécifiques de leur bactérie hôte. Grâce à l'étroitesse de leur spectre d'action, même leur utilisation en cocktail ne présente pas un aussi large spectre que celui des antibiotiques [3]. En ciblant une bactérie pathogène précise, l'utilisation thérapeutique des bactériophages préserve donc la flore bénéfique à l'organisme au lieu de la détruire comme le font les antibactériens notamment à large spectre. Leur usage épargne donc en règle générale aux patients les effets secondaires des traitements à base d'antibiotiques cités précédemment [43].

3-Autres bénéfiques thérapeutiques

-Pas de multiplication phagique en l'absence de bactéries cibles :

Pour se multiplier, les bactériophages ont besoin d'une cellule bactérienne et sont incapables d'utiliser une cellule eucaryote à cette fin. Sans leur bactérie hôte, les phages n'entrent pas en activité et sont éliminés. Mettre en place une phagothérapie sur une erreur de diagnostic (pas d'infection bactérienne ou infection bactérienne due à une autre bactérie pathogène que la bactérie ciblée par cette phagothérapie) n'aura donc aucune conséquence sur l'innocuité, si ce n'est son inefficacité [41] [112] .

-Pas de sélection de résistances :

Lorsqu'une infection est combattue par antibiothérapie, celle-ci exerce une pression de sélection élevée, c'est-à-dire que les bactéries présentant une mutation leur permettant d'y survivre ne vont pas être affectées par ces antibiotiques, se reproduire et transmettre les gènes de résistance à leur descendance (transfert vertical) ou à d'autres bactéries sans lien de parenté (transfert horizontal), constituant une nouvelle population majoritairement résistante à cette antibiothérapie. Il s'agit tout simplement d'une inflexion involontaire et accélérée de l'évolution par sélection des individus résistants. Plus les antibiotiques sont employés, plus le nombre de bactéries résistantes à leurs effets s'accroît (figure 20).

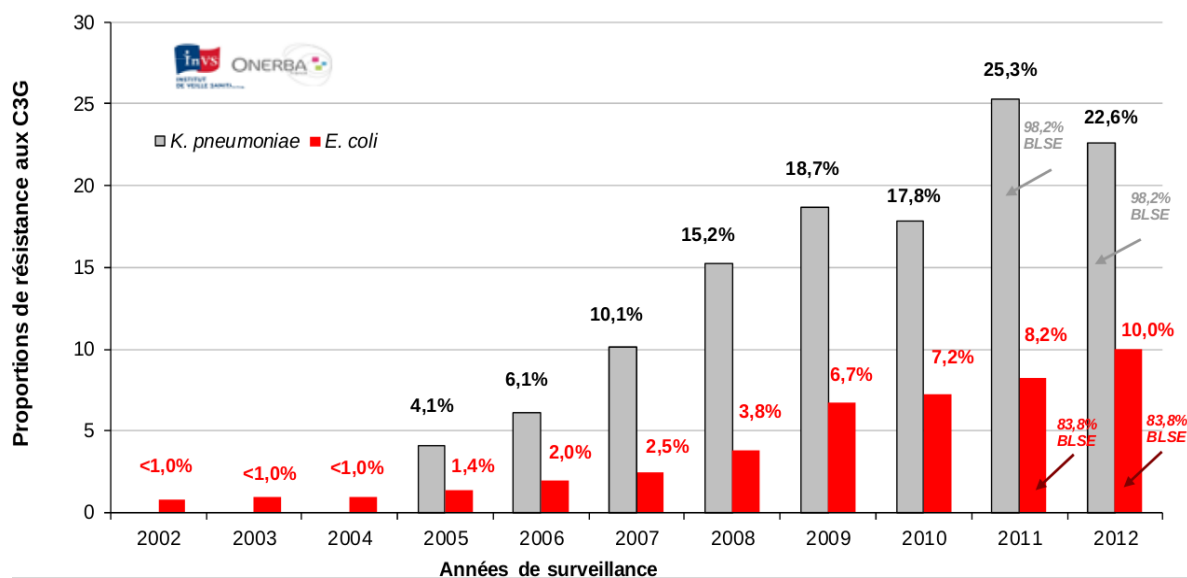


Figure 20 : Résistance aux Céphalosporines de 3ème génération chez *Klebsiella Pneumoniae* et *Escherichia coli* dans les infections invasives, France, 2002 – 2012, Données EARS-Net France (Onerba – InVS)

Nous avons vu précédemment que les bactériophages employés en phagothérapie ne provoquaient pas de dysbiose. En outre, ces phages ne sélectionnent pas de résistances aux antibiotiques ; il n’y a donc pas d’augmentation de l’antibiorésistance ni parmi les bactéries pathogènes ciblées, ni au sein des flores naturelles, ni dans celles de l’environnement. Cette thérapeutique permet donc d’éviter que des bactéries non commensales pathogènes ne deviennent encore plus résistantes et également d’éviter que des bactéries commensales de l’organisme et résistantes aux antibiotiques ne se développent de façon anormale et ne deviennent alors pathogènes [43].

	PHAGOTHÉRAPIE	ANTIBIOTHÉRAPIE
Mode d'action et Pharmacologie	<p>Les phages se multiplient au foyer infectieux, disparaissent avec les bactéries. Une dose unique est théoriquement suffisante.</p> <p>Le cycle de reproduction est variable selon le phage, la pharmacocinétique est mal connue = applications limitées aux foyers accessibles localisés (plaies)</p>	<p>Les antibiotiques (ATB) sont métabolisés in vivo et ont une diffusion variable selon les tissus.</p> <p>La pharmacocinétique est bien connue pour les ATB = les modes d'administration (dose, rythme, durée) sont précisés.</p>
Spécificité	<p>Un phage ne s'attaque qu'à l'espèce bactérienne pathogène ciblée = respect des flores commensales.</p>	<p>Un antibiotique à large spectre est actif sur plusieurs espèces bactériennes = non-respect des flores commensales (diarrhée, mycoses)</p>
Effets secondaires	<p>Rares effets secondaires (fièvre, céphalée) si la suspension de phages est purifiée .</p>	<p>Nombreux effets secondaires (digestifs, allergiques, neurologiques, rénaux, cardiaques, tendineux, ...)</p>
Impact environnemental	<p>1- Peu de risque si les phages sont naturels</p> <p>2- Risque avec les phages modifiés génétiquement</p>	<p>Risque d'autant plus important que le spectre des ATB est large et leur emploi massif (utilisation dans l'élevage)</p>
Limites	<p>1- La bactérie pathogène doit être isolée</p> <p>2- Absence de centre spécialisé</p>	<p>1- Les contrindications connues (toxicité)</p> <p>2- Les résistances (R) aux ATB</p>
Résistance	<p>1- La R bactérienne aux phages peut apparaître en cours de traitement = utiliser plusieurs phages (« cocktail »)</p> <p>2- Les phages restent actifs sur les bactéries R aux ATB et ne les sélectionnent pas</p>	<p>1- Les R des bactéries aux ATB sont en augmentation pour toutes les espèces et pour toutes les classes d'ATB partout dans le monde</p> <p>2- Les R sont souvent multiples</p>

Production et coût	1- Les phages naturels sont peu coûteux et rapidement utilisables = intérêt pour les pays à faibles ressources 2- Avec des phages génétiquement modifiés = coût important, brevet possible, délai, disponibilités ?	1. La mise sur le marché d'un nouvel ATB est très longue et très coûteuse = coût excessif pour les pays en voie de développement 2. Désintérêt actuel de l'industrie pharmaceutique
Efficacité	1- L'efficacité est prouvée dans de nombreuses études exples animales 2- Les études exples humaines récentes rigoureuses rares sont limitées aux phases I/II	1- L'efficacité est reconnue si les indications sont bien posées 2- Echecs ilabactérie est méconnue et/ou R 3- Les études exples rigoureuses sont nombreuses avec AMM
Indications	Les indications sont mal définies et il n'existe aucune standardisation pour l'utilisation thérapeutique des phages	La prescription des ATB est standardisée, les normes et indications bien établies (référentiels)
Réglementation	Les phages en tant que biomédicaments sont absents des textes de la Santé Publique (France et UE)	Les règlements sont bien adaptés à toutes les étapes de la fabrication comme à l'utilisation des ATB

Tableau 6 : Avantages et inconvénients comparés de la phagothérapie et de l'antibiothérapie

4 -Accessibilité

Présents partout dans l'environnement, et relativement faciles à isoler, les bactériophages apparaissent comme faciles d'accès. On peut aisément en trouver dans les eaux usées ou dans les autres zones contenant des déchets et riches en bactéries.

Il suffit de peu d'infrastructures pour réaliser des préparations thérapeutiques à base de phages. De plus, la composition des préparations s'avère relativement maniable, permettant

d'incorporer différentes espèces de phages sans répercussion sur leurs capacités thérapeutiques, de manière à élargir leur champ d'action. Il est même possible d'y ajouter d'autres substances, telles que des antibiotiques [112] .

III-Faiblesses

1-Tous les phages ne sont pas aptes à être utilisés en phagothérapie

De manière à correctement réaliser une phagothérapie, il est nécessaire de n'utiliser qu'un bactériophage lytique et non un bactériophage tempéré car en plus d'être inefficace il peut être à l'origine de transfert de gènes pathogènes vers les bactéries. Cependant, grâce à la biologie moléculaire et au séquençage du génome viral, on peut rapidement éliminer les phages contenant des séquences génomiques potentiellement dangereuses (gènes de toxines, gènes de virulence, gène de résistance aux antibiotiques, etc.).

Ce phénomène médié par le phage est appelée soit « transduction », lorsque le phage n'est qu'un véhicule de gènes bactériens, soit « conversion lysogénique » lorsque la présence du génome du phage dans celui de la bactérie (c'est-à-dire l'existence d'un prophage) est nécessaire pour que ses nouveaux caractères s'expriment. Les gènes ainsi nouvellement obtenus peuvent être des gènes de virulence ou de résistance et peuvent alors augmenter la pathogénicité de la bactérie [3][113][114][115] .

Seuls les phages lytiques sont donc aptes à réaliser une phagothérapie efficace et sans conséquences néfastes. L'idéal est d'employer des phages [41][112][116] :

- strictement lytiques (caractéristique confirmée par un séquençage complet du matériel génétique du phage) et, au mieux, exempt de gènes de toxines.
- capables d'accéder facilement au lieu d'infection, donc de montrer une bonne aptitude à diffuser dans l'organisme.
- exprimant une forte virulence vis-à-vis des bactéries cibles.

- capables d'éviter l'inhibition par le système immunitaire.
- stables dans les conditions et les températures de stockage.

2-Phago-résistances

2.1 Mécanismes mis en jeu

2.1.1 Inhibition de l'adsorption phagique

Une première solution pour devenir résistant à une attaque virale consiste tout simplement à empêcher son adsorption en supprimant, modifiant ou masquant le récepteur viral. On peut citer les exemples suivants :

- La protéine OmpA est la cible d'attache de nombreux phages d'*E. coli*. Lorsque les souches possèdent le plasmide F, la lipoprotéine TraT (codée par ce plasmide) interagit avec OmpA et inhibe l'adsorption virale[117].
- Des mutations ponctuelles peuvent plus simplement aboutir à une modification de la cible : elle n'est alors plus reconnaissable par le virus[118].
- La bactérie peut produire des polymères extracellulaires qui vont agir comme un bouclier et masquer la cible. Si cette capacité est portée par un plasmide, ce phénotype de résistance est héritable et transférable[119].

Les bactériophages contrecarrent assez facilement ces mécanismes : ils sont également capables de modifier leurs protéines de fibres pour qu'elles interagissent avec des ligands bactériens modifiés ou nouveaux. Par exemple, lorsque l'expression du récepteur LamB est diminuée chez *E. coli* pour limiter l'adsorption du phage λ , apparaît alors dans la population virale des bactériophages capables d'infecter la bactérie en utilisant un nouveau récepteur (OmpF) suite à la mutation de seulement 4 nucléotides dans le gène codant pour la fibre de queue[120]. On peut citer également l'exemple du bactériophage T7, utilisant le LPS d'*E. coli* pour son adsorption : lorsque celui-ci est modifié par différentes mutations, l'adsorption est diminuée ou supprimée. Après plusieurs cycles d'amplification, un variant est capable

d'apparaître : son adsorption s'est révélée indépendante du LPS [121] . Enfin, pour contrer les boucliers exo-polysaccharidiques, de nombreux phages possèdent au niveau de leur fibre de queue un équipement enzymatique capable de dépolymériser ces sucres : le bactériophage K1F possède par exemple une endosialidase capable d'hydrolyser la capsule des souches d'*E. coli* K1 [122] .

2.1.2 Facteurs intracellulaires et infections abortives

Certains facteurs cytosoliques sont indispensables à l'infection phagique (réplication, assemblage ou libération). Des mutations modifiant ces facteurs peuvent conduire à une résistance bactérienne. Par exemple, le phage ϕ 2954 dirigé contre *Pseudomonas syringae* nécessite la glutarédoxine-3 de la bactérie hôte pour transcrire un segment de son ARN. Une délétion au niveau du gène codant pour la glutarédoxine-3 entraîne la résistance de la bactérie mutante. Les bactéries sont capables d'échapper à une infection par les bactériophages par un autre mécanisme nommé « système d'avortement de l'infection » (ou Abi, abortive infection system). Ce système provoque l'autodestruction (« suicide ») de la bactérie infectée avant que la synthèse de nouveaux virions ne soit réalisée. Ce système met en jeu une toxine protéique et un brin d'ARN antitoxine spécifique. Cet élément est appelé ToxIN et correspond à un système toxine-antitoxine (TA) [123] . Lors de l'infection d'une bactérie par un phage, la composante antitoxine peut être dégradée, ce qui permet à la toxine protéique de détruire la membrane bactérienne. Les systèmes toxine-antitoxine sont retrouvés dans la plupart des génomes bactériens. Ils peuvent être localisés au niveau du chromosome ou au niveau de plasmides. La dissémination par transfert horizontal est donc possible. Si les systèmes TA peuvent permettre la résistance bactérienne contre les phages, leur impact réel sur la phagothérapie n'est pas bien connu. Il paraît toutefois indispensable de les prendre en considération. Il faut également noter que des bactériophages mutants, permettant d'éviter les systèmes TA, ont pu être isolés. Ceci démontre que les résistances bactériennes peuvent être surmontées par des bactériophages.

2.1.3 Déstabilisation du génome phagique

L'acronyme CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) désigne une série de courtes séquences génétiques répétées sur le génome des bactéries, régulièrement entrecoupée par des séquences variables appelées « spacers ». Les loci de ces séquences sont généralement situés à proximité de gènes Cas (CRISPR-associated). Le système CRISPR/Cas a un mode d'action qui n'est pas encore parfaitement élucidé, mais il est supposé fonctionner ainsi. Les gènes Cas codent pour des protéines Cas. Les séquences CRISPR sont transcrites en ARN, qui sont découpés par les protéines Cas au niveau des séquences palindromiques en segment d'ARN de plus petites tailles. Chaque segment d'ARN comporte alors un spacer. Lorsqu'un phage infecte la bactérie et que son génome comporte une séquence (appelée proto-spacer) parfaitement identique à un spacer, il y a hybridation entre le spacer d'un fragment d'ARN CRISPR et le proto-spacer du génome phagique. La conséquence de cette hybridation est l'arrêt de la traduction des ARNm viraux : l'infection phagique est alors bloquée. Récemment, près de 40% des bactéries séquencées présentent le système de résistance CRISPR/Cas. De plus, il a été démontré que la mise en contact de bactéries avec des bactériophages (qui n'avaient pas préalablement infecté les bactéries) entraîne l'apparition de nouveaux spacers dans les loci des CRISPR des bactéries qui n'ont pas été lysées par des phages. Les spacers correspondraient, à la base, à un ADN extrachromosomique qui dériverait du génome de phages rencontrés précédemment par la bactérie. L'apparition de spacers est donc un mécanisme adaptatif d'immunisation (une acquisition de résistance) des bactéries vis-à-vis d'une infection par des phages. Le mécanisme d'acquisition de nouveaux spacers demeure hypothétique [124]. Lors d'une infection phagique, les bactéries phago-résistantes (par un autre mécanisme que celui des CRISPR) ne sont pas éliminées. Ces bactéries présentant des CRISPR pourraient acquérir, à partir du génome du phage, un nouveau spacer correspondant au proto-spacer phagique et espacé par une nouvelle séquence palindromique. Les bactéries deviennent alors résistantes aux phages présentant ce proto-spacer (figure 21). Les CRISPR peuvent donc être considérés comme un historique des infections phagiques rencontrées par la bactérie.

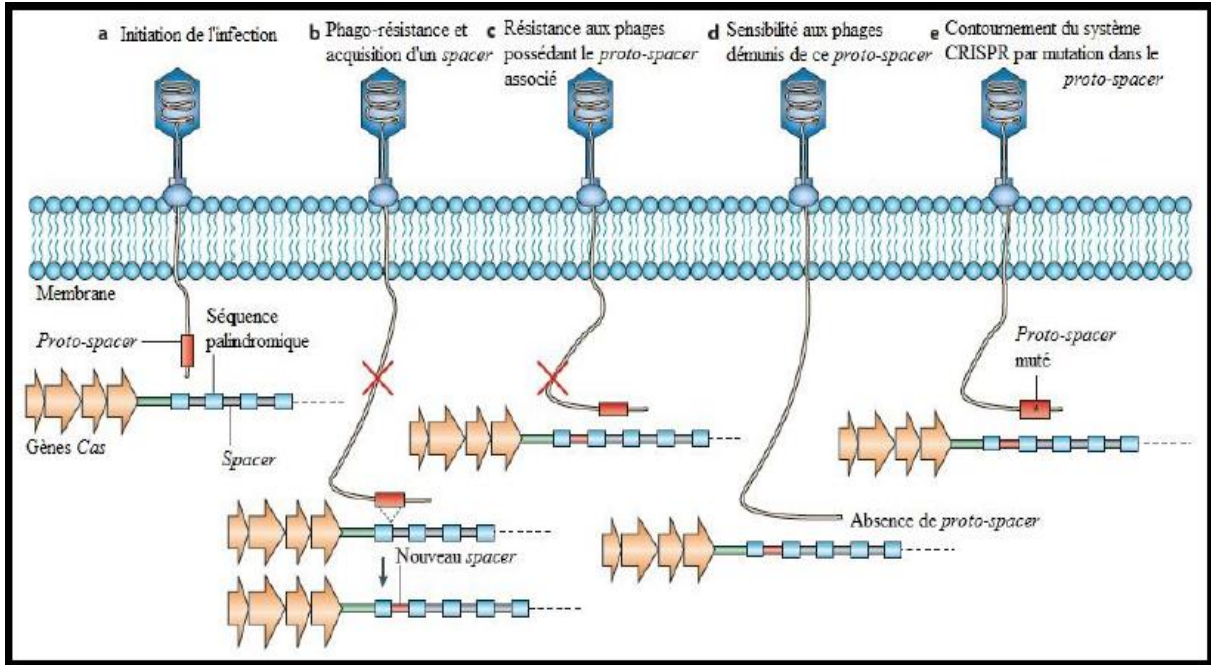


Figure 21 : Schéma représentant le système CRISPR/Cas

2.1.4 Intégration d'un phage tempéré

Une bactérie attaquée par un phage tempéré acquiert le génome viral. Au lieu de la détruire, le génome du phage devient un composant à part entière de la cellule bactérienne. L'infection n'est pas combattue puisque les bactéries ne sont pas détruites. Pire, les bactéries infectées deviennent résistantes à ce phage intégré ainsi qu'aux phages proches génétiquement.[3][43]

2.2 Conséquences

L'existence et l'évolution continue des résistances bactériennes aux phages suscitent des interrogations et sont autant de problèmes à anticiper. Un certain nombre d'arguments permettent toutefois de nuancer l'impact futur de ces résistances. Tout d'abord, les bactériophages ont un spectre d'action étroit. La résistance d'une bactérie (ou d'une souche

bactérienne) est donc nécessairement limitée, puisque seules les bactéries cibles peuvent devenir résistantes au phage en question. L'administration de cocktails phagiques ciblant des récepteurs bactériens différents et continuellement mis à jour en fonction de l'évolution des bactéries cibles réduit considérablement l'impact que pourraient avoir les résistances bactériennes [26]. La coévolution permanente du couple phage/bactérie permet la sélection de virus qui échappent aux mécanismes de résistance acquis par la bactérie. Cette coévolution permet donc de relativiser le risque de résistances aux phages des bactéries. En ce qui concerne le système CRISPR/Cas, l'action est, d'une part, limitée aux phages que la bactérie a déjà rencontrés auparavant, c'est à dire au cours d'une infection pour laquelle elle s'était déjà avérée résistante. Cela limite la probabilité de survenue de ce mécanisme [125]. D'autre part, les bactériophages peuvent échapper à la phago-résistance bactérienne due à la présence de spacers correspondant aux proto-spacers phagiques, par un réarrangement dans leurs proto-spacers [124]. Ce mécanisme peut consister en une recombinaison homologue, une mutation ponctuelle ou une courte délétion. Enfin, les phago-résistances se mettraient en place relativement lentement, environ dix fois plus lentement que celles mises en place contre les antibiotiques : toutes les 106 divisions bactériennes pour les antibiotiques, contre 107 pour les bactériophages [37]. Or, les bactériophages ont une croissance exponentielle et mutent au même rythme que leurs cellules hôtes. Le différentiel temporel entre la croissance des populations bactériennes et phagiques et les évolutions respectives au cours du développement permettraient aux phages de ne jamais être complètement « dépassés » par les phago-résistances bactériennes [58].

3- Handicap pharmacologique

3.1 Nécessité de cibler le traitement

Les bactériophages ont la propriété d'être spécifiques d'une espèce de bactérie, et parfois de seulement quelques représentants de cette espèce [43]. Le niveau de spécificité varie d'une espèce de phage à l'autre. Cependant il existe souvent plusieurs phages spécifiques de la même bactérie, au minimum une dizaine de bactériophages spécifiques d'une bactérie donnée

[72]. Cette spécificité provient de la reconnaissance par les phages de récepteurs particuliers localisés à la surface des bactéries.

Une phagothérapie correcte nécessite de connaître la bactérie à combattre, et cela peut être contraignant pour l'utilisation en routine [74]. Il y a plusieurs obstacles à cela [43]:

- il est nécessaire d'isoler et d'étudier la bactérie responsable de la maladie, ce qui implique de réaliser un prélèvement correct et d'avoir un laboratoire performant. Cela demande de la maîtrise, du temps et des frais.

- la zone d'infection est parfois difficile à atteindre, ce qui complique encore la manœuvre de prélèvement (et de traitement qui s'en-suit).

- certaines infections sont à germes multiples.

- enfin, il est important d'isoler et de bien déterminer l'agent pathogène effectif et non pas un contaminant (contamination extérieure ou flore commensale), sous peine d'échec thérapeutique.

Cependant, les antibiotiques à spectre étroit connaissent le même problème, dans une moindre mesure. Cela explique le succès des antibiotiques à large spectre en première intention, et par conséquent l'augmentation actuelle des résistances aux antibiotiques. Lors d'antibiothérapie il arrive souvent qu'un antibiotique à large spectre soit mis en place, le temps d'identifier la bactérie et l'antibiotique le plus adapté contre elles, pour ensuite, si nécessaire, réadapter le traitement avec ce dernier [43].

De la même manière, il est possible d'employer un cocktail, permettant ainsi d'élargir le spectre d'action du traitement, et s'assurer par exemple que tous les germes incriminables soient bien éliminés.

L'isolement de la bactérie pathogène d'une maladie est important à réaliser, cependant, lors d'infection grave à évolution rapide, l'emploi d'un cocktail est fortement recommandé, pour le traitement d'attaque le temps de trouver le bactériophage spécifiquement dirigé contre cette bactérie.

3.2 Un seuil bactérien nécessaire à atteindre

Lorsque l'infection bactérienne est débutante, la population bactérienne est relativement faible. Les probabilités de rencontres aléatoires entre les bactéries et les bactériophages sont donc moindres et le seuil de densité bactérienne nécessaire à l'infection phagique peut ne pas être atteint. Les bactériophages risquent de ne pas être efficaces contre cette infection, puisqu'ils seront éliminés avant d'avoir atteint leur cible.

De même, si l'infection à traiter est due à des bactéries à multiplication lente, le seuil de population bactérienne nécessaire à atteindre est obtenu plus tardivement que lors d'infections provoquées par des bactéries à multiplication rapide. Il y a alors également un risque d'inefficacité thérapeutique des phages.

Cet aspect de la thérapie phagique est important à considérer lors de la mise en place du protocole thérapeutique. Pour éviter un échec thérapeutique, il est préférable de ne pas mettre en place la thérapie phagique au tout début d'une infection et de privilégier des administrations répétées lors d'infections à croissance lente. Au contraire, dans le cas d'infections causées par des bactéries à multiplication rapide, un faible nombre d'administrations, voire une administration unique, peuvent suffire [126].

De plus, certaines études tendent à montrer une efficacité moindre des bactériophages sur les bactéries quiescentes. La stratégie consistant à associer la thérapie phagique et l'antibiothérapie peut se révéler particulièrement intéressante, puisque les antibiotiques permettraient alors d'agir sur les bactéries relictuelles et éventuellement quiescentes. [43]

3.3 Problème de translocation

L'infection d'une bactérie par un phage se réalise à la faveur d'une rencontre aléatoire entre la bactérie et le phage. Pour traiter une infection bactérienne, il paraît, en théorie, préférable de favoriser cette rencontre par un traitement local.

Les administrations par voie orale permettent aux phages d'atteindre la circulation sanguine par le phénomène de translocation. Les phages vont alors circuler aléatoirement dans l'organisme. Seule une petite partie des phages administrés vont atteindre le site infectieux.

Cela engendre donc une perte quantitative de phages potentiellement efficaces contre la bactérie pathogène. De plus, la quantité de phages au niveau du site infectieux pourrait être insuffisante par rapport au seuil de phages nécessaires à une infection virale efficace : il y a donc un risque d'échec thérapeutique. Pour éviter cet échec, les préparations phagiques, dans leur ensemble, doivent avoir un titre suffisant. Le minimum requis est de 10^5 PFU/mL. Enfin, par un raisonnement similaire, les infections des organes internes seraient plus difficiles à traiter que les infections superficielles ou locales.

3.4 Inefficacité face aux bactéries intracellulaires

Les bactériophages ne pénètrent pas dans les cellules eucaryotes. Il serait donc a priori impossible de traiter par thérapie phagique des infections bactériennes causées par des germes

intracellulaires, puisque les phages ne peuvent pas atteindre et s'attacher aux bactéries cibles.

Cependant, certaines études et observations menées sur des germes intracellulaires laissent à penser le contraire.

En 1940, le traitement par phages de fièvre typhoïde due à *Salmonella typhi* a donné des résultats thérapeutiques satisfaisants. Toutefois, les salmonelles ne sont que des bactéries intracellulaires facultatives. L'interprétation des résultats reste donc difficile.

L'étude du génome de *Legionella pneumophila*, germe intracellulaire strict, a montré la présence de séquences génomiques comportant de fortes analogies avec celles des phages.

Ceci pourrait être une preuve indirecte de l'existence de bactériophages dirigés contre cette bactérie. De plus, le Centre National de Référence des légionnelles (Institut de Veille Sanitaire) a cherché des preuves directes de cette existence. La conclusion de leurs travaux est qu'il existe des bactériophages dirigés contre ces germes intracellulaires stricts [127].

Enfin, les espèces bactériennes appartenant au genre *Mycobacterium* ont une multiplication intracellulaire. Il a été mis en évidence des phages dirigés contre ces bactéries, ils sont appelées mycobactériophages. Certaines espèces de mycobactéries ne sont pas ou peu pathogènes pour l'homme (*Mycobacterium smegmatis* ou *Mycobacterium kansasii*). Une étude a permis de mettre en évidence des phages non lytiques contre ces deux espèces

bactériennes (infection chronique permettant la production de phages qui sont excrétés sans lyse de la bactérie), mais lytiques contre *Mycobacterium tuberculosis*. *In vitro*, une souche de *Mycobacterium smegmatis* lysogénisée par le phage a été inoculée à une culture cellulaire contaminée par le bacille de la tuberculose. Après avoir été phagocytée, *Mycobacterium smegmatis* libère des phages capables de lyser *Mycobacterium tuberculosis*. Cette méthode a permis l'élimination de toutes les souches de mycobactéries pathogènes *in vitro* [128].

La question d'une efficacité potentielle de la phagothérapie sur les bactéries intracellulaires demeure incertaine et nécessite donc des études supplémentaires, puisque les études citées précédemment semblent infirmer les prévisions théoriques.

3.5 Problème d'inactivation par le système immunitaire

Il existe un risque d'inhibition des bactériophages par le système immunitaire au sein de l'organisme. En effet, les phages peuvent interagir avec différentes cellules de l'immunité. Les anticorps anti-phage semblent les plus à même de réaliser cette inhibition.

Cependant, cette interaction ne semble pas avoir un grand impact sur le traitement par phagothérapie [112]. Tout d'abord, plusieurs expérimentations de phagothérapie n'ont pas conduit à la production d'anticorps anti-phage, en particulier lors d'administration orale. De plus, avec ou sans anticorps il semble que l'interaction avec le système immunitaire n'influence que très peu l'issue du traitement [75][126]. La question de l'interaction au long terme, par exemple lors de traitement d'une récurrence, demeure cependant encore difficile à élucider et nécessite plus de recherche.

Néanmoins, il est possible de limiter ces problèmes d'inactivation en employant une méthode de sélection décrite par l'équipe de Merrill et nommée « passage en série ». En effet, par cette méthode développée plus loin, il est possible de sélectionner des phages capables d'éviter d'être piégés par les cellules immunitaires [76].

Caractéristiques	Avantages	Inconvénients
Spectre d'hôte Étroit	<ul style="list-style-type: none"> - Impact nul sur les bactéries non ciblées (microbiote intestinal) - Limitation du nombre de souches susceptibles de développer une résistance à un bactériophage donné 	<ul style="list-style-type: none"> - Pour les approches probabilistes : impose l'utilisation de cocktails de bactériophages pour augmenter la couverture antibactérienne
Grande Diversité	<ul style="list-style-type: none"> - Probabilité d'isoler un bactériophage actif contre n'importe quelle souche pathogène très élevée 	-
Mécanisme d'action	<ul style="list-style-type: none"> - Activité bactéricide rapide <ul style="list-style-type: none"> - Activité lytique indépendante de la résistance aux antibiotiques - Activité anti-biofilm de certains bactériophages 	<ul style="list-style-type: none"> - Comme les ATB , relargage d'endotoxines lors de la lyse
Nature virale (Virus de bactéries)	<ul style="list-style-type: none"> - Excellente diffusion du fait de la faible taille de la particule virale - Incapacité à infecter les cellules eucaryotes - Réplicatif : augmentation de la concentration sur le lieu d'infection - Présents naturellement dans l'environnement, il n'est pas nécessaire de les fabriquer - Isolement rapide de nouveaux bactériophages possible (en quelques heures ou jours) 	<ul style="list-style-type: none"> - Mise en jeu possible d'une immunité humorale avec production d'anticorps neutralisants - Stabilité variable dans le temps, influencée par les conditions de stockage (ph, température...) - Capacité potentielle à induire du transfert génique par transduction généralisée (facteur de virulence , résistance aux antibiotiques)

Tableau 7 : Synthèse des avantages et inconvénients de l'utilisation thérapeutique des bactériophages

IV- Indications

1- Passé, présent et avenir

1.1 Un recul historique important

L'idée d'utiliser les bactériophages comme agents antibactériens n'est pas nouvelle. La première utilisation thérapeutique chez l'Homme, dans les suites de leur découverte, remonte à 1919 à l'Institut Pasteur et à l'hôpital Necker par Félix d'Hérelle avec la prise en charge de cas de dysenterie à *Shigella*. Un essor important va dès lors s'emparer de la phagothérapie amenant à son développement en Europe, en Russie et aux États-Unis. Puis, l'arrivée du miracle pénicilline après-guerre signera l'abandon progressif de cet outil thérapeutique en Occident, alors même qu'il continuera à être développé par les pays du bloc de l'Est.[3]

En France, dans les années 80, les guérisons par phagothérapie ont aussi largement été rapportées dans le domaine des infections locales en échec thérapeutique (otites externes, cicatrices, ...) et en particulier pour des cas d'infections ostéo-articulaires pour lesquelles soit le seul traitement proposé était l'amputation, soit aucun traitement n'était envisageable (cas d'infection des os du bassin, cas de personnes âgées atteintes d'infection sur prothèse ostéo-articulaire de la hanche et du genou). Ces traitements proposés notamment par les équipes médicales menées par Alain Dublanche, s'ancrent dans une tradition de traitement par les bactériophages et aucune publication n'en a été réalisée [41] .

1.2 Une actualité riche

1.2.1 Une communauté active

La promotion de la phagothérapie par L'institut Eliava de Tbilissi est restée pendant longtemps insuffisante. La place réservée aux phages dans la thérapie a marginalisé pendant près de 60 ans ses partisans. Actuellement une communauté soudée et active essaie de *promouvoir* et de faire connaître auprès d'un large public le potentiel et les possibilités offerts par la phagothérapie.

1.2.1.1 Des communautés de scientifiques actives

Grace à internet et aux nouveaux moyens de communication, une communauté de scientifiques et de chercheurs actifs a pu se mettre en place. Au-delà du partage des travaux de recherche sur les phages sur des réseaux scientifiques, une véritable « chaîne » de promotion des phages existe au travers le monde.

On peut citer comme exemple le « Bacteriophage Ecology Group » (<http://www.phage.org>) qui compte plusieurs membres provenant du monde entier. Ce groupe partage des recherches, listes de publications et descriptions des phages.

L'association GEEPhage (2010) (<http://www.geephage.org/joomla/>) est également une communauté scientifique., elle rassemble des spécialistes de la phagothérapie qui tentent de faire connaître et comprendre la phagothérapie.

1.2.1.2 Des associations partout dans le monde

Chez des associations, la mobilisation est également très forte. Pour eux, la phagothérapie est synonyme d'espoir. Des associations ont vu le jour pour promouvoir la réévaluation de la phagothérapie par les gouvernements et par les laboratoires :

- PhagEspoir (<http://phagespoirs.unblog.fr>).

- Phages for Human Application Group Europe (P.H.A.G.E.) (<http://www.p-h-a-g-e.org/>).

Parmi les associations qui se sont mobilisées pour défendre et promouvoir la phagothérapie on trouve les associations de lutte contre les infections multirésistantes et contre les maladies nosocomiales :

- Alliance contre le développement des bactéries multirésistantes (ACdeBMR) (<http://www.waaar.org>).
- Association des Victimes d'Infections Nosocomiales (ADVIN) (<http://www.advin.org>).
- Le Lien (<http://lelien-association.fr/site/tiki-index.php>).

1.2.2 Thérapie par les phages

1.2.2.1 Anciennes applications

Autrefois, de nombreuses applications médicales furent étudiées dans le monde entier et la phagothérapie connue un grand succès. De grandes firmes pharmaceutiques commercialisèrent des préparations pour différentes indications dont le laboratoire du bactériophage (**Robert et Carrière**), en France.

Durant plusieurs décennies, des millions de malades ont été soignés avec ce principe pour de nombreuses infections, depuis les plus bénignes (plaies infectées, otites, gastro-entérites) jusqu'aux plus graves (ostéites, septicémies et même méningites). Toutes les voies d'introduction (orale, locale, injections intramusculaires, péritonéale et même intraveineuse) ont été utilisées selon les circonstances et les besoins.

Par le passé, les très nombreuses expérimentations animales comme l'administration thérapeutique ont montré l'innocuité de la phagothérapie.

Dans les années 1980, il a été rapporté une série de traitements d'infections ostéo-articulaires en échec thérapeutique [129]. Toujours en coopération multidisciplinaire (chirurgien, infectiologue et microbiologiste), les suspensions de bactériophages adaptés, préparées à l'Institut Pasteur, ont été appliquées localement pendant une huitaine de jours, d'abord directement sur le foyer infecté, puis par les drains laissés en place. Les résultats ont apporté très souvent et rapidement une guérison définitive de l'infection, suivie d'une consolidation osseuse. Il n'a pas été jugé nécessaire de communiquer les résultats dans la mesure où ces traitements étaient réalisés dans la lignée d'une tradition française de la phagothérapie [130].

S'il a été établi que les phages diffusent dans un organisme, ils sont éventuellement reconnus comme des intrus par les mécanismes de défenses du receveur. Il s'agit d'une reconnaissance

dont les inconvénients (apparition d'anticorps neutralisants et même de sensibilisation) sont faibles, plus théoriques que réels.

Dans les applications locales, généralement utilisées, le contact avec la bactérie pathogène est immédiat et massif et la guérison rapidement obtenue (Figure22). Dans de telles conditions, il est rarement observé des réactions indésirables transitoires et bénignes, plus en rapport avec les impuretés des préparations qu'avec le bactériophage lui-même : fièvre, douleurs hépatiques.

Le spectre d'hôtes des bactériophages est étroit et le principal impératif de la phagothérapie impose un diagnostic bactériologique préalable soigneux avant tout traitement pour s'assurer par un test in vitro que le ou les phages sélectionnés sont actifs.

En outre, les utilisateurs aguerris recommandaient d'exalter la virulence de ces phages par des passages successifs sur la (ou les) souche(s) bactérienne(s) ciblée(s) [131][132] .

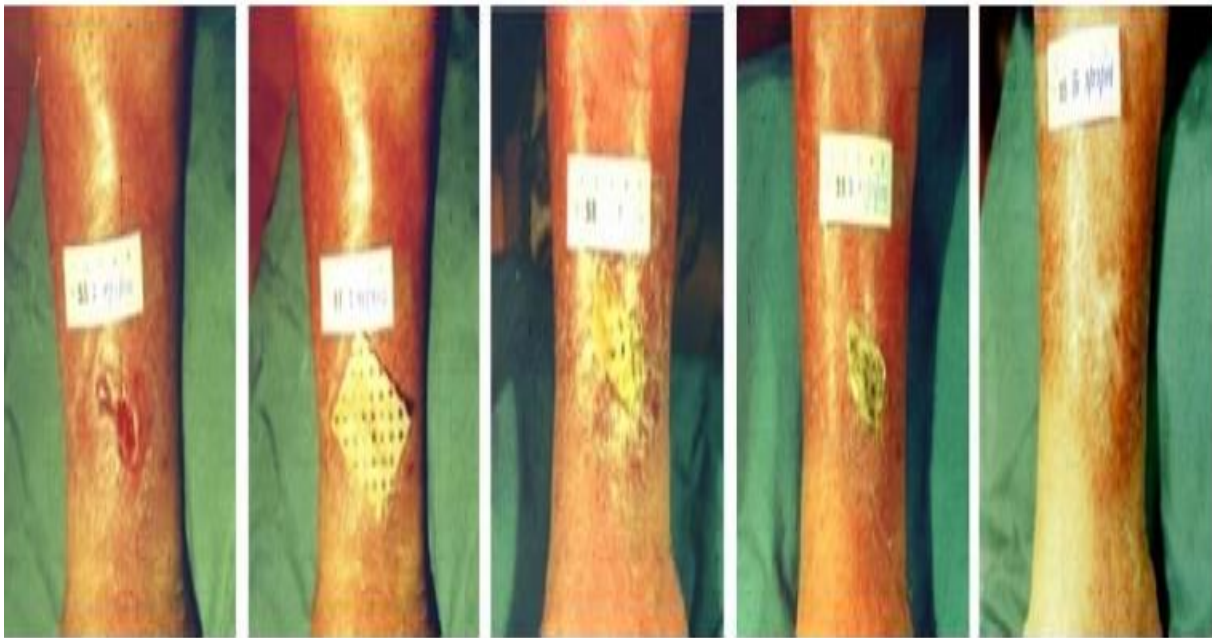


Figure 22 : action locale d'un polymère biodégradable imprimé de bactériophages sous le nom « phagobioderm » (<http://invision.me.free.fr/>)

1.2.2.2 Nouvelles tentatives

Plus récemment, des expériences humaines (figure23) ont été rapportées pour différents types d'infections : otites chroniques à pyocyaniques[111], ulcères [133] , surinfections de brûlures [134][104]. L'une des dernières et des plus surprenantes est le traitement positif de prostatites chroniques par voie rectale[110]. Les résultats sont en relation avec la bonne diffusion des bactériophages dans certains tissus.

Après une abstention d'une quinzaine d'années, il s'est tourné vers les seuls producteurs actuels de bactériophages thérapeutiques : **la Russie et la Géorgie**, pays devenus facilement accessibles après la fin de la « guerre froide ». Une étude [135]in vitro des bactériophages produits par la firme russe MicroGen (avec comme produits vendus : *les vaccins, les préparations immunobiologiques, les substituts d'industrie pharmaceutique, les bactériophages, des solutions pour infusion*) a attesté de l'excellente activité des préparations anti-staphylococciques disponibles dans les pharmacies de Moscou.

Après quelques utilisations de cette préparation sur des infections locales (cicatrices, otite externe), rebelles aux traitements conventionnels malgré plusieurs tentatives, il a envisagé de prendre en charge des situations dramatiques (proposition d'amputation pour infections nosocomiales), voire vitales (infection des os du bassin). À titre compassionnel, des traitements ont permis d'obtenir des guérisons avec un recul aujourd'hui confortable [43] . Il y'a un an, des cas extrêmes (personnes très âgées) d'infections sur prothèse ostéo-articulaire (hanche et genou) ont été traités avec succès.

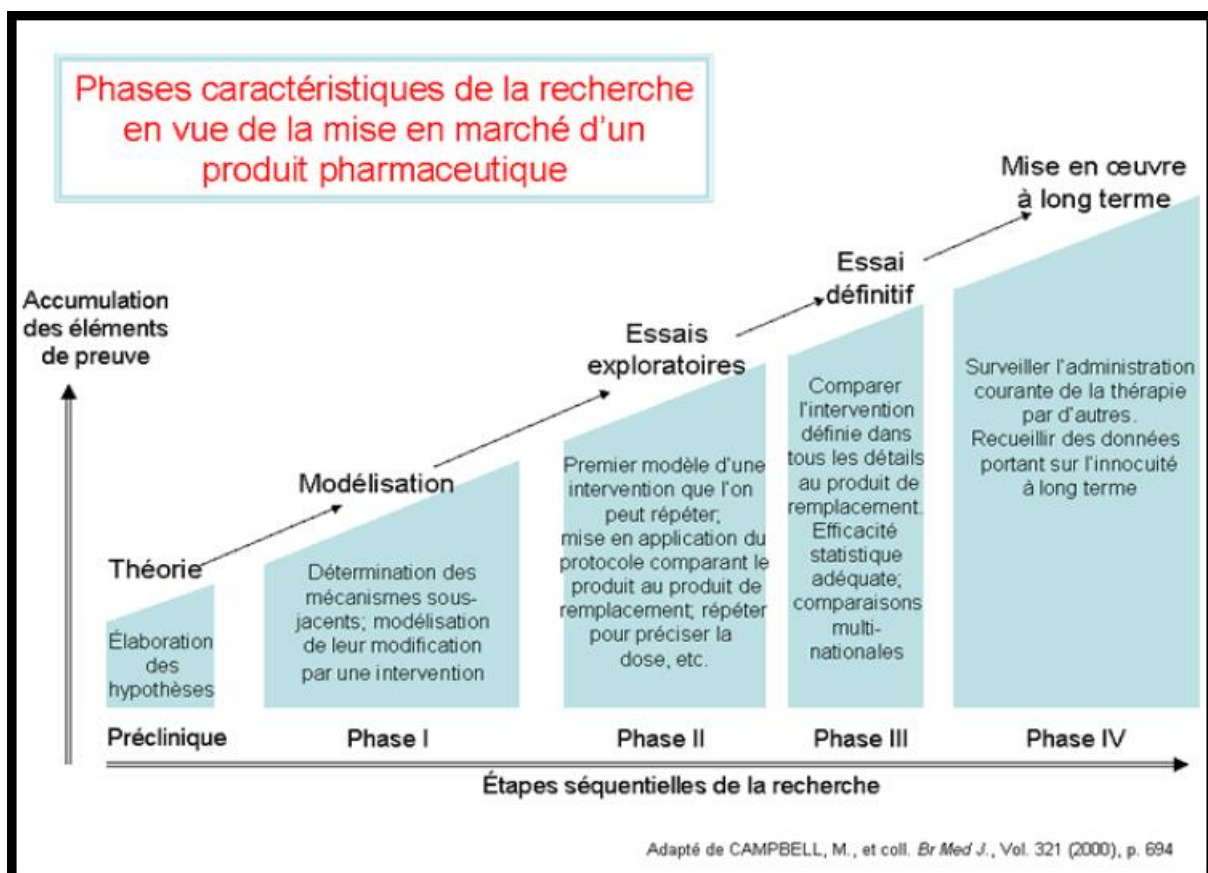


Figure 23 : Les différentes étapes des essais cliniques [116]

1.3 Une recherche en marche

1.3.1 Augmentation du nombre de publications

Les publications sur la phagothérapie voient le jour (figure 24). le nombre d'articles scientifiques traitant la phagothérapie a connu un véritable boom, reflétant le regain d'intérêt de la communauté scientifique pour cette discipline.

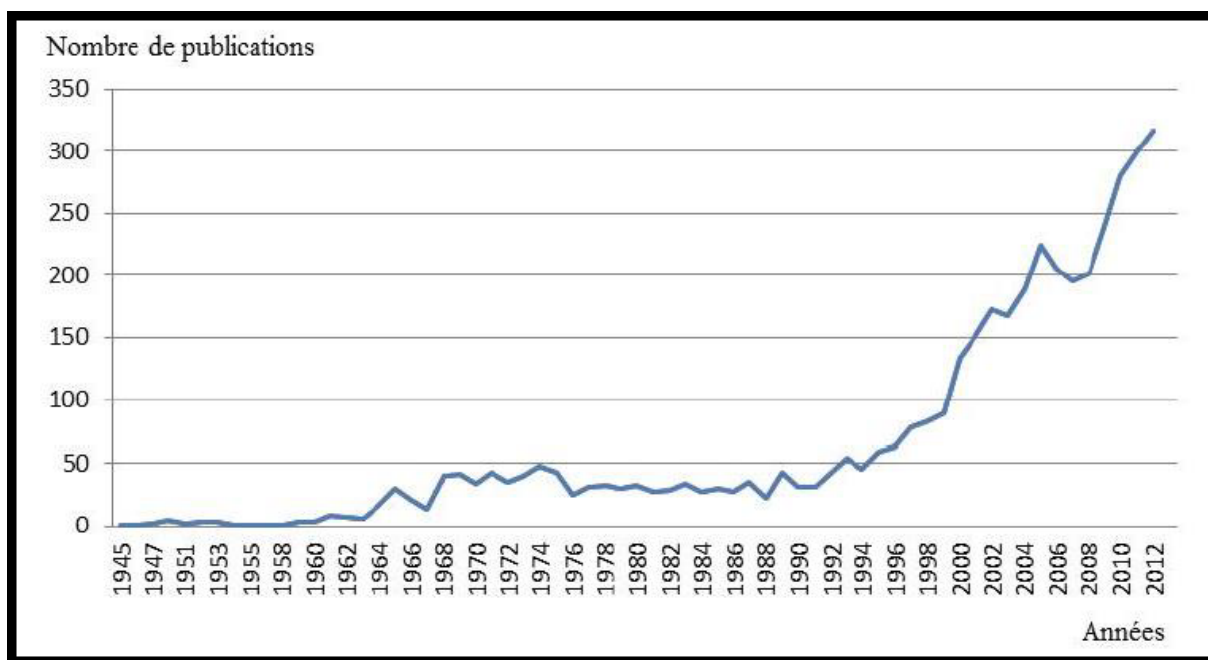


Figure 24 : le nombre de publications par an sur Pubmed contenant le terme « phage therapy », entre 1945 et 2012 (NCBI, 2013).[116]

1.3.2 Synergie phage-antibiotique

Les bactériophages et les antibiotiques ont une action commune, à savoir le contrôle et/ou l'éradication d'une bactérie pathogène. Leur mode d'action respectif est, par contre, radicalement différent. Une majorité d'articles récents propose la phagothérapie comme alternative à l'antibiothérapie, lorsque celle-ci est devenue inefficace. Ceci contribue à placer la phagothérapie dans une situation inconfortable, qui a, par le passé, semé le trouble sur son efficacité.

La question est de savoir si l'association de ces deux thérapies est intéressante et mérite d'être explorée.

Comme c'est le cas dans l'étude menée par l'Institut de Thérapie Expérimentale Immunologique Ludwik Hirszfeld [136], certains travaux tendent à montrer que l'association de l'antibiothérapie et de la phagothérapie n'a pas d'intérêts cliniques. Les antibiotiques

administrés en association aux phages, ainsi que les modalités d'administration des deux thérapies ne sont pas toujours documentées.

Certains scientifiques émettent, au contraire, l'hypothèse qu'une telle association peut être bénéfique. Les phages, appliqués localement, vont permettre de réduire la masse bactérienne dans un premier temps. La cinétique de l'action lytique des phages étant rapide, elle laisse le temps aux antibiotiques d'atteindre une concentration suffisante au niveau du foyer infectieux. Le fait que les antibiotiques ne soient pas détruits par les phages et que ces derniers peuvent être autoproduits *in situ* renforce leurs actions. Cette stratégie en deux temps permet aussi de pallier à la non destruction des bactéries quiescentes par les phages. Dans un premier temps, la phagothérapie agit sur le foyer infectieux actif. Dans un second temps, l'antibiothérapie intervient sur un faible inoculum.

Il a été montré que l'addition à des cultures bactériennes de faibles doses d'antibiotiques, qui bloquent la division cellulaire et induisent la formation de filaments, augmente significativement la production phagique. De tels antibiotiques augmentent le volume bactérien, permettant ainsi une surproduction de phages et accélèrent la lyse de la bactérie par les phages. Ce phénomène est appelé la « synergie phages-antibiotiques » (PAS) ; Il a été mis en évidence avec des antibiotiques de la famille des β -lactamines et des quinolones (figure25) [137].

De plus, ce phénomène a été confirmé avec différents phages non apparentés. On peut donc supposer que les antibiotiques leur confèrent un avantage commun.

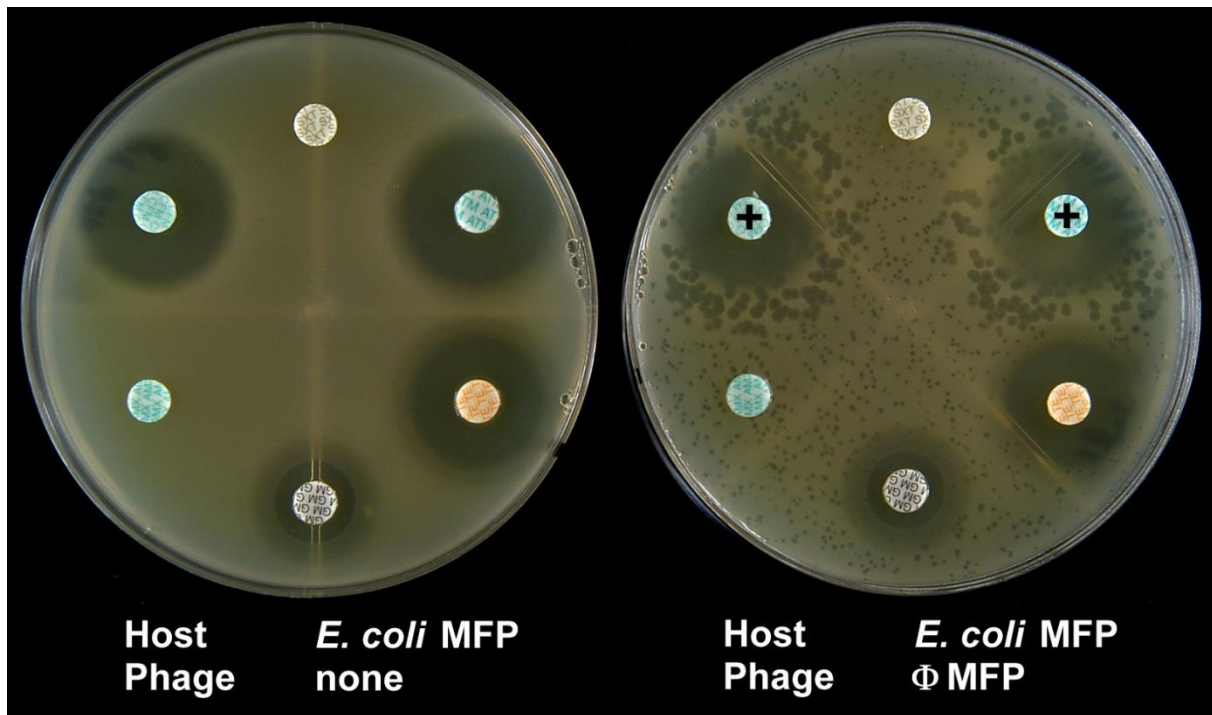


Figure 25 : Le phénomène de « Synergie Phages-Antibiotiques » (PAS) avec le phage ϕ MFP

Cette synergie phages-antibiotiques pourrait être utilisée à des fins médicales thérapeutiques ou prophylactiques (figure26). La question est de savoir si le phénomène PAS est une simple curiosité biologique, utile pour la phagothérapie, ou s'il correspond à une particularité, jusque-là inconnue, des cycles de vie phagique, à savoir la capacité des phages à s'adapter à un environnement moins favorable pour la croissance bactérienne. La présence naturelle de faibles quantités d'antibiotiques, sécrétés par des champignons et certaines bactéries (actinomycètes par exemple) dans l'environnement, constitue une forte pression de sélection pour l'émergence de stratégie de résistance. La filamentation chez les bactéries en présence de certains antibiotiques en est une. Cette stratégie s'avère avantageuse pour l'évolution. Les phages profitent de la physiologie altérée des bactéries « stressées », pour amplifier le nombre de phages produits par cycle d'infection, par rapport aux situations plus saines. D'un point de vue écologique, cette stratégie peut s'expliquer : sous l'effet des antibiotiques, les bactéries hôtes de ces phages sont vouées à disparaître ou à voir leur nombre décroître. La production de phages supplémentaires permettrait alors aux phages de perdurer jusqu'à la rencontre

denouveaux hôtes, dans des environnements plus sains. Une sorte de « mutualisme » existerait donc entre les organismes producteurs d'antibiotiques et les phages capables de PAS, pour concurrencer plus efficacement les bactéries sensibles. Cette synergie entre producteurs d'antibiotiques et phages pourrait jouer un rôle dans l'équilibre des populations microbiennes dans les sols, les eaux ou à l'intérieur de l'être humain.

L'intérêt d'une telle association a également été démontré *en vivo*, chez des poulets. En effet, l'administration conjointe de phages dirigés contre *Escherichia coli* et d'antibiotiques (l'enrofloxacin) a montré une efficacité thérapeutique supérieure à celle de chacun des traitements pris individuellement [138]. Cette association a d'ailleurs permis la survie de l'intégralité des poulets infectés, ce qui n'a pas été le cas en les traitant avec les phages ou les antibiotiques seuls.

Des études supplémentaires sont indispensables pour préciser l'impact du phénomène PAS sur les écosystèmes microbiens et déterminer les mécanismes moléculaires impliqués. Ces connaissances peuvent également être précieuses pour la mise en place de protocoles thérapeutiques associant phages et antibiotiques.

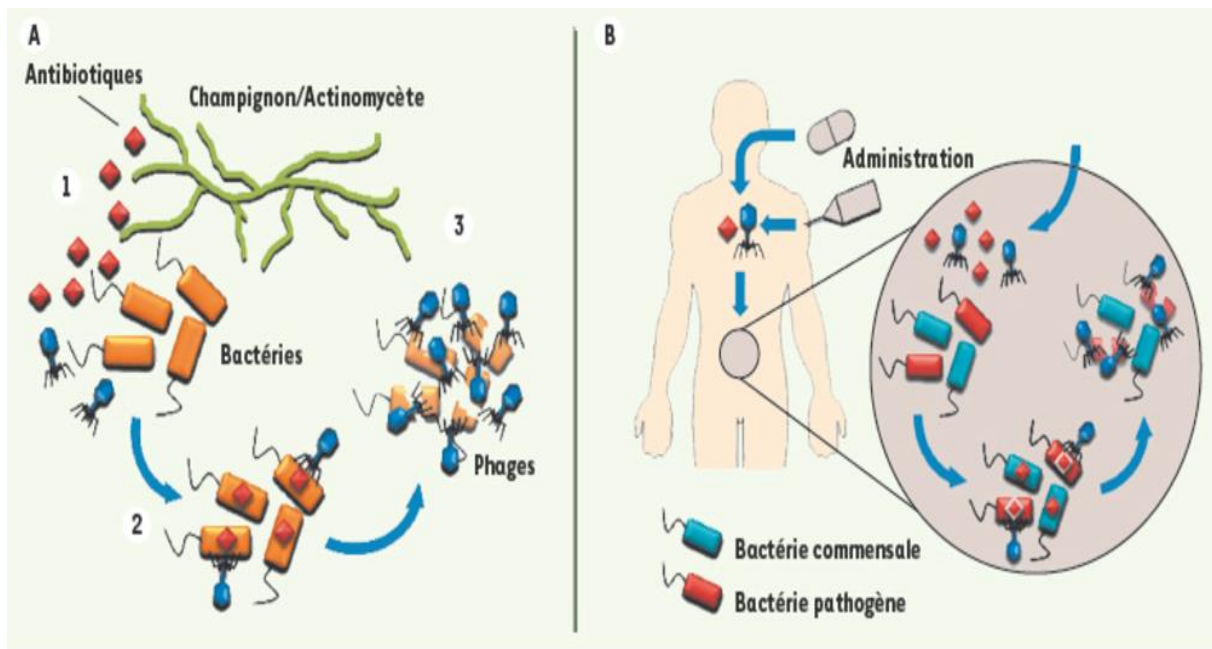


Figure 26 : Le phénomène de « synergie phages-antibiotiques » (PAS) dans l'environnement

2- Traitement anti-infectieux

Depuis 1922, date à laquelle la première publication relate un essai thérapeutique par les phages[13], on peut affirmer que presque toutes les infections bactériennes, quelle que soit leur localisation, pourraient être traitées par les phages. D'importantes séries ont été rapportées, notamment dans les pays de l'est européen et en France, avec des succès attribués à la phagothérapie[139][132]. Le pragmatisme prévalait alors. Mais la démonstration est insuffisante au regard des exigences actuelles car les études cliniques courantes aujourd'hui sont parfaitement codifiées (randomisées, en double aveugle, avec lots témoins, etc.). Avec les développements récents de la recherche fondamentale sur les bactériophages, des propriétés connues ont été confirmées et explicitées tandis que de nouvelles ont été mises en évidence permettant d'envisager la phagothérapie sur des bases moins empiriques que par le passé.

2.1 Les septicémies

La septicémie est probablement le modèle d'infection le plus utilisé pour étudier expérimentalement la phagothérapie. L'efficacité des bactériophages a été montrée dans le traitement de septicémies causées par *E. coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Cronobacter turicensis*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *Enterococcus faecium* et *P. aeruginosa*, pathogène le plus étudié [140]. Les études ayant pour modèle des infections à *P. aeruginosa* sont résumées dans la table 8. Ces études montrent qu'avec une MOI (multiplicity of infection) suffisante, le traitement par bactériophage reste efficace même s'il est retardé de plusieurs heures. Par ailleurs, la voie d'administration intrapéritonéale semble être la plus efficace, bien que celle-ci soit actuellement peu pertinente pour un traitement chez l'Homme.

2.2 Infections gastro-intestinales

Historiquement, les gastro-entérites bactériennes ont été les premières infections traitées avec succès : shigellose, salmonellose, puis choléra en Inde. Aujourd'hui, ces maladies ne

constituent pas la première préoccupation dans les pays dont l'hygiène est développée. En revanche, dans les pays où l'accès à l'eau potable est difficile ou lors de conflit, les épidémies sont parfois très meurtrières. L'administration *per os* de phages est facile (après alcalinisation de l'estomac) et sans effet secondaire. Il a été montré expérimentalement récemment [141] qu'une préparation pharmaceutique spécifique commercialisée couramment en Russie (Intesti-Phage, MicoGen), constituée d'un cocktail de 18 phages est parfaitement tolérée. Une étude expérimentale pilotée par la firme suisse Nestlé a été envisagée au Bangladesh [142] pour traiter des volontaires.

Le microbiote intestinal qui est constitué par l'ensemble des micro-organismes répartis le long du tube digestif est très étudié. Pour chaque individu, sa composition est variable selon la localisation intestinale mais aussi dans le temps et en fonction du régime alimentaire. Il est considéré comme un véritable organe dont le rôle commence seulement à être exploré. Ce n'est pas le seul, mais c'est le microbiote certainement le plus étudié actuellement [143] et son analyse laisse entrevoir d'éventuelles interventions pour traiter certaines pathologies en corrigeant ponctuellement les dysfonctionnements du microsysteme intestinal. Les perturbations comme celles consécutives à un traitement antibiotique ou à un régime déséquilibré, ont longtemps été interprétées au niveau de la population bactérienne. Avec environ ses 10¹⁵ bactériophages, si on soupçonne depuis longtemps le phagème intestinal constitué de bactériophages tempérés mais aussi lytiques de participer à la diffusion de résistances aux antibiotiques, on connaît moins les contributions de ce phagème au maintien d'un équilibre convenable du microbiote dans son ensemble [144]. Les bactériophages pourraient aussi protéger la muqueuse intestinale en s'associant au mucus intestinal. La capacité d'adaptation de cette population virale participerait encore à un mécanisme communautaire pour la protection de la microflore intestinale en préservant sa robustesse fonctionnelle au cours du stress aux antibiotiques [145].

Les gastro-entérites bactériennes ont été traitées massivement et avec succès, semble-t-il, pendant de nombreuses décennies mais les traitements ont été généralement appliqués de manière empirique. Depuis quelques années, des études expérimentales ont été conduites avec de nombreux modèles animaux.

Il a été décrit tout dernièrement un modèle simple qui utiliserait la sangsue médicinale (tube digestif fonctionnellement comparable à celui de l'humain) qui serait, si son intérêt se confirme, particulièrement intéressant pour de telles études [146]. Dans l'ensemble, les bactéries les plus étudiées sont celles que l'on rencontre dans les pays occidentaux *Campylobacter*, *E. coli*, etc. La bonne tolérance des bactériophages par voie digestive ne surprend pas mais il a été souligné qu'un paramètre déterminant pourrait être le rapport *in situ* entre le nombre de bactéries pathogènes et celui des bactériophages (que l'on désigne par MOI pour Multiplicity Of Infection). Il est sans doute difficile de maîtriser un MOI optimal en pratique thérapeutique. Cette incertitude pourrait expliquer certains échecs observés [147]. Chez l'animal, de nombreuses démonstrations d'efficacité ont été réalisées notamment en aquaculture et dans les élevages aviaires. En l'absence de médicaments autorisés, les études expérimentales humaines manquent quant à elles pour évaluer l'efficacité de la phagothérapie individuelle et encore plus au cours d'épidémies.

L'utilisation de bactériophages capables de lyser *Clostridium difficile* pourrait être une solution pour traiter ou prévenir la colite pseudomembraneuse [148] mais aucune souche de bactériophage spontanément strictement lytique pour *C. difficile* n'a encore été isolée. Des risques de lysogénisation ont été signalés, qui incitent à la prudence [149]. Le choléra a été très largement combattu par le passé dans les pays où sévissent des épidémies. Aujourd'hui, les bactériophages pourraient expliquer les cycles épidémiques du choléra [150] sont largement étudiés aussi bien expérimentalement chez l'animal, le lapin [151] que dans son milieu naturel, l'eau [152]. Les bactériophages sont étroitement associés à l'évolution bactérienne et participent au développement de la pathogénicité. L'existence de *Helicobacter pylori* a été reconnue il y a 20 ans dans les pathologies gastriques, mais peu de bactériophages spécifiques [153] ont été étudiés à ce jour. L'un d'entre eux, stable pour une large gamme de pH (2,5 à 10), confirme qu'il est adapté à l'acidité de l'estomac humain. Il est lytique pour 63,6 % des souches d'*H. pylori* [154]. Aucun essai *in vivo* ne semble avoir encore été tenté tant en prophylaxie qu'en thérapeutique mais pourrait être prometteur [155]. Des modèles animaux existent, mais ne seraient pas suffisamment fiables.

Hors ces applications thérapeutiques « classiques », il est envisagé de débarrasser le tube digestif des sujets hébergeant des bactéries réputées pour être à l'origine d'infections

nosocomiales à souches multirésistantes (*Klebsiella pneumoniae* NDM ou *E. coli* O104:H4 par exemple). Ce domaine d'applications potentielles ouvre des perspectives particulièrement attractives [156]. Enfin, signalons qu'il a été découvert que les maladies inflammatoires intestinales sont caractérisées par un métagénome (y compris le phagéome) modifié par rapport à celui d'intestins normaux. Toutefois, à ce jour, le constat d'une différence par rapport à l'intestin de sujets sains ne permet pas de préciser le rôle des phages [157] comme cause ou conséquence des modifications observées.

2.3 Infections des voies respiratoires

Ces infections, sous leur forme chronique ou récidivante, sont une préoccupation médicale importante en raison du taux élevé de mortalité des patients du fait de souches multirésistantes. Parmi les maladies les plus préoccupantes, signalons la mucoviscidose habituellement surinfectée par des souches muqueuses de *Pseudomonas-aeruginosa*, résistantes à de nombreux agents antimicrobiens et capables de former des biofilms. Ces infections sont devenues très difficiles à traiter. Une étude expérimentale, conduite chez la souris, a montré qu'une solution contenant un phage virulent, introduit par voie nasale empêchait le développement d'une forme mortelle d'infection pulmonaire, avec un taux de survie de 100 %, alors que tous les animaux témoins mourraient. Le taux de survie était de 95 %, 75 % et 25 % respectivement lorsque les phages étaient introduits 2, 4 et 6 h après l'infection. L'inhalation semble être efficace pour délivrer les phages aux poumons car de nombreux phages peuvent être, lyophilisés sous forme de poudre que des inhalateurs peuvent propulser au sein de microparticules [158]. Des bactériophages capables d'agir conjointement sur la bactérie et le mucus, ainsi que certains avancent, seraient-ils la solution pour sortir des difficultés thérapeutiques [159]?

La dilatation des bronches ou les pneumonies chroniques relèvent de la même approche thérapeutique. Des études *in situ* de l'activité des phages sur les infections aiguës du parenchyme ont été développées avec des méthodes élégantes utilisant des bactéries fluorescentes. Ainsi, il a été observé expérimentalement que l'efficacité démontrée *in vitro*, bien que nécessaire, n'est pas suffisante pour assurer l'efficacité *in vivo* probablement à cause

des interactions négatives du microbiote de l'hôte [160] et des bactéries persistantes des biofilms qui confèrent une résistance aux antibiotiques et aux défenses immunitaires.

Ainsi, la voie d'administration demeure l'un des problèmes dans l'optimisation du traitement d'une infection des voies respiratoires, parce que les bactéries peuvent résider dans les macrophages ou que des colonies bactériennes sont protégées par des couches de mucus profondes. L'inhalation semble être efficace pour déposer les bactériophages dans l'appareil pulmonaire [100]. L'introduction des bactériophages, par l'aérosol sous forme de poudre sèche contenant des bactériophages incorporés dans des microparticules pourrait avoir des avantages supplémentaires [158]. Elle constitue en effet une voie non invasive permettant un traitement ambulatoire à faible coût qui permet d'atteindre les bactéries y compris dans les macrophages du fait que de nombreux bactériophages peuvent être stabilisés pendant des années à l'état solide.

2.4 Infections ostéoarticulaires (IOA)

Ces infections doivent être envisagées dans trois contextes différents : l'infection osseuse dite « native » sur un os sans matériel, l'infection osseuse avec matériel dont les prothèses articulaires et l'infection du « pied diabétique ». Ces types d'infections constituent un problème en constante augmentation et seraient une indication privilégiée de la phagothérapie. La première étude économique-épidémiologique d'importance [161] évalué qu'en France, en 2008, 28 453 patients étaient atteints d'une IOA, ce qui avait entraîné un coût direct de 259 M€. Les échecs thérapeutiques (absence de réponse des traitements conventionnels bien conduits) ne sont pas rares et sont extrêmement coûteux pour la société. De plus, du fait d'une invalidité très prolongée, source de problèmes socio-économiques majeurs, des surcoûts importants ne sont pas comptabilisés.

L'IOA « native »

En l'absence de matériel, sans être facile à traiter, l'IOA est probablement celle qui a plus de chance de guérison sous traitement conventionnel adapté. Toutefois, il faut prendre en compte deux facteurs majeurs qui sont : la mauvaise diffusion des antibiotiques dans l'os et la

fréquence importante des résistances aux antibiotiques (67 %, 16 % et 16 % respectivement pour les staphylocoques, les bactéries à Gram négatif et les streptocoques [162]). *Staphylococcus aureus* représente la bactérie la plus souvent impliquée dans les infections prolongées. L'installation d'un biofilm par les souches bactériennes semblerait contrariée par certains bactériophages. Plus encore, il a été montré dans une étude expérimentale *in vivo* que la combinaison débridement et bactériophage serait un atout supplémentaire pour une évolution favorable surtout en association avec un antibiotique comme par exemple la gentamicine [163] .

Prothèses articulaires

Les prothèses articulaires (hanche, genou), qui, avec le vieillissement des populations, seront de plus en plus fréquentes, s'infectent dans environ 2,5 % des cas, majoritairement avec *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM). Les antibiotiques diffusent mal dans le tissu osseux et comme il s'agit généralement d'infections subaiguës ou chroniques, la constitution d'un biofilm sur le matériel rend l'action des antibiotiques encore plus improbable. Le traitement d'une IOA avec matériel est lourd, prolongé et nécessite, au moins temporairement la dépose des prothèses avant traitement. L'utilisation de bactériophages ayant une activité lytique sur la bactérie et capables d'empêcher, voire d'attaquer le biofilm, pourrait peut-être permettre d'éviter cet inconvénient. Nous avons fait ce pari, à titre compassionnel dans quelques cas avec succès. Des études semblent apporter la confirmation que cela n'est probablement pas utopique [164] mais mériteraient d'être confirmées par des travaux randomisés et en double aveugle.

Infections du pied chez les diabétiques

Troisième contexte, les infections du pied chez les diabétiques. On estime que dans la population diabétique (3,5 millions en France, 350 millions dans le monde), 15 % à 25 % des patients présenteront au cours de leur vie une ulcération des membres inférieurs. Les complications évolutives liées au « pied diabétique » constituent une préoccupation dans la mesure où il peut y avoir une participation osseuse. La récurrence est habituelle et 40 à 80 % s'infectent avec un risque d'amputation très élevé (> 13 000 amputations en 2007) et un pronostic est très sombre (> 50 % de nouvelle amputation dans les 5 ans et 58 % de survie dans les 5 ans). Le traitement conventionnel est peu efficace (50 % seulement de succès)

d'autant qu'il s'agit souvent de SARM ou de *P. aeruginosa* multi-résistant. L'efficacité de la phagothérapie a été proposée et étudiée dans des modèles animaux diabétiques (rat et porc). Avec ces modèles, la combinaison des traitements donnant les meilleurs résultats et un ou plusieurs bactériophages en association avec un antibiotique (linézolide) [165] ou un débridement [166]. Les auteurs du travail précédent viennent de montrer l'intérêt d'un cocktail de bactériophages actifs à la fois sur les bactéries (*S. aureus*, *P. aeruginosa* et *Acinetobacter*) et les biofilms [167].

2.5 ORL, stomatologie et ophtalmologie

Peu de travaux récents ont concerné les infections bactériennes de la sphère ORL, comme celles de la bouche, ou les infections oculaires. Pour la sphère ORL cependant, dans le cadre des otites moyennes externes à *P. aeruginosa*, des essais cliniques expérimentaux chez 10 chiens effectués selon des normes modernes ont été réalisés il y a quelques années [168].

Les résultats ont montré que l'administration dans l'oreille d'un mélange de six bactériophages conduit à la lyse du *P. aeruginosa* sans toxicité apparente, et constitue un traitement efficace facile à utiliser. Il y a plusieurs années, à titre compassionnel nous avons traité, chez une jeune fille, une otite externe chronique à *S. aureus* dont la forme évolutive était préoccupante. La solution de bactériophages russe utilisée s'est montrée efficace en 72 heures (sédation des violentes douleurs et de la suppuration). La guérison, confirmée par l'étude bactériologique a été obtenue en 3 semaines et a permis une greffe cutanée. Les rhinosinusites chroniques constituent un ensemble de pathologies fréquentes difficiles à traiter par les moyens conventionnels. Une étude a évalué l'activité *in vitro* d'un cocktail de bactériophages spécifiques contre 66 souches *S. aureus* isolées de patients [169]: 94 % des souches étaient sensibles au cocktail et la masse de biofilm constituée a été réduite. Un tel cocktail aurait donc le potentiel de traiter ce type d'infection. La microbiologie buccale est complexe. Elle est encore mal explorée mais commence à l'être d'un point de vue métagénomique [170].

C'est ainsi que les parodontites sont caractérisées par la présence de nombreux bactériophages lytiques dans les biofilms sans savoir s'ils sont la cause ou la conséquence de la pathologie.

La stomatologie sera, à ne pas en douter, une spécialité qui devrait s'intéresser au rôle joué par les bactériophages tant pour expliquer l'état normal que les situations pathologiques et étudier la plaque dentaire [171]. La phagothérapie pourrait avoir un intérêt dans cette spécialité. Des applications devraient être rapidement envisagées en ophtalmologie car une étude a montré que, non seulement les bactériophages sont bien tolérés par la muqueuse oculaire, mais qu'ils permettent au moins expérimentalement de traiter des infections à *P. aeruginosa* chez le rat [172].

2.6 Infections à mycobactéries

Les infections à mycobactéries nécessiteront une approche particulière car ce genre bactérien présente des particularités (multiplication lente et intracellulaire). En pathologie humaine et dans nos contrées, c'est avant tout le bacille de la tuberculose qui retient l'attention. Malgré le fait que de nombreux mycobactériophages (bactériophages anti-mycobactérie) soient décrits, il n'y a pas de projets pour une application thérapeutique à brève échéance [173]. On peut penser que l'extension de la résistance de *Mycobacterium tuberculosis* sera une motivation dès que la phagothérapie des pyogènes sera opérationnelle. Il existe d'autres mycobactérioses. Une pathologie très répandue en Afrique, l'ulcère de Buruli (*Mycobacterium ulcerans*), a fait l'objet d'une étude expérimentale [174] dans un modèle de souris. Étant donné l'épidémiologie de cette infection, la phagothérapie utilisée par voie topique serait une solution intéressante. Une autre espèce particulière du genre *Mycobacterium* (due à *Mycobacterium avium paratuberculosis* ou MAP) provoque des pertes économiques considérables en infectant les cheptels ruminants. De plus, cette bactérie pourrait être à l'origine de maladies intestinales inflammatoires via la consommation de lait et de viande d'animaux contaminés. Si tel est le cas, l'isolement des mycobactériophages en ferait peut-être des agents thérapeutiques efficaces à grande échelle [175][176].

3- Phagoprophylaxie

C'est l'utilisation des bactériophages comme moyen préventif contre les infections. Cette notion n'est pas nouvelle car en étudiant les maladies diarrhéiques telles que la dysenterie bacillaire ou le choléra, d'Hérelle a observé la guérison d'individus lorsqu'ils étaient au contact de malades en phase de rémission de ces diarrhées. Il a appelé ce phénomène la « guérison contagieuse ». Il remarqua par la suite que des bactériophages étaient émis dans les selles diarrhéiques de ces malades et émit l'hypothèse que les phages libérés dans l'environnement s'étaient ensuite introduits dans le corps des autres malades, *via* une eau de boisson contaminée ou un simple contact, et avaient permis le rétablissement de ces derniers ainsi qu'une protection pour les individus non encore malades. Ce dernier cas n'est autre qu'une utilisation prophylactique des bactériophages, parfois appelée « phagoprophylaxie » [41] .

Il semble possible que l'évolution de certaines épidémies qu'a connu l'histoire s'explique par ce phénomène : l'épidémie survient et se propage, puis un bactériophage lytique se développe et est répandu dans l'environnement, permettant une extinction de l'épidémie en protégeant les individus non encore atteints et en permettant une guérison accélérée des malades. Une autre étude récente montre que ce déroulement s'applique tout à fait à ces épidémies [57] .

V-Limites

1-Une redécouverte compliquée

1.1 Mauvaise image du passé

Car, actuellement, il n'existe plus de phages thérapeutiques officiels en Occident. La phagothérapie souffre d'une image de vieille médecine et se heurte à beaucoup de scepticisme vis-à-vis de son passé. Tantôt échec thérapeutique tantôt guérison miraculeuse, la phagothérapie ne renvoie pas une image de fiabilité.

Tout d'abord, les protocoles utilisés n'étaient pas complètement rédigés. Avec le manque des informations à propos des méthodes employées ou des doses choisies, ces informations n'étaient pas indiquées de façon claire. [35]

Il faut admettre que, par le passé, les connaissances n'étant pas aussi développées qu'aujourd'hui, les erreurs thérapeutiques et les anomalies de préparations étaient également plus fréquents.

De plus, les phages étant très spécifiques par nature, le risque de ne pas employer le bon phage était encore plus présent. Enfin, la phagothérapie était souvent utilisée en dernier recours sur des cas d'infections graves, souvent en échec thérapeutique depuis une période plus ou moins importante ce qui ne permettait pas toujours des conditions de rétablissement correctes[41].

Concernant les préparations de phages, les principales erreurs étaient l'absence d'élimination des endotoxines dans les préparations virales, et la mauvaise ou l'absence de contrôle de la viabilité des phages après ajout de substances stérilisantes aux préparations. Il faut également garder à l'esprit que les chercheurs ne disposaient pas forcément des moyens financiers ou du matériel nécessaire à une bonne réalisation des préparations et des expériences [41].

1.2 L'obstacle idéologique

La guerre froide crée un monde bipolaire qui oppose pendant plus de 40 ans deux blocs de pays : le bloc occidental et le bloc de l'est (communiste) : URSS

Cette division du monde a considération une dimension politique à la phagothérapie et a laissé des traces encore marquées aujourd'hui. Pour des raisons politiques et idéologiques découlant de ce passé, la phagothérapie, développée et améliorée par les pays de l'ex-Union soviétique, est parfois encore mal perçue et difficilement acceptée par les pays occidentaux, notamment par les États-Unis [177] .

1.3 Manque d'informations dans l'enseignement médical

Actuellement, au Maroc et dans de nombreux autres pays, l'enseignement médical ne dispose que peu d'informations au sujet des bactériophages et de leur utilisation thérapeutique, au point que le terme même de phagothérapie est généralement méconnu des étudiants. Les cours informent de façon extrêmement succincte de l'existence des bactériophages, mis à part dans le cadre de la recherche en génétique pour leur application dans l'étude des enzymes de restrictions et du génome.

2 - Absence de réglementation adaptée

Bien que la phagothérapie soit expérimentée depuis maintenant presque un siècle, il existe aujourd'hui un véritable vide juridique sur cette thérapeutique aussi bien en Europe qu'aux Etats-Unis. Cela a pour conséquence de freiner la recherche en limitant les études cliniques sur l'homme qui permettraient de générer des données de sécurité et d'efficacité. C'est pourquoi, il faut rapidement mettre en place un cadre réglementaire spécifique aux bactériophages afin d'accélérer et de faciliter leurs analyses [178].

A l'heure actuelle, les bactériophages sont pourtant bien inclus dans la définition du médicament selon le Code de la santé publique (CSP) en vigueur en France : « On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » (Article L.5111-1). En effet, même les micro-organismes conviennent au terme « substance » qui correspond à toute matière quelle que soit son origine (humaine, animale, végétale ou chimique).

Cependant, si les bactériophages sont définis comme étant des médicaments, il implique de suivre la procédure d'autorisation de mise sur le marché (AMM) assurant la qualité, l'efficacité et l'innocuité de la spécialité pharmaceutique définie comme « tout médicament préparé à l'avance, présenté sous un conditionnement particulier et caractérisé par une dénomination spéciale » (Article L.5111-2 du Code de la santé publique).

Or, les procédures d'autorisation de mise sur le marché actuel qui sont conçues pour des médicaments inertes et fixes ne sont pas adaptées au développement industriel de cocktails de phages préparés à l'avance, ni à une approche au cas par cas pour un patient donné. En effet, cela ne permet pas une mise à jour régulière des suspensions de phages que l'on doit adapter en fonction des bactéries pour une efficacité optimale [179].

Par conséquent, en l'absence de produits agréés sur le marché pharmaceutique, la phagothérapie n'est employée que ponctuellement dans des cas d'impasses thérapeutiques en s'appuyant sur la Déclaration d'Helsinki qui autorise le médecin, avec le consentement éclairé du patient, à utiliser des méthodes non éprouvées ou nouvelles si elles offrent un espoir de guérison ou permettent de soulager les souffrances du malade. C'est à partir de cette Déclaration d'Helsinki que l'Institut Ludwik Hirszfeld en Pologne se rattache pour pratiquer la phagothérapie auprès de ses patients. Cependant, dans ce cas, il ne s'agit que d'une utilisation de dernier recours, une fois que toutes les autres possibilités thérapeutiques ont été envisagées.

D'autres alternatives sont possibles mais aucune n'est viable au long cours. Par exemple le recours à la préparation magistrale qui est définie comme « tout médicament préparé extemporanément selon une prescription médicale destinée à un malade déterminé en raison de l'absence de spécialité pharmaceutique disponible disposant d'une autorisation de mise sur le marché » (Article L.5121-1 du Code de la santé publique). Cependant, les préparations magistrales doivent être effectuées en utilisant des produits référencés, ce qui n'est pas le cas pour les bactériophages. Une autre alternative aurait été d'utiliser les phages pour les maladies dites « orphelines de traitement » mais cela ne concerne que les maladies comptant moins d'une personne sur 2000 dans une population, ce qui n'est donc pas applicable pour les utilisations possibles de la phagothérapie (les grands brûlés, les infections nosocomiales, etc.).

Même si quelques alternatives existent, permettant une utilisation à court terme de la phagothérapie, aucune d'elles n'est réellement satisfaisante à long terme. L'unique solution serait de créer un cadre spécifique à la phagothérapie comme ce fut le cas pour un certain nombre de produits dits « frontières » tels que les thérapies géniques, les thérapies cellulaires ou encore les vaccins. La réglementation doit être adaptée afin de donner une chance à la phagothérapie d'être mise en œuvre et pour exploiter pleinement tout son potentiel entrevu depuis maintenant plusieurs décennies [180] .

3-Limites industrielles

Des contraintes pour breveter les bactériophages existent et limitent les investissements des laboratoires pharmaceutiques. Le nombre d'essais cliniques mis en place par ces laboratoires est donc limité.

D'une part, la phagothérapie n'est pas une thérapie innovante. En effet, les phages et leur utilisation thérapeutique ont été décrits depuis longtemps. Or, un brevet a pour objectif d'encadrer et protéger la mise sur le marché d'éléments novateurs. Pour valider ce critère, il faudrait donc proposer une nouvelle niche particulière de phages, jamais décrite auparavant.

D'autre part, si un phage jamais décrit par le passé était proposé, il serait nécessaire de séquencer son génome en totalité et de breveter cette séquence précise. Or, il existe dans la nature de nombreux autres phages, proches génétiquement et physiologiquement, qui ne seraient pas protégés par le brevet déposé. L'industrie pharmaceutique pourrait donc contourner les problèmes de brevet en utilisant des phages proches mais non similaires. De plus, la mise à jour régulière des phages, nécessaire pour suivre l'évolution bactérienne, est incompatible avec le dépôt d'une séquence génomique précise et fixe auprès de l'office des brevets.

Le manque d'investissement de la part de l'industrie pharmaceutique provient également du fait qu'en phagothérapie, une dose de phage en administration unique ou avec une faible fréquence d'administration peut être suffisante à la réalisation du traitement. La production n'apporterait donc pas autant que les bénéfices réalisés actuellement grâce aux antibiotiques. Les perspectives limitées de profits n'incitent donc pas l'industrie pharmaceutique à mettre en place des essais cliniques, pourtant indispensables à l'évaluation de la phagothérapie[20].

CONCLUSION

D'année en année, la multi-résistance bactérienne aux antibiotiques gagne du terrain. Véritable problème de santé publique, elle est particulièrement prégnante au cours des infections nosocomiales.

Parmi les alternatives aux antibiotiques, l'utilisation thérapeutique des bactériophages apparaît comme crédible et est actuellement en pleine réévaluation dans les pays occidentaux. Cette thérapie est à la fois riche et victime d'un incroyable passé de traitements et de recherches, fructueux ou moins fructueux, rigoureux ou moins rigoureux. Au vu des différents avantages que présente ce « médicament intelligent », son pouvoir bactéricide efficace, sa multiplication *in situ*, l'élimination de la bactérie ciblée à l'exclusion des autres, le très faible nombre d'effets secondaires, etc. justifie indéniablement son positionnement comme une alternative crédible à l'antibiothérapie ou en utilisation conjointe. Sa réhabilitation nécessite cependant encore quelques étapes avant de pouvoir être effective.

La réhabilitation de la phagothérapie nécessite cependant quelques étapes avant de pouvoir être effective. Tout d'abord, des approfondissements semblent indispensables pour évaluer d'une part son incidence sur l'organisme, notamment son interaction avec le système immunitaire à long terme, et, d'autre part, la coévolution des phages administrés avec les bactéries. Cette coévolution antagoniste nécessite un contrôle, également sur le long terme, de la portée des phago-résistances et de l'impact potentiel de la thérapie phagique sur l'évolution générale des bactéries. Ces explorations futures imposent de réaliser des recherches *in vitro*, et *in vivo*, chez l'animal et chez l'homme. C'est ici qu'arrive la deuxième étape à prendre en compte pour la réhabilitation de la phagothérapie. En effet, le cadre légal actuel ne semble pas permettre une exploitation correcte de cette alternative thérapeutique par les laboratoires pharmaceutiques. En découle une difficulté notoire à mettre en place des essais thérapeutiques chez l'homme. Ces essais sont cependant nécessaires à l'obtention d'une autorisation de mise sur le marché de bactériophages en tant que médicaments. Une possibilité pour briser ce cercle vicieux serait de modifier la réglementation en instaurant une clause particulière pour les bactériophages, à l'instar de celle mise en place pour les vaccins.

RESUME

RESUME

Titre : Phagothérapie : Des virus pour combattre les infections.

Auteur : Zakaria ELMOUATASSIM

Mots clés : Bactériophages-Phagothérapie-Antibiotique-Infections-Résistances

La phagothérapie, est l'utilisation des virus (bactériophages ou phages) prédateurs naturels des bactéries qu'ils détruisent, pour le traitement de certaines maladies infectieuses d'origine bactérienne. Soigner les infections avec des bactériophages n'est pas une idée nouvelle. Dès le début du XXe siècle, la phagothérapie était pratiquée, mais elle a progressivement été abandonnée au profit des antibiotiques, sauf en Europe de l'Est.

Avec l'émergence de bactéries résistantes à presque tous les antibiotiques et l'hésitation de l'industrie pharmaceutique à investir dans la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques, certaines infections notamment les infections nosocomiales ont parfois des conséquences dramatiques. La lutte contre ces infections avec la recherche d'alternatives thérapeutiques aux antibiotiques est donc une nécessité afin d'élargir les possibilités d'action pour le personnel soignant chose qui motive l'occident à proposer la phagothérapie comme une éventuelle solution.

Ce travail a pour but d'explorer l'histoire riche de la découverte de cette thérapie, de décrire les caractéristiques des bactériophages et leur utilisation en médecine humaine, d'expliquer le principe de la phagothérapie et les techniques de préparation des solutions phagiques ainsi qu'évaluer les différents avantages et inconvénients de cette thérapie.

ABSTRACT

Title: Phage therapy: Viruses to fight infections

Author: Zakaria ELMOUATASSIM

Key words: Bacteriophage – Phage therapy – Antibiotics – Infections – Resistance

Phage therapy is the use of viruses (bacteriophages), natural predators of the bacteria they destroy, for the treatment of certain infectious diseases of bacterial origin. Treating infections with bacteriophages is not a new idea. At the beginning of the 20th century, phage therapy was already practiced, but it was gradually abandoned in favor of antibiotics, except in Eastern Europe. With the emergence of bacteria that are resistant to almost all antibiotics and the reluctance of the pharmaceutical industry to invest in the research and development of new antibiotics, some infections including nosocomial infections sometimes have dramatic consequences. The fight against these infections with the search for therapeutic alternatives of antibiotics is therefore a necessity in order to widen the possibilities of action for the medical staff motivating the West to propose phage therapy as a possible solution. The aim of this work is to explore the rich history of this therapy's discovery, describe the characteristics of bacteriophages and their use in human medicine, explain the principle of phage therapy and techniques for the preparation of phagic solutions and evaluate the various advantages and disadvantages of this therapy.

ملخص

العنوان:التداوي بالعائيات، فيروسات لمكافحة التعفونات البكتيرية.

الكاتب:زكرياء المعتصم

الكلمات الأساسية:عائيات .التداوي بالعائيات .المضادات الحيوية .التعفونات .البكتيريات المقاومة.

يعتبرالتداوي بالعائيات تقنية يتم من خلالها مكافحة التعفونات البكتيرية بواسطة فيروسات (عائيات). فكرة التداوي بالعائيات ليست جديدة، إذ يرجع استعمالها لأول مرة إلى بداية القرن العشرين قبل أن تعرف تراجعا في العالم بعد إكتشاف المضادات الحيوية،هذا التراجع لم يشمل دول أوروبا الشرقية حيث لايزال استعمالها وتطويرها قائما.

وأمام التطور المهول للبكتيريات المقاومة للمضادات الحيوية، وتراجع المختبرات الصيدلانية في البحث عن حلول جديدة، أصبحت بعض التعفونات البكتيرية خصوصا الناتجة عن عدوى المستشفيات تشكل خطورة كبيرة مما جعل المجتمع الغربي يفكر في حلول جديدة ومن تم اقتراح التداوي بالعائيات كحل لهذه المشكلة.

من خلال هذا العمل حاولنا البحث في تاريخ اكتشاف هذا الدواء، ووصف خصائص العائيات واستعمالهم في الطب، شرح تقنية التداوي بالعائيات والحصول على محاليلها وأخيرا الوقوف عن بعض إيجابيات وسلبيات التداوي بها.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] M. Hankin, Les microbes des rivières de l'Inde, Paris: Annales de l'Institut Pasteur, 1896.
- [2] M. Hankin, L'action bactéricide des eaux de la Jumna et du Gange sur le microbe du choléra, Paris: Annales de l'Institut Pasteur, 1896.
- [3] S. Abedon, S. Kuhl, B. Blasdel et E. Kutter, Phage treatment of human infections, Bacteriophage, 2011.
- [4] T. Bernhardt, I.-N. Wang, D. Struck et R. Young, Breaking free :“protein antibiotics” and phage lysis, Research in microbiology, 2002.
- [5] A. Sulakvelidze, Z. Alavidze et J. Morris, Bacteriophage therapy, Antimicrob Agents Chemother, 2001.
- [6] D. F, Le rôle du microbe filtrant bactériophage dans la dysentérie bacillaire, Paris: CR Acad, 1918.
- [7] D. F, le rôle du microbe bactériophage dans la typhose aviaire, Paris: CR Acad Sci, 1919.
- [8] D. F, Le microbe bactériophage, CR Acad Biol, 1919.
- [9] M. Straub, Studies on commercial bacteriophage products, Am Med Assoc, 1933.
- [10] G. O, Évaluation de l'efficacité d'une suspension de bactériophages antistaphylococciques, Université de Médecine de Nantes, 2006.
- [11] D. F, Le microbe bactériophage, agent d'immunité dans la peste et le barbone, Compt Rend Acad Sci, 1921.
- [12] R. Bruynoghe et Maisin, Le principe bactériophage du staphylocoque, Comptes rendus de la Société de biologie, 1921.
- [13] R. Bruynoghe et Maisin, Essais de thérapeutique au moyen du bactériophage du staphylocoque, Comptes rendus de la Société de biologie, 1921.
- [14] R. Bruynoghe et Maisin, Au sujet de l'unité du principe bactériophage, Comptes rendus de la Société de biologie, 1921.

- [15] A. Gratia, Studies on the d'Hérelle's phenomenon, Journal of Experimental Medicine, 1921.
- [16] A. Gratia, La lyse transmissible du staphylocoque. Sa production ; ses applications thérapeutiques, Comptes-rendus de la Société de biologie, 1922.
- [17] A. Beckerich et P. Handuroy, Le bactériophage dans le traitement de la fièvre typhoïde, Comptes-rendus de la Société de biologie, 1922.
- [18] H. De Montclo, Un siècle d'expériences avec les bactériophages, Médecine et maladies infectieuses, 2001.
- [19] A. Dublanchet et E. Fruciano, Brève histoire de la phagothérapie, Médecine et maladies infectieuses, 2008.
- [20] M. Eaton et S. Bayne-Jones, Bacteriophage therapy I. Review of the principles and results of the use of bacteriophage in the treatment of infections, Journal of the American Medical Association (JAMA), 1934.
- [21] A. Krueger et E. Scribner, The Bacteriophage, its nature and its therapeutic use, Journal of the American Medical Association, 1941.
- [22] R. H, Die Sichtbarmachung der bakteriophagen lyse im übermikroskop, Naturwissenschaften, 1940.
- [23] R. H, Versuch zu einer Ordnung der Virusarten, Archives of Virology, 1943.
- [24] R. Aminov, A Brief History of the Antibiotic Era : Lessons Learned and Challenges for the Future, Frontiers in Microbiology, 2010.
- [25] J. Gonzales, Il y a cinquante ans naissait la streptomycine, Histoire des sciences médicales, 1994.
- [26] M. Kutateladze et R. Adamia, Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics, Trends in Biotechnology, 2010.
- [27] S. G, Phage treatment of severe burns, British Medical Journal, 1970.
- [28] N. Chanishvili, T. Chanishvili, M. Tediashvili et P. Barrow, Phages and their application, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2001.

- [29] L. B, The antibiotic paradox: how misuse of antibiotics destroy their curative power, Cambridge: Perseus Press, 2002.
- [30] H. T, Viruses vs. superbugs - A solution to the antibiotics crisis?, Palgrave Macmillan, 2006.
- [31] S. Slopek, I. Durlakowa, B. Weber-Dabrowska, M. Dabrowski et A. Kucharewicz-Krukowska, Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. III. Detailed evaluation of the results obtained in further 150 cases, Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 1984.
- [32] H. Smith et M. Huggins, Successful treatment of experimental Escherichia coli infections in mice using phage : its general superiority over antibiotics, Journal of General Microbiology, 1982.
- [33] J. Bull, B. Levin, T. DeRouin, N. Walker et C. Bloch, Dynamics of success and failure in phage and antibiotic therapy in experimental infections, BMC microbiology, 2002.
- [34] H. Smith et M. Huggins, Effectiveness of phages in treating experimental Escherichia coli diarrhoea in calves, piglets and lambs, Journal of General Microbiology, 1983.
- [35] J. Alisky, K. Iczkowski, A. Rapoport et N. Troitsky, Bacteriophages show promise as antimicrobial agents, Journal of Infection, 1998.
- [36] P. Barrow et J. Soothill, Bacteriophage therapy and prophylaxis: rediscovery and renewed assessment of potential, Trends in microbiology, 1997.
- [37] C. RM, Phage therapy : past history and future prospects, Archivum immunologiae et therapiae experimentalis, 1999.
- [38] D. B, New dawn for phage therapy. The Lancet infectious diseases, Dublanchet A, 2009.
- [39] S. JS, Treatment of experimental infections of mice with bacteriophages, Journal of medical microbiology, 1992.
- [40] J.-R. Courtault, Place de la phagothérapie dans le traitement des infections humaines, Pharmaceutical sciences, 2014.

- [41] A. Dublanchet et O. Patey, La phagothérapie : passé et avenir (faits nouveaux et procédure[s] pour une réhabilitation), *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 2011.
- [42] GEEPhage et Biofutur, Le renouveau de la phagothérapie. Pourquoi ? Comment ?, Institut Mutualiste Montsouris-Paris, 2013.
- [43] D. A, Des virus pour combattre les infections - la phagothérapie : renouveau d'un traitement au secours des antibiotiques, Favre, 2009.
- [44] B. Guttman, R. Raya, E. Kutter et A. Sulakvelidze, *Bacteriophage: biology and application*, Boca Raton : CRC Press, 2005.
- [45] D. Bradley, Ultrastructure of bacteriophage and bacteriocins, *Bacteriological Reviews*, 1967.
- [46] C. A, The future of bacteriophage biology, *Nat Rev Genet*, 2003.
- [47] H. Ackermann, Bacteriophage observations and evolution, *Research in Microbiology*, 2003.
- [48] N. Dufour, Phagothérapie et pneumonies acquises sous ventilation mécanique à *Escherichia*. une approche thérapeutique possible ? Aspects fondamentaux et éléments de faisabilité., Paris: Université Paris Diderot Paris 7, 2015.
- [49] A. Letarov et E. Kulikov, The bacteriophages in human- and animal body-associated microbial communities, *J Appl Microbiol*, 2009.
- [50] J. Méndez, A. Audicana, M. Cancer et e. al, Assessment of drinking water quality using indicator bacteria and bacteriophages, *J Water Health*, 2004.
- [51] S. Chibani-Chennoufi, A. Bruttin, M. Dillmann et H. Brüssow, Phage-host interaction: an ecological perspective, *J Bacteriol*, 2004.
- [52] M. Breitbart, P. Salamon, B. Andresen, J. Mahaffy, A. Segall, D. Mead, F. Azam et F. Rohwer, Genomic analysis of uncultured marine viral communities, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002.
- [53] R. F, Global phage diversity, *Cell*, 2003.
- [54] W. MG, Ecology of prokaryotic viruses, *FEMS Microbiol Rev*, 2004.

- [55] F. JA, Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects, *Nature*, 1999.
- [56] K. Wommack et R. Colwell, Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems, *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000.
- [57] S. Faruque, M. Islam, Q. Ahmad, A. Faruque, D. Sack, G. Nair et J. Mekalanos, Self-limiting nature of seasonal cholera epidemics: Role of host-mediated amplification of phage, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005.
- [58] I. JM, Phage therapy : a reappraisal of bacteriophages as antibiotics, *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis* , 2003.
- [59] Calendar, *The Bacteriophages*, Oxford University Press, 2006.
- [60] A. Kropinski, Phage therapy - Everything old is new again, *The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology*, 2006.
- [61] P. Leiman, S. Kanamaru, V. Mesyanzhinov, F. Arisaka et M. Rossmann, Structure and morphogenesis of bacteriophage T4, *Cellular and molecular life sciences*, 2003.
- [62] E. Saussereau, Utilisation des bactériophages comme thérapie lors d'une infection a *Pseu-domonas aeruginosa* dans le cadre de la mucoviscidose : efficacité et innocuité. *Pneumologie*, Paris: Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2012.
- [63] F. Banuett, M. Hoyt, L. McFarlane, H. Echols et I. Herskowitz, hflB, a new *Escherichia coli* locus regulating lysogeny and the level of bacteriophage lambda cII protein, *Journal of molecular biology*, 1986.
- [64] H. Cheng, P. Muhlrud, M. Hoyt et H. Echols, Cleavage of the cII protein of phage lambda by purified HflA protease: control of the switch between lysis and lysogeny, *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 1988.
- [65] M. Hoyt, D. Knight, A. Das, H. Miller et H. Echols, Control of phage lambda development by stability and synthesis of cII protein: role of the viral cIII and host hflA, himA and himD genes, *Cell*, 1982.
- [66] W. B et B. Finlay, Phage display: applications, innovations, and issues in phage and host biology, *Can J Microbiol*, 1998.

- [67] L. M et Wegrzyn, Pseudolysogeny, *Adv Virus Res*, 2012.
- [68] N. Zinder, *Forty Years Ago : The Discovery of Bacterial Transduction*, Genetics Society of America, 1992.
- [69] Górski, E. Wazna, K. Dabrowska, K. Switala-Jelen et R. Miedzybrodzki, Bactériophage translocation, *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2006.
- [70] A. R, *Le bacteriophage dans l'organisme*, CR Seances Soc Biol Fil, 1921.
- [71] R. Dubos, J. Straus et C. Pierce, The multiplication of bacteriophage in vivo and its protective effect against an experimental infection with *Shigella dysenteriae*, *The Journal of experimental medicine*, 1943.
- [72] M. Skurnik et E. Strauch, Phage therapy : facts and fiction, *International journal of medical microbiology*, 2006.
- [73] E. AC, Inactivation of antistreptococcus bacteriophage by animal fluids, *Public Health Reports*, 1933.
- [74] H. Smith, M. Huggins et K. Shaw, The control of experimental *Escherichia coli* diarrhoea in calves by means of bacteriophages, *Journal of general microbiology*, 1987.
- [75] A. Bruttin et H. Brüßow, Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally : a safety test of phage therapy, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2005.
- [76] C. Merrill, B. Biswas, R. Carlton, N. Jensen, G. Creed, S. Zullo et e. al, Long-circulating bacteriophage as antibacterial agents, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996.
- [77] B. Levin et J. Bull, Population and evolutionary dynamics of phage therapy, *Nature Reviews Microbiology*, 2004.
- [78] R. Payne et V. Jansen, Phage therapy : The peculiar kinetics of self-replicating pharmaceuticals, *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2000.

- [79] R. Payne et V. Jansen, Understanding bacteriophage therapy as a density-dependent kinetic process, *Journal of Theoretical Biology*, 2001.
- [80] L. Kasman, A. Kasman, C. Westwater, J. Dolan, M. Schmidt et J. Norris, Overcoming the phage replication threshold : a mathematical model with implications for phage therapy, *Journal of virology*, 2002.
- [81] R. Weld, C. Butts et J. Heinemann, Models of phage growth and their applicability to phage therapy, *Journal of theoretical biology*, 2004.
- [82] B. Wiggins et M. Alexander, Minimum bacterial density for bacteriophage replication : implications for significance of bacteriophages in natural ecosystems, *Applied and environmental microbiology*, 1985.
- [83] A. Beckerich et P. Hauduroy, Le bactériophage dans le traitement de la fièvre typhoïde, *Compt rend Soc Biol*, 1922.
- [84] W. Nungester et R. Watrous, Accumulation of bacteriophage in spleen and liver following its intravenous inoculation, in: *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1934.
- [85] I. CJ, The activity of mouse Kupffer cells following intravenous injection of T4 bacteriophage, *Clinical and experimental immunology*, 1969.
- [86] M. Geier, M. Trigg et Merrill, Fate of bacteriophage lambda in non-immune germ-free mice, *Nature*, 1973.
- [87] T. Kaur, N. Nafissi, O. Wasfi, K. Sheldon, S. Wettig et R. Slavcev, Immunocompatibility of bacteriophages as nanomedicines, *Journal of Nanotechnology*, 2012.
- [88] A. Srivastava, T. Kaido et E. Carrier, Immunological factors that affect the in vivo fate of T7 phage in the mouse, *Journal of virological methods*, 2004.
- [89] A. Górski, R. Miedzybrodzki, J. Borysowski, K. Dabrowska, P. Wierzbicki, M. Ohams et e. al, Phage as a modulator of immune responses: practical implications for phage therapy, *Advances in virus research*, 2012.

- [90] A. Kurzepa, K. Dabrowska, G. Skaradziński et A. Górski, Bacteriophage interactions with phagocytes and their potential significance in experimental therapy, *Clinical and experimental medicine*, 2009.
- [91] J. Uchiyama, Y. Maeda, I. Takemura, R. Chess-Williams, H. Wakiguchi et S. Matsuzaki, Blood kinetics of four intraperitoneally administered therapeutic candidate bacteriophages in healthy and neutropenic mice, *Microbiology and immunology*, 2009.
- [92] R. Barfoot, S. Denham, L. Gyure, J. Hall, S. Hobbs, L. Jackson et e. al, Some properties of dendritic macrophages from peripheral lymph, *Immunology*, 1989.
- [93] J. NK, The presence in normal serum of specific antibody against bacteriophage T4 and its increase during the earliest stages of immunization, *The Journal of Immunology*, 1956.
- [94] A. Górski et B. Weber-Dabrowska, The potential role of endogenous bacteriophages in controlling invading pathogens, *Cellular and molecular life sciences*, 2005.
- [95] J. Clark et J. March, Bacteriophages and biotechnology: vaccines, gene therapy and antibacterials, *Trends in biotechnology*, 2006.
- [96] B. Weber-Dabrowska, M. Zimecki, M. Mulczyk et A. Górski, Effect of phage therapy on the turnover and function of peripheral neutrophils, *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2002.
- [97] R. Miedzybrodzki, K. Switala-Jelen, W. Fortuna, B. Weber-Dabrowska, A. Przerwa, M. Lusiak-Szelachowska et e. al, Bacteriophage preparation inhibition of reactive oxygen species generation by endotoxin-stimulated polymorphonuclear leukocytes, *Virus research*, 2008.
- [98] M. Zimecki, B. Weber-Dabrowska, M. Lusiak-Szelachowska, M. Mulczyk, J. Boratynski, G. Pozniak et e. al, Bacteriophages provide regulatory signals in mitogen-induced murine splenocyte proliferation, *Cellular and Molecular Biology Letters*, 2003.
- [99] S. Kumari, K. Harjai et S. Chhibber, Evidence to support the therapeutic potential of bacteriophage Kpn5 in burn wound infection caused by *Klebsiella pneumoniae* in BALB/c mice, *Journal of microbiology and biotechnology*, 2010.

- [100] L. Debarbieux, D. Leduc, D. Maura, E. Morello, A. Criscuolo, O. Grossi et e. al, Bacteriophages can treat and prevent *Pseudomonas aeruginosa* lung infections, *Journal of Infectious Diseases*, 2010.
- [101] B. Weber-Dabrowska, M. Zimecki et M. Mulczyk, Effective phage therapy is associated with normalization of cytokine production by blood cell cultures, *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 2000.
- [102] B. Kelsall et F. Leon, Involvement of intestinal dendritic cells in oral tolerance, immunity to pathogens, and inflammatory bowel disease, *Immunological reviews*, 2005.
- [103] S. Kuhl, H. Mazure et d'Hérelle, Preparation of Therapeutic Bacteriophages, Appendix 1 from : *Le Phénomène de la Guérison dans les maladies infectieuses*, Masson et Cie, 1938.
- [104] M. Merabishvili, J. Pirnay, G. Verbeken, N. Chanishvili, M. Tediashvili, N. Lashkhi, T. Glonti et e. al, Quality-Controlled Small-Scale Production of a Well-Defined Bacteriophage Cocktail for Use in Human Clinical Trials, *PLoS ONE*, 2009.
- [105] P. A, Phage therapy-advantages over antibiotics?, *The Lancet*, 2000.
- [106] G. BF, Bacteriophages as anti-infective agents : recent developments and regulatory challenges, *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2012.
- [107] F. Vallet, Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs, *Med Sci*, 2003.
- [108] S. Stirm, W. Bessler, F. Fehmel et E. Freund-Mölbart, Bacteriophage particles with endo-glycosidase activity, *Journal of virology*, 1971.
- [109] K. Hughes, I. Sutherland et M. Jones, Biofilm susceptibility to bacteriophage attack : the role of phage-borne polysaccharide depolymerase, *Microbiology*, 1998.
- [110] S. Letkiewicz, R. Midzybrodzki, M. Ktak, E. Jończyk, B. Weber-Dakabrowska et A. Górski, The perspectives of the application of phage therapy in chronic bacterial prostatitis, *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2010.

- [111] A. Wright, C. Hawkins, E. Änggard et D. Harper, A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ; a preliminary report of efficacy, *Clinical otolaryngology*, 2009.
- [112] C. Loc-Carrillo et S. Abedon, Pros and cons of phage therapy, *Bacteriophage*, 2011.
- [113] S. Abedon et J. LeJeune, Why bacteriophage encode exotoxins and other virulence factors, *Evolutionary bioinformatics online*, 2005.
- [114] A. Meyer, J. Deiana et A. Bernard, *Cours de microbiologie générale : avec problèmes et exercices corrigés*, Wolters Kluwer France, 2004.
- [115] M. Waldor et J. Mekalanos, Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin, *Science*, 1996.
- [116] C. Magali, LA PHAGOTHÉRAPIE : HISTORIQUE ET POTENTIELLE UTILISATION CONTRE LES INFECTIONS À BACTÉRIES MULTIRÉSISTANTES, LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL, 2004.
- [117] M. Achtman, N. Kennedy et R. Skurray, Cell-cell interactions in conjugating *Escherichia coli*: role of traT protein in surface exclusion, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1977.
- [118] K. R, Structural and functional roles of the surface-exposed loops of the betabarrel membrane protein OmpA from *Escherichia coli*, *J Bacteriol*, 1999.
- [119] A. Forde et G. Fitzgerald, Molecular organization of exopolysaccharide (EPS) encoding genes on the lactococcal bacteriophage adsorption blocking plasmid, pCI658.Plasmid, 2003.
- [120] D. D. T. W. J. S. B. J. E. e. a. Meyer J. R., Repeatability and contingency in the evolution of a key innovation in phage lambda, *Science* 335, 2012.
- [121] U. Qimron, B. Marintcheva, S. Tabor et C. Richardson, Genomewide screens for *Escherichia coli* genes affecting growth of T7 bacteriophage, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006.
- [122] S. D. C et Merrill, The genome of bacteriophage K1F, a T7-like phage that has acquired the ability to replicate on K1 strains of *Escherichia coli*, *J Bacteriol*, 2005.

- [123] P. Fineran, T. Blower, I. Foulds, D. Humphreys, K. Lilley et G. Salmond, The phage abortive infection system, ToxIN, functions as a protein–RNA toxin–antitoxin pair, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009.
- [124] S. Labrie, J. Samson et S. Moineau, Bacteriophage resistance mechanisms, *Nature Reviews Microbiology*, 2010.
- [125] P. Hyman et S. Abedon, Bacteriophage host range and bacterial resistance, *Advances in applied microbiology*, 2010.
- [126] R. Capparelli, N. Nocerino, M. Iannaccone, D. Ercolini, M. Parlato et M. Chiara, Bacteriophage therapy of *Salmonella enterica* : a fresh appraisal of bacteriophage therapy, *Journal of Infectious Diseases*, 2010.
- [127] E. Lammertyn, J. Voorde, E. Meyen, L. Maes, J. Mast et J. Anné, Evidence for the presence of *Legionella* bacteriophages in environmental water samples, *Microbial ecology*, 2008.
- [128] L. Danelishvili, L. Young et L. Bermudez, In vivo efficacy of phage therapy for *Mycobacterium avium* infection as delivered by a nonvirulent mycobacterium, *Microbial Drug Resistance*, 2006.
- [129] G. Lang, P. Kher, H. Mathevon, J. Clavert, P. Séjourné et J. Pointu, Bactériophages et chirurgie orthopédique - À propos de sept cas, *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot*, 1979.
- [130] R. A, Considérations générales sur l'ostéomyélite aiguë et son traitement par le bactériophage de d'Hérelle, Paris: Congrès français de chirurgie, 1949.
- [131] P. Nicolle et J. Vieu, Actualité de la recherche médicale : recherches sur le bactériophage. I. Biologie et applications thérapeutiques actuelles, *Concours Med*, 1966.
- [132] J. Vieu, F. Guillermet, R. Minck et P. Nicolle, Données actuelles sur les applications thérapeutiques des bactériophages, *Bull Acad Natl Med*, 1976.
- [133] D. Rhoads, R. Wolcott, M. Kuskowski, B. Wolcott, L. Ward et A. Sulakvelidze, Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial, *J Wound Care*, 2009.

- [134] A. SI, Treatment of post-burns bacterial infections by bacteriophages, specifically ubiquitous *Pseudomonas* spp. notoriously resistant to antibiotics, *Med Hypotheses*, 2002.
- [135] H. C, Évaluation in vitro d'une suspension de bactériophages anti-staphylococcique à usage thérapeutique, thèse, faculté de médecine de la Pitié-Salpêtrière, Paris, 2004.
- [136] Miedzybrodzki et e. al, Clinical aspect of phage therapy, *Ryszard*, 2012.
- [137] A. Comeau et e. al, La synergie phages-antibiotiques : un enjeu pour la phagothérapie, *Medecine Sciences* n°5, volume 24, 2008.
- [138] W. Huff, G. Huff, N. Rath, J. Balog et A. Donoghue, Bacteriophage potential role in food safety, *Preharvest and Postharvest Food Safety Contemporary Issues and Future Directions*, Blackwell Publishing, 2004.
- [139] C. N, A literature review of the practical application of bacteriophage research, New York: Nova Science Publishers, 2011.
- [140] B. Biswas, S. Adhya, P. Washart, B. Paul, A. Trostel, B. Powell, R. Carlton et C. Merrill, Bacteriophage therapy rescues mice bacteremic from a clinical isolate of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, *Infection and immunity*, 2002.
- [141] S. McCallin, S. Alam Sarker, C. Barretto, S. Sultana, B. Berger, S. Huq et e. al, Safety analysis of a Russian phage cocktail: From MetaGenomic analysis to oral application in healthy human subjects, *virology*, 2013.
- [142] S. Sarker, S. McCallin, C. Barretto, B. Berger, A. Pittet, S. Sultana et e. al, Oral T4-like phage cocktail application to healthy adult volunteers from Bangladesh, *virology*, 2012.
- [143] Norman, Kingdom Agnostic Metagenomics and the Importance of Complete Characterization of Enteric Microbial Communities, *Gastroenterology*, 2014.
- [144] M. Dalmasso, C. Hill et R. Ross, Exploiting gut bacteriophages for human health, *Trends Microbiol*, 2014.
- [145] S. Modi, H. Lee, C. Spina et J. Collins, Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome, *Nature*, 2013.

- [146] M. Maltz, L. Bomar, P. Lapierre, H. Morrison, E. McClure, M. Sogin et al, Metagenomic Analysis of the Medicinal Leech Gut Microbiota, *Front Microbiol*, 2014.
- [147] D. Maura et L. Debarbieux, On the interactions between virulent bacteriophages and bacteria in the gut, *Bacteriophage*, 2012.
- [148] E. Meader, M. Mayer, D. Steverding, S. Carding et A. Narbad, Evaluation of bacteriophage therapy to control *Clostridium difficile* and toxin production in an in vitro human colon model system, *Anaerobe*, 2013.
- [149] M. Zucca, S. Scutera et D. Savoia, Novel avenues for *Clostridium difficile* infection drug discovery, *Expert Opin Drug Discov*, 2013.
- [150] F. S, Role of Phages in the Epidemiology of Cholera, in *Cholera Outbreaks*, GB Nair and Y Takeda, Springer Berlin Heidelberg, 2014.
- [151] A. Jaiswal, H. Koley, A. Ghosh, A. Palit et B. Sarkar, Efficacy of cocktail phage therapy in treating *Vibrio cholerae* infection in rabbit model, *Microbes Infect*, 2013.
- [152] A. Maina, F. Mwaura, J. Oyugi, D. Goulding, A. Toribio et S. Kariuki, Characterization of *Vibrio cholerae* Bacteriophages Isolated from the Environmental Waters of the Lake Victoria Region of Kenya, *Curr Microbiol*, 2014.
- [153] P. Lehours, F. Vale, M. Bjursell, O. Melefors, R. Advani, S. Glavas et e. al, Genome sequencing reveals a phage in *Helicobacter pylori*, *MBio*, 2011.
- [154] J. Uchiyama, H. Takeuchi, S. Kato, K. Gamoh, I. Takemura-Uchiyama, T. Ujihara et e. al, Characterization of *Helicobacter pylori* bacteriophage KHP30, *Appl Environ Microbiol*, 2013.
- [155] Q.-H. Zou et W. Wei, Phage Therapy: Promising For *H.pylori* Infection, *Clin Microbial*, 2013.
- [156] M. Merabishvili, D. De Vos, G. Verbeken, A. Kropinski, D. Vandenneuvel, R. Lavigne et e. al, Selection and Characterization of a Candidate Therapeutic Bacteriophage That Lyses the *Escherichia coli* O104:H4 Strain from the 2011 Outbreak in Germany, *PLoS One*, 2012.

- [157] J. Wagner, J. Maksimovic, G. Farries, W. Sim, R. Bishop, D. Cameron et e. al, Bacteriophages in Gut Samples From Pediatric Crohn's Disease Patients: Metagenomic Analysis Using 454 Pyrosequencing, *Inflamm Bowel Dis*, 2013.
- [158] D. Vandenheuvel, A. Singh, K. Vandersteegen, J. Klumpp et R. Lavigne, Van den Mooter G. Feasibility of spray drying bacteriophages into respirable powders to combat pulmonary bacterial infections, *Eur J Pharm Biopharm*, 2013.
- [159] B. H, Pseudomonas biofilms, cystic fibrosis, and phage: a silver lining?, *MBio*, 2012.
- [160] M. Henry, R. Lavigne et L. Debarbieux, Predicting in vivo efficacy of therapeutic bacteriophages used to treat pulmonary infections, *Antimicrob Agents Chemother*, 2013.
- [161] L. Grammatico-Guillon, S. Baron, S. Gettner, A.-I. Lecuyer, C. Gaborit, P. Rosset et e. al, Surveillance hospitalière des infections ostéo-articulaires en France : analyse des données médico-administratives, *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, 2013.
- [162] A. Seth, M. Geringer, K. Nguyen, S. Agnew, Z. Dumanian, R. Galiano et e. al, Bacteriophage therapy for Staphylococcus aureus biofilm-infected wounds: a new approach to chronic wound care, *Plast Reconstr Surg*, 2013.
- [163] C. Chen, Y. Chen, P. Wu et B. Chen, Update on new medicinal application of gentamicin: Evidence-based review, *J Formos Med Assoc*, 2014.
- [164] S. Kaur, K. Harjai et S. Chhibber, Bacteriophage Mediated Killing of Staphylococcus aureus In Vitro on Orthopaedic K Wires in Presence of Linezolid Prevents Implant Colonization, *PLoS One*, 2014.
- [165] S. Chhibber, T. Kaur et K. Sandeep, Co-Therapy Using Lytic Bacteriophage and Linezolid: Effective Treatment in Eliminating Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from Diabetic Foot Infections, *PLoS One*, 2013.
- [166] J. Mendes, C. Leandro, S. Corte-Real, R. Barbosa, P. Cavaco-Silva, J. Melo-Cristino et e. al, Wound healing potential of topical bacteriophage therapy on diabetic cutaneous wounds, *Wound Repair Regen*, 2013.
- [167] J. Mendes, C. Leandro, C. Mottola, R. Barbosa, F. Silva, M. Oliveira et e. al, In vitro design of a novel lytic bacteriophage cocktail with therapeutic potential against organisms causing diabetic foot infections, *J Med Microbiol*, 2014.

- [168] C. Hawkins, D. Harper, D. Burch, E. Anggard et J. Soothill, Topical treatment of *Pseudomonas aeruginosa* otitis of dogs with a bacteriophage mixture: A before/after clinical trial, *Vet Microbiol*, 2010.
- [169] A. Drilling, S. Morales, C. Jardeleza, S. Vreugde, P. Speck et P. Wormald, Bacteriophage reduces biofilm of *Staphylococcus aureus* ex vivo isolates from chronic rhinosinusitis patients, *Am J Rhinol Allergy*, 2014.
- [170] M. Ly, S. Abeles, T. Boehm, R. Robles-Sikisaka, M. Naidu, T. Santiago-Rodriguez et al, Altered oral viral ecology in association with periodontal disease, *MBio*, 2014.
- [171] A.-J. AN, Genomic library screening for viruses from the human dental plaque revealed pathogen-specific lytic phage sequences, *Curr Microbiol*, 2012.
- [172] K. Fukuda, W. Ishida, J. Uchiyama, M. Rashel, S. Kato, T. Morita et al, *Pseudomonas aeruginosa* Keratitis in Mice : Effects of Topical Bacteriophage KPP12 Administration, *PLoS One*, 2012.
- [173] H. GF, Science Education Alliance Phage Hunters Advancing G, Evolutionary Science P, KwaZulu-Natal Research Institute for T, Course HIVMG, University of California-Los Angeles Research Immersion Laboratory in V, et al. Complete Genome Sequences of 63 Mycobacteri, *Genome Announc*, 2013.
- [174] G. Trigo, T. Martins, A. Fraga, A. Longatto-Filho, A. Castro, J. Azeredo et al, Phage Therapy Is Effective against Infection by *Mycobacterium ulcerans* in a Murine Footpad Model, *PLoS Negl Trop Dis*, 2013.
- [175] S. Basra, H. Anany, L. Brovko, A. Kropinski et M. Griffiths, Isolation and characterization of a novel bacteriophage against *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis, *Arch Virol*, 2014.
- [176] A. Dublanchet, Qu'est-ce que la phagothérapie?, aln editions, 2014.
- [177] P. H, From russia with gloves : Ex-Soviet Union viruses could fill antibiotic gap, *Nature News Service - Experimental Biology*, 2002.
- [178] G. Verbeken, D. De Vos, M. Vaneechoutte, M. Merabishvili, M. Zizi et J.-P. Pirnay, European Regulatory Conundrum of Phage Therapy, *Future Microbiology*, 2007.

- [179] J. Pirnay, D. De Vos, G. Verbeken, M. Merabishvili, N. Chanishvili, M. Vaneechoutte, M. Zizi et al, The Phage Therapy Paradigm : Prêt-À-Porter or Sur-mesure ?, Pharmaceutical Research, 2011.
- [180] A. Henein, What are the limitations on the wider therapeutic use of phage?, Bacteriophage, 2013.

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

قسم أبقر اط

بسم الله الرحمن الرحيم أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- أكرس حياتي لخدمة الإنسانية.
- وأنا أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه.
- وأنا أمارس مهنتي بوازع من ضميري وشرفي جاعلا صحة مريض هدي الأول.
- وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي.
- وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب.
- وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي.
- وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي.
- وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها.
- وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد.
- بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بالله.

والله على ما أقول شهيد

جامعة محمد الخامس - الرباط
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 95

سنة: 2017

التداوي بالعائيات، فيروسات

لمقاومة التعفّنات البكتيرية.

أطروحة:

قدمت ونوقشت علانية يوم:
من طرفه

السيد: زكرياء المعتمم
المزداد في 18 غشت 1990 بالرباط

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: عائيات - التداوي بالعائيات - المضادات الحيوية - التعفّنات - البكتيريات
المقاومة.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة:

رئيس

السيد: ميمون زوهدي

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

مشرفة

السيدة: مريم الشادلي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

السيد: عبد القادر لعيريس

أستاذ في علم الصيدلة الغالينية

أعضاء

السيدة: سعيدة طلال

أستاذة في علم الأحياء الكيميائية

السيد: ياسين سخوخ

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة