Lycée Ermesinde
Lycée public autonome à plein temps

Mémoire 2e

-

L’utilisation des bactériophages dans la médecine

Nils Camacho

2CC Mersch

Directrice de mémoire : Sophie Steinmetz

Année scolaire 2024-2025

Table des matières

Introduction 3
Chapitre 1 : Qu'est-ce qu'un bactériophage ? 4
Structure des bactériophages 4
La reproduction chez les bactériophages 9
Cycle lytique 9
Cycle lysogénique 10
Chapitre 2 : L'utilisation des bactériophages dans la médecine humaine 11
La découverte des bactériophages et le début de leur utilisation en médecine 11
La menace grandissante de l'antibiorésistance 13
Le fonctionnement de la phagothérapie 14
La production de phages 14
L'application de la thérapie de phages 16
L'ingénierie de phages (phage engineering) 16
Exemples d'essais cliniques récents 18
Les obstacles qui restent à franchir 20
Les avantages de la thérapie de phages 22
Conclusion 24
Bibliographie 25

Introduction

Comme le nom l'indique, les bactériophages sont des virus « mangeurs de bactérie ». Ils infectent donc uniquement des bactéries.

Ces virus, découverts il y a plus d'un siècle, ont suscité l'intérêt des chercheurs, qui ont eu l'idée d'utiliser les phages pour combattre des bactéries pathogènes chez l'humain. En effet, les phages sont les plus grands prédateurs naturels des bactéries, mais en plus, ils ne s'attaquent pas aux cellules du corps humain, puisqu'ils ne sont pas équipés pour les infecter. Mais pourquoi vouloir utiliser ces virus pour combattre des infections bactériennes, alors que nous possédons déjà une arme redoutable qui remplit cette fonction, les antibiotiques ?

En fait, après des décennies d'utilisation fréquente (et souvent abusive) des antibiotiques, aussi bien en médecine qu'en agriculture, des bactéries ont commencé à muter pour devenir insensibles à ces médicaments. Ces souches résistantes sont aussi appelées « superbactéries ». Celle-ci posent un très gros problème, car si les antibiotiques deviennent inefficaces, comment sommes-nous censés arrêter une infection ? Or, depuis l'émergence de ses souches antibiorésistantes, de plus en plus sont apparues au fil des années, jusqu'au point ou celles-ci ont commencé à sérieusement inquiéter les chercheurs, qui craignent une catastrophe sanitaire mondiale. C'est pourquoi ils ont commencé à envisager des alternatives aux antibiotiques. Parmi elles, l'une des plus connues et prometteuses est la thérapie de phages.

La thérapie de phages, une méthode fascinante consistant à administrer des bactériophages au patient infecté, est en effet très en vogue depuis les dernières années, car elle s'impose comme une solution très efficace et peu voire non-toxique. De plus, ils ciblent des souches bactériennes spécifiques et perturbent peu l'équilibre microbien chez l'homme, a l'inverse des antibiotiques, qui sont connus pour perturber le microbiote (Hibstu et al., 2022).

Dans ce mémoire, nous allons explorer dans un premier temps les caractéristiques des virus passionnants et mystérieux que sont les bactériophages, avant de nous lancer à la découverte de l'utilisation de la thérapie de phages dans la médecine, qui pourrait révolutionner la médecine dans les prochaines années.

Chapitre 1 : Qu’est-ce qu’un bactériophage ?

Les bactériophages comptent parmi les entités les plus présentes dans notre biosphère : on les trouve partout ou des bactéries existent (Bacteriophage, Wikipedia, 2024), notamment la mer et le sol. Des études estiment même qu’il y aurait environ 10^{31} bactériophages sur terre, donc plus que n’importe quel autres entités présentes dans la biosphère (Bacteriophage, Wikipedia, 2024). Il existe beaucoup d’espèces différentes de bactériophages divisées en 13 familles différentes. Cette classification est basée sur la forme, la taille, les types d’acides nucléiques et la présence ou l’absence d’une enveloppe (capsule extérieure) dans leur structure (Yusuf, 2018). Parmi ces 13 familles, on peut citer l’une des plus connues, appelée *Straboviridae*. Cette famille de phages est connue car elle comprend le phage T4 (nom complet : Escherichia-Phage T4 ou nom latin : *Tequatrovirus T4*), qui compte parmi les phages les plus étudiés, notamment à cause de sa capacité à infecter la bactérie *E. Coli* : en effet, les phages sont généralement spécifiques à une ou plusieurs espèces de bactéries ; cette spécificité est déterminée par la nature de certains récepteurs présents sur la membrane de l’hôte, auquel le phage pourra se fixer ou non. De plus, la spécificité des phages est également déterminée par les défenses génétiques et physiques employées par l’hôte (les mécanismes de défense ont un impact différent selon le type de phage) (Hibstu et al., 2022).

Structure des bactériophages

Comme on peut le voir sur l’image ci-contre, les bactériophages ont une forme très caractéristique : la tête (une capside ayant la forme d’un icosaèdre), montée sur une longue queue et terminé par de longues fibres caudales faisant office de « pattes ». Il faut garder à l’esprit que cette image représente la structure des *myoviridae*, terme utilisé pour se référer à la morphologie des virus ayant précédemment appartenu à la famille maintenant abolie des *myoviridae*, dont le phage T4 faisait également partie (Myoviridae, Wikipedia, 2024). Il y a, comme déjà évoqué avant, une multitude d’autres espèces de phages, dont la structure diffère plus ou moins de celle représentée sur l’image. Toutefois, comme le bactériophage T4 est le phage le plus étudié, c’est sa structure de *myoviridae* que nous aborderons en détail dans ce chapitre. Bien que la structure des phages varie selon les espèces, l’étude de la structure du phage T4 vous donnera une idée de la structure que peuvent avoir les autres phages.

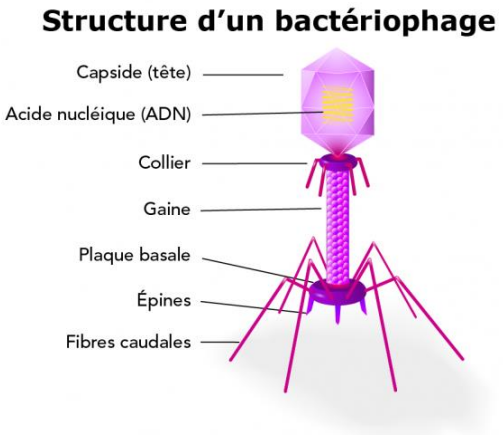


Image tirée de parlonssciences.ca

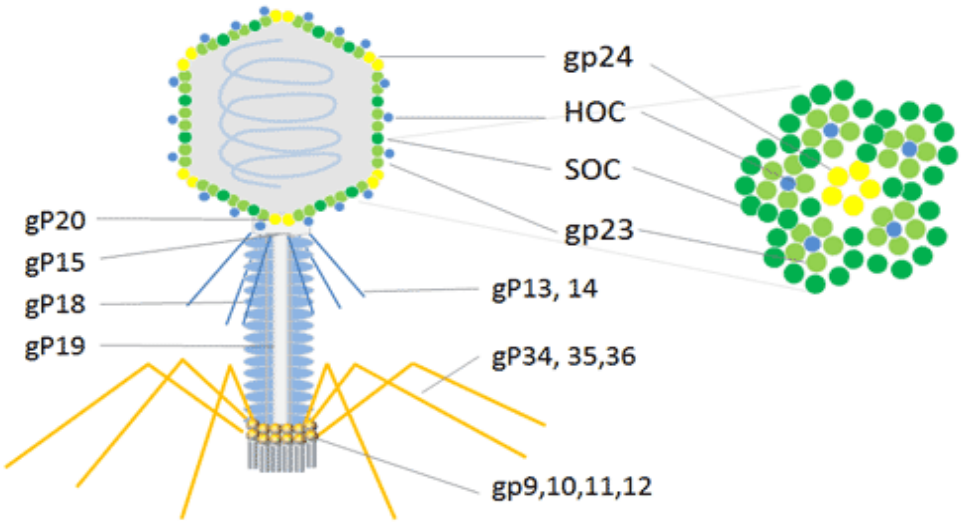
La tête (capside)

La capside sert à encapsider (contenir) le matériel génétique du phage. Dans le cas du phage T4, la capside mature contient 172 kpb (kilo paires de bases, donc 1 kpb = 1000 pb) d'ADN à double brin (Yap & Rossmann, 2014). La capside de T4 est formée de trois protéines essentielles (Black & Rao, 2012) :

1. La protéine gp23 (gp est une abréviation pour « gene product »), ou major capsid protein : Cette protéine s'auto-associe pour former des hexamères, construisant la majeure partie de la capside (CAPSH_BPT4, Uniprot, 2024).
2. La protéine gp24, ou capsid vertex protein : Cette protéine s'auto-associe pour former des pentons, construisant la capside en association avec des hexamères de la protéine de capside majeure et un dodécamère de la protéine portail (CAPSP_BPT4, Uniprot, 2024).
3. La protéine gp20, ou Portal protein : Forme le sommet du portail de la capside. Ce portail joue un rôle essentiel dans l'assemblage de la tête, l'empaquetage du génome, l'attachement du cou et de la queue et l'éjection du génome. C'est à travers ce portail que l'ADN entre pour l'empaquetage du génome et sort pendant l'infection (PORTL_BPT4, Uniprot, 2024).

En plus des trois protéines principales gp23, gp24 et gp20, la tête du phage T4 est également formée de deux autres protéines non-essentielles : les protéines SOC (small outer capsid protein), qui se lie aux protéines gp23 pour renforcer la structure de la capside et HOC (highly antigenic outer capsid protein). Si une mutation venait à surgir sur l'une des deux protéines, cela n'affecterait nullement le phage (Cusabio, s.d.).

La structure étant assez compliquée à s'imaginer, veuillez-vous référer à l'image ci-dessous pour mieux comprendre.



Structure et organisation des protéines du phage T4.

Image tirée de Cusabio

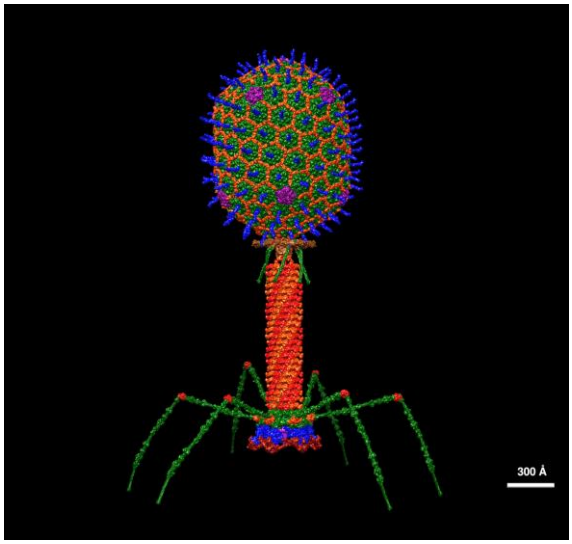
La queue

La queue du bactériophage T4 est divisée en deux parties : le cou et la gaine. Cette queue peut être trouvée, sous des formes plus ou moins différentes, chez approximativement 96% des phages connus à ce jour (A. Aksyuk & al., 2009).

Le cou des bactériophages est orné de structures appelées « collar » (collier) et « whiskers » (moustaches), composées de molécules de fibritine. La fibritine joue un rôle de chaperon (« chaperone » en anglais) en aidant à attacher les longues fibres de queue au virus pendant le processus d'assemblage (Fokine et al., 2013). Le terme chaperon désigne en microbiologie des protéines qui aident d'autres protéines à se replier correctement pendant ou après la synthèse, à se replier après une dénaturation partielle et à se déplacer vers les sites cellulaires où elles résident et fonctionnent (Arjamaa & Nikinmaa, 2006). Des analyses au microscope cryo-électronique ont suggéré que 12 molécules de fibritine s'attachaient au cou du phage, dont 6 formants le collier et 6 formants les moustaches (Fokine et al., 2013).

Le collier et les moustaches agissent comme des dispositifs de détection de l'environnement, régulant la rétraction des longues fibres de queue dans des conditions défavorables pour éviter une infection.

La queue du bactériophage est aussi constituée d'une gaine entourant un long tube non contractile à la base duquel sont attachées les fibres contractiles qui constituent la queue. Ces fibres sont disposées de manière hélicoïdale formant un cylindre (voir image ci-contre). La fonction contractile de la queue sera utile au virus pour le processus d'infection. La gaine est formée de 138 copies de la protéine gp18 (tail sheath protein), entourant le tube central non-contractile de la queue. On estime que le tube de la queue à l'intérieur de la gaine est assemblé à partir d'autant de sous-unités gp19 (tail tube protein) qu'il y a de sous-unités gp18 dans la gaine.



Modèle structurel à résolution atomique du bactériophage T4. (Wikipédia)

Au cours de l'infection, après l'attachement des fibres de la queue à la cellule hôte, la plaque basale change de forme, causant la contraction de la gaine, passant d'une longueur initiale de 925 Å à une longueur finale de 420 Å, tandis que son diamètre passe de 240 à 330 Å. La contraction de la gaine entraîne le tube central à travers la membrane externe de l'organisme infecté, créant ainsi un canal pour l'éjection de l'ADN de la capside dans la cellule hôte (A. Aksyuk & al., 2009). Nous aborderons ce mécanisme plus en détail dans les chapitres qui suivront.

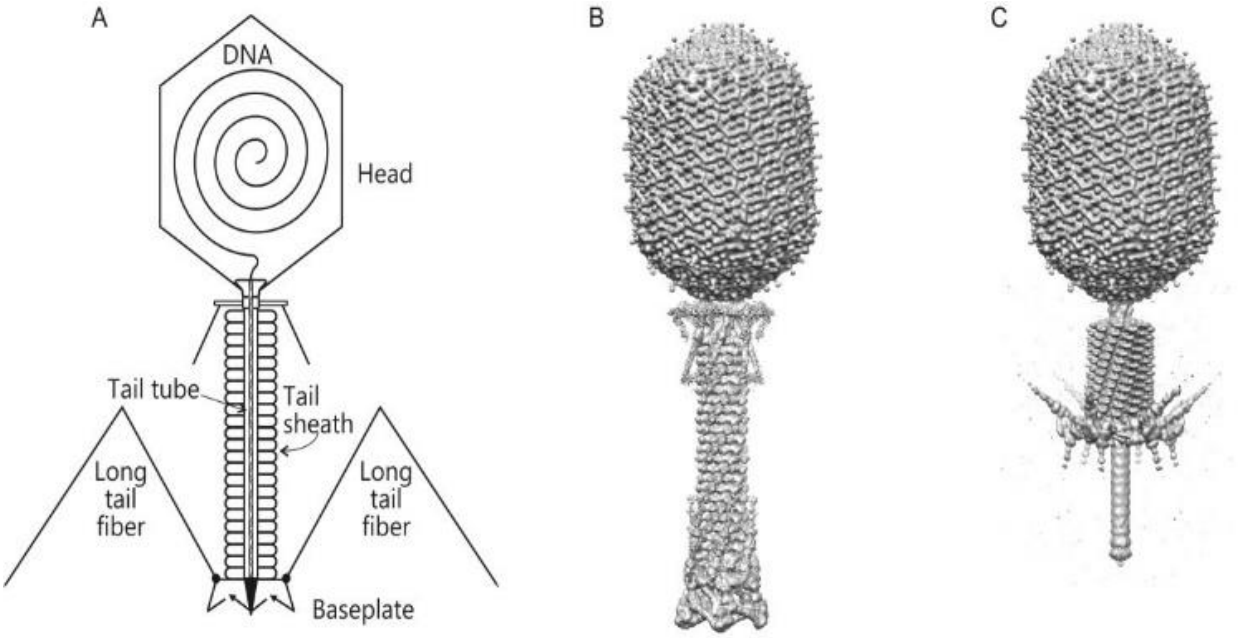


Image issue de *Virology Journal* → Lien

L'image ci-dessus montre à l'aide d'un schéma simplifié la structure générale du phage T4 (A). Elle montre également deux images la structure moléculaire du phage dérivées d'images prises au microscope cryo-électronique (B,C). Le schéma B, montre la structure du phage avant la fixation à une cellule hôte tandis que l'image C nous montre sa structure après la fixation. On constate la contraction de la gaine.

L'image ci-dessous illustre le mécanisme d'injection du matériel génétique par le phage T4. On voit ici encore une fois la contraction de la gaine.

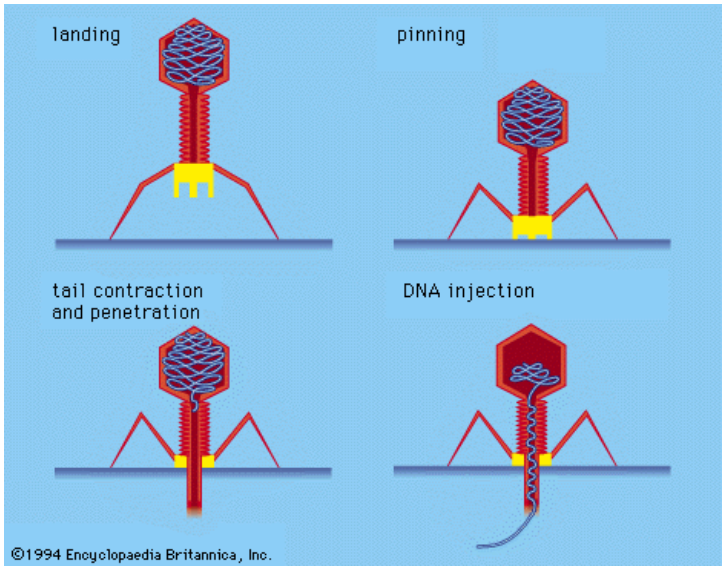


Image provenant de Britannica

La plaque basale

La plaque basale (base-plate en anglais) est située à l'extrémité inférieure de la queue du bactériophage T4. Elle est composée de plusieurs protéines organisées de manière à former une plateforme fonctionnelle. Sa forme de base est un dôme hexagonal mesurant 270 Å de haut et de 520 Å de diamètre. Comme déjà expliqué auparavant, lors du processus d'infection, la plaque basale va changer de forme : elle passe alors d'une forme de dôme hexagonal, dite « à basse énergie » à une forme d'étoile de 120 Å de hauteur et un diamètre de 610 Å, dite « à haute énergie ». Ce changement de forme est rendu possible par la structure cristalline de neuf protéines de la plaque basale (gp11, gp10, gp8, gp6, gp25, gp9, gp12, gp5 et gp27), qui ont déjà partiellement ou complètement été déterminées. Cette structure particulière permet aux protéines de « glisser » les unes sur les autres pour finalement prendre la forme d'étoile souhaitée (Yap & Rossmann, 2014).

Les fibres caudales

Les fibres caudales sont de longues structures protéiques présentes à l'extrémité de la queue du phage ayant notamment pour rôle la liaison sur des récepteurs spécifiques présents à la surface de la membrane cellulaire de la cellule hôte, comme par exemple les porines transmembranaires. Elles jouent également un rôle majeur dans le processus d'infection de la cellule hôte.

Le bactériophage T4 possède deux types de fibres caudales : les fibres caudales longues (long tail fibers) et les fibres caudales courtes (short tail fibers). Les fibres caudales longues ressemblent à de longues pattes et sont responsables de la fixation avec les récepteurs de la cellule hôte. Les fibres caudales courtes sont quant-à-elles, comme indiqué dans leur nom, beaucoup plus courtes et ressemblent plutôt à des épines. Elles se trouvent à l'extrémité inférieure de la plaque basale. Elles n'interviennent qu'après que les fibres caudales longues se soient fixées sur la cellule hôte. Leur fixation sur la membrane externe déclenche le processus d'infection comprenant : une ouverture de la base de la queue, une contraction de la gaine externe de la queue et une pénétration du tube interne de la queue à travers la membrane externe et la paroi cellulaire fournissant un chemin pour l'entrée du génome dans la cellule.

La reproduction chez les bactériophages

Comme tous les virus, les bactériophages ne sont pas capables de se reproduire seuls : ils ont besoin d'une cellule hôte pour se multiplier, en l'occurrence une bactérie. Cependant, les espèces de bactéries que les phages peuvent infecter diffère pour chaque espèce de phage. Le phage T4 par exemple peut infecter la bactérie *Escherichia Coli*.

Le cycle de reproduction du phage dépend uniquement de sa cellule hôte. Il existe chez les bactériophages, comme chez les autres virus, deux méthodes de reproduction : La première est le cycle lytique et la deuxième est le cycle lysogénique (ou lysogénie). La plupart des phages sont des phages dits « lytiques », qui pratiquent uniquement la reproduction par cycle lytique. Il existe quelques phages dits « tempérés » qui possèdent la capacité unique d'induire un cycle lysogénique à partir du cycle lytique dans certaines situations particulières (Sinha et al., 2018).

Cycle lytique

Lors du cycle lytique, le virus introduit son génome à l'intérieur de la cellule hôte et détourne sa machinerie cellulaire de façon à ce que la cellule se mette à produire de nouvelles copies du virus. Une fois ce processus terminé, les nouvelles copies du virus vont être libérées dans le milieu extérieur par lyse (destruction de la membrane) de la cellule hôte. Une fois libérées, les nouveaux virus vont pouvoir perpétuer le cycle d'infection. Le schéma ci-dessous illustre le cycle de reproduction :

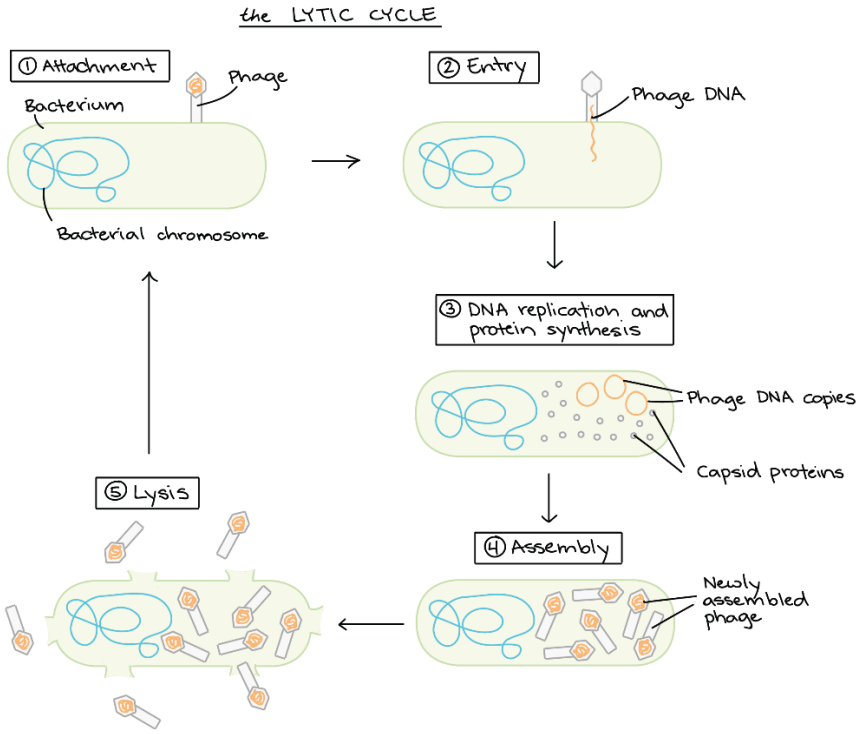


Image tirée de Khan Academy

Parmi les phages pratiquant le cycle lytique, on peut citer entre autres les phage T4. Il est important de noter que l'infection par cycle lytique provoque une forte mortalité des hôtes microbiens (D.Weynberg, 2018).

Cycle lysogénique

Le cycle lysogénique commence également avec l'intégration du génome du phage dans la cellule hôte. Cependant, ici, le génome du phage est intégré dans le chromosome de l'hôte à des sites spéciaux appelés « sites d'attachement ». Ceci mécanisme implique que la cellule hôte reste intacte, contrairement au mécanisme lytique. Après l'intégration, le génome du phage se multiplie dans le génome de l'hôte à chaque division cellulaire. Cette version intégrée du génome du phage dans le génome de l'hôte est appelée prophage.

Cette conversion lysogénique se produit dans certaines conditions telles qu'une faible densité de cellules hôtes, une faible disponibilité de nutriments, etc. En effet, si la densité cellulaire de l'hôte est faible, les particules de phage nouvellement libérées trouveront difficilement une cellule hôte non infectée pour une nouvelle infection.

Lorsque des conditions adéquates, telles qu'une augmentation du nombre de cellules hôtes ou la suppression des limites imposées à la quantité de nutriments, se présentent à nouveau à l'avenir, les prophages déplacent leur génome hors du génome de l'hôte et se répliquent dans les cellules de l'hôte pour produire de nouvelles particules de phages. On passe alors d'un cycle lysogénique à un cycle lytique (Sinha et al., 2018).

Le mécanisme du cycle lysogénique est illustré sur le schéma ci-dessous :

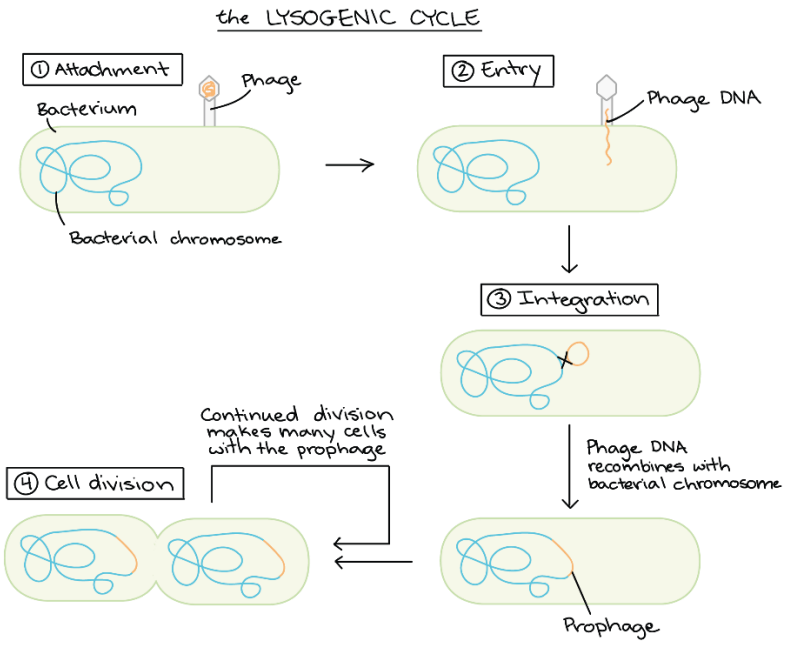


Image tirée de Khan Academy

Ci-dessous, vous pouvez voir un petit schéma complémentaire au schéma illustrant le cycle lysogénique. Il illustre le passage du cycle lysogénique vers le cycle lytique.

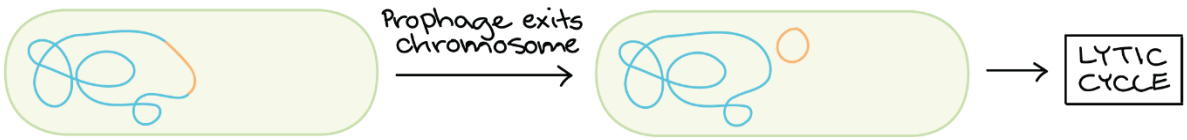


Image tirée de Khan Academy

Chapitre 2 : L'utilisation des bactériophages dans la médecine humaine

Comme déjà évoqué dans l'introduction, les traitements à base bactériophages servent d'alternative aux antibiotiques, qui sont en ce moment en train d'entraîner la formation de bactéries antibiorésistantes très difficiles à combattre. En effet, la peur de retourner à une phase dite « pré-antibiotique » (avant leur invention) est grandissante chez les médecins et les chercheurs, ce qui fait de la recherche de traitements alternatifs aux antibiotiques est actuellement une priorité mondiale (Sulakvelidze et al., 2001).

La découverte des bactériophages et le début de leur utilisation en médecine

L'histoire de la découverte des bactériophages a fait l'objet de longs débats, y compris une controverse sur les revendications de priorité.

Ernest Hankin, bactériologiste britannique, rapporte en 1896 la présence d'une activité antibactérienne marquée (contre Vibrio cholerae) qu'il a observée dans les eaux du Gange et de la Jumna en Inde, et il suggère qu'une substance non identifiée (qui passe à travers de fins filtres de porcelaine et qui est thermolabile) est responsable de ce phénomène et de la limitation de la propagation des épidémies de choléra. Deux ans plus tard, le bactériologiste russe Gamaleya a observé un phénomène similaire alors qu'il travaillait avec Bacillus subtilis, et les observations de plusieurs autres chercheurs seraient également liées au phénomène des bactériophages. Cependant, aucun de ces chercheurs n'a approfondi ses découvertes jusqu'à ce que Frederick Twort, un bactériologiste anglais de formation médicale, réintroduise le sujet près de 20 ans après l'observation de Hankin en rapportant un phénomène similaire et en avançant l'hypothèse qu'il pourrait être dû, entre autres, à un virus. Cependant, pour diverses raisons, dont des difficultés financières, Twort n'a pas poursuivi cette découverte et il a fallu attendre 2 ans pour que les bactériophages soient « officiellement » découverts par Félix d'Hérelle, un microbiologiste franco-canadien de l'Institut Pasteur de Paris, en 1917 (Sulakvelidze et al., 2001). Il publiera la même

année, en septembre, une brève note dans le prestigieux Journal *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, ou il décrira les bactériophages comme des « parasites intracellulaires obligatoires ».

Peu après cette découverte, en 1919, d'Herelle commença à utiliser des bactériophages pour soigner des patients atteints de dysenterie, une maladie infectieuse du côlon causée par diverses bactéries. Ces essais furent menés à l'hôpital des Enfants-Malades à Paris. Avant d'administrer le traitement aux malades, d'Herelle et d'autres membres du personnel de l'hôpital ingéraient la préparation à base de bactériophages afin d'en tester la sécurité. N'ayant souffert d'aucun effet indésirable, d'Hérelle décida d'administrer la préparation à un garçon âgé de 12 ans atteint de la maladie le jour d'après. Un jour seulement après l'ingestion de la dose, le garçon ne manifestait déjà plus de symptômes, et quelques jours plus tard, il était entièrement rétabli. L'efficacité du traitement fut confirmée dans les jours qui suivirent, lorsque d'autres patients furent guéris de la maladie après l'ingestion d'une dose de préparation de phages antidysentérique.

Félix d'Hérelle vers 1905 (Gallica)

À partir de cette découverte, la recherche sur les phages et leur utilisation en médecine humaine a continuée pendant environ 15 ans. Cependant, ce domaine de recherche a été largement impacté par la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1928 : L'activité à large spectre de la pénicilline et des futurs antibiotiques contre les infections bactériennes était considérée comme un avantage par rapport aux phages, qui exigent que les bactéries expriment des molécules de surface spécifiques auxquelles le phage peut se lier et qu'elles ne disposent pas de défenses intracellulaires capables d'inactiver le phage après son entrée. (A. Strathdee et al., 2023). Suite à cela, la recherche axée sur les phages a véritablement été laissée de côté pendant presque cinquante ans.

Même si certains pays comme l'URSS et la Géorgie ont continué à faire de la recherche sur l'utilisation thérapeutique des phages, c'est un domaine de la recherche qui est resté injustement méconnu, notamment parce que les publications majeures sur le sujet n'étaient pas en Anglais (Sinha et al., 2018).

Toutefois, ce domaine de recherches a regagné en popularité, en partie grâce aux travaux de Smith et Huggins (Smith & Huggins, 1982) portant sur un traitement efficace contre *Escherichia coli* testé sur des souris infectées, mais aussi, plus récemment, à cause de l'émergence de diverses souches microbiennes résistantes aux antibiotiques et l'énorme risque sanitaire qu'elles posent. Depuis, plusieurs études ont mené à des essais de traitements fructueux, comme par exemple contre le choléra et des infections causées par *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Abedon & Kuhl et al., 2011).

La menace grandissante de l’antibiorésistance

Comme déjà plusieurs fois mentionné auparavant, l’intérêt croissant pour les bactériophages s’explique par le fait que les chercheurs et médecins placent beaucoup d’espoir dans la phagothérapie, alternative aux antibiotiques qui sont en train de devenir inefficaces contre de plus en plus de bactéries.

L'augmentation de l’antibiorésistance s'explique notamment par la mauvaise utilisation et la surutilisation des antibiotiques dans l'industrie alimentaire, l'élevage et la médecine, ainsi que par la diminution de la réserve d'antibiotiques, les sociétés pharmaceutiques se désengageant de plus en plus de la découverte et du développement d'antibiotiques. En outre, certains agents pathogènes sont intrinsèquement résistants aux antibiotiques et sont difficiles à traiter avec les agents actuellement disponibles (A. Strathdee et al., 2023).

L’antibiorésistance risque sérieusement de menacer l’humanité : une analyse publiée en 2022 par Christopher J L Murray et son équipe étudiant les morts associées à l’AMR (antimicrobial resistance) pour 23 agents pathogènes et 88 combinaisons agent pathogène-médicament dans 204 pays et territoires a estimé qu’en 2019, 4.95 millions de morts sont associées à l’AMR dont 1.27 million de morts directement attribuables à l’AMR. Ces chiffres restent bien entendu des estimations faites grâce à un modèle statistique prédictif pour produire des estimations pour toutes les localités, y compris celles pour lesquelles il n'y a pas de données, mais ces estimations nous donnent déjà une idée de l’ampleur du problème qu’est l’antibiorésistance (J L Murray et al., 2022). Notons également que parmi les 23 agents pathogènes étudiés, 6 sont responsables de la majorité des décès associées ou attribués : *Escherichia coli*, suivie de *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Streptococcus pneumoniae, Acinetobacter baumannii*, et *Pseudomonas aeruginosa*. Tous ces agents pathogènes figurent d’ailleurs sur la liste des bactéries prioritaires pour la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques de l’ONU, publiée en 2017, témoignant une fois de plus leur dangerosité (WHO, 2017).

Si nous n’opérons pas rapidement un changement majeur des tendances médicales actuelles, le problème de l’antibiorésistance prendra rapidement des proportions très inquiétantes : d’après une estimation faite en 2014 présidée par l’économiste Jim O’Neill, 300 millions de personnes mourront prématurément à cause de la résistance aux antibiotiques au cours des 35 prochaines années. En plus de cela, l’antibiorésistance aurait aussi d’énormes répercussions économiques : elle causerait d’après les estimations un PIB mondial inférieur de 2 à 3,5 % à ce qu'il serait autrement en 2050. Cela signifie que d'ici 2050, le monde peut s'attendre à perdre entre 60 et 100 000 milliards de dollars de production économique si la résistance aux médicaments antimicrobiens n'est pas combattue (O'Neill, 2014).

Ces estimations justifient donc la poursuite impérative de la recherche sur les bactériophages, sans quoi l’humanité sera mise à rude épreuve.

Le fonctionnement de la phagothérapie

La phagothérapie (ou thérapie de phages) consiste en l'administration de phages lytiques ou de protéines lytiques purifiées de phages à un patient malade afin de rapidement tuer les bactéries pathogènes. Les phages tempérés ne sont pas utilisés pour les thérapies car ceux-ci sont susceptibles de maintenir un certain nombre d'individus bactériens en vie s'ils venaient à entrer dans un cycle lysogénique (voir « cycle lysogénique », p.11) (Hibstu et al., 2022).

Dû à la haute spécificité des phages, la nature du « cocktail de phages » administré au patient dépend de la bactérie visée par le traitement. Pour préparer un traitement individualisé au patient, il faut alors tout d'abord prélever un échantillon de bactéries qui causent l'infection dont souffre le patient. Ces bactéries seront alors cultivées en laboratoire et mis en contact avec un mélange de différents phages. Les phages capables d'infecter la bactérie vont se multiplier jusqu'à ce que toutes les bactéries soient neutralisées. Le milieu de culture contient à la fin un grand nombre de phages (dont la majorité est capable d'infecter la bactérie ciblée). Ceux-ci vont alors être purifiés et finalement administrés au patient malade afin de tuer les bactéries responsables de l'infection. Enfin, lorsque plus aucune bactérie à infecter n'est présente dans l'organisme du patient, les phages disparaissent (INSERM, 2021).

L'administration de phages peut se faire de différentes manières selon la nature de la bactérie responsable de l'infection et de la localisation de l'infection. Les différentes possibilités d'administration de phages seront évoquées dans le chapitre concernant l'application de la thérapie de phages.

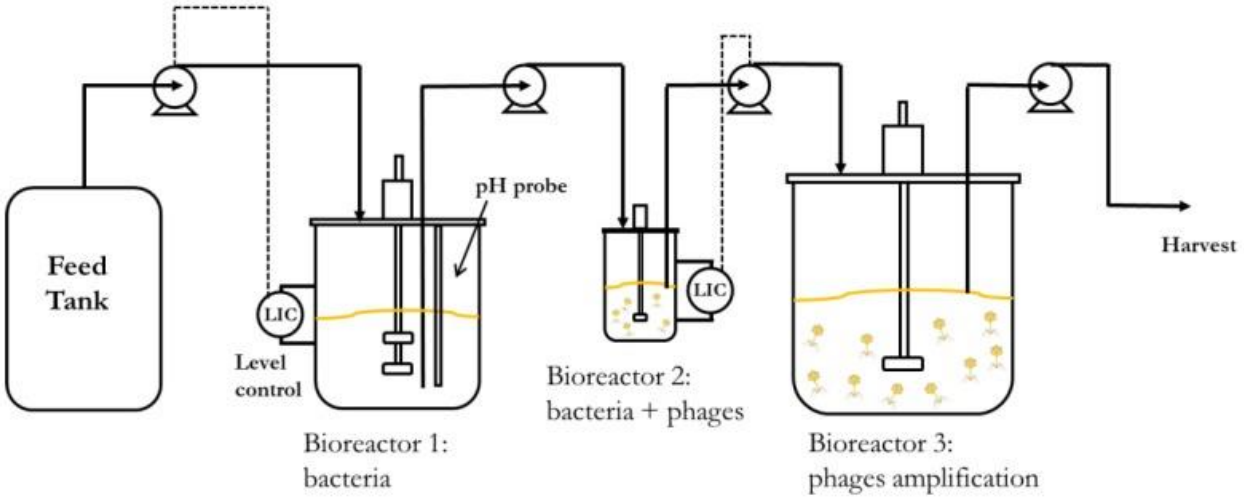
La production de phages

Durant les dernières décennies, plusieurs méthodes de productions de phages à but thérapeutique ont déjà été explorées. Parmi les plus prometteuses, on peut citer :

- La méthode « phage on tap », développée en 2018 par Bonilla et Barr qui permet une production rapide et efficace et surtout un rendu homogène et à haut titre (jusqu'à 10^{10-12} PFU/mL, le PFU/ml étant une unité de mesure pour les unités de phages formateurs de plaques) de stocks de bactériophages destinés à l'utilisation thérapeutique. De plus, la méthode de production proposée permet également d'avoir un rendu contenant peu d'endotoxines bactériennes. Les endotoxines sont des toxines présentes dans la membrane cellulaire de bactéries à gram négatif, et qui sont susceptibles de provoquer une inflammation et de la fièvre chez l'humain (Lerouge, 2014). Ces toxines proviennent du processus de fabrication qui, comme déjà expliqué précédemment, implique une culture de bactéries.
  Ce protocole de production de phages repose sur cinq étapes principales : la propagation des phages, le nettoyage des phages par filtrage à 0,22 µm et traitement au chloroforme, la

concentration des phages par ultrafiltration, l'élimination des endotoxines, ainsi que la préparation et le stockage des banques (ou stocks) de phages en vue d'une utilisation continue en laboratoire (Bonilla & Barr, 2018).

- Une autre méthode, également publiée en 2018, utilise un système de 2 bioréacteurs connectés en série : cette méthode rendrait également possible une production à grande échelle, tout en maintenant un haut standard de qualité. De plus, à l'aide du système de bioréacteurs en chaîne, la croissance de la bactérie hôte est dissociée du réacteur de production de phages situé en aval afin de supprimer la production de bactéries mutantes résistantes aux phages.

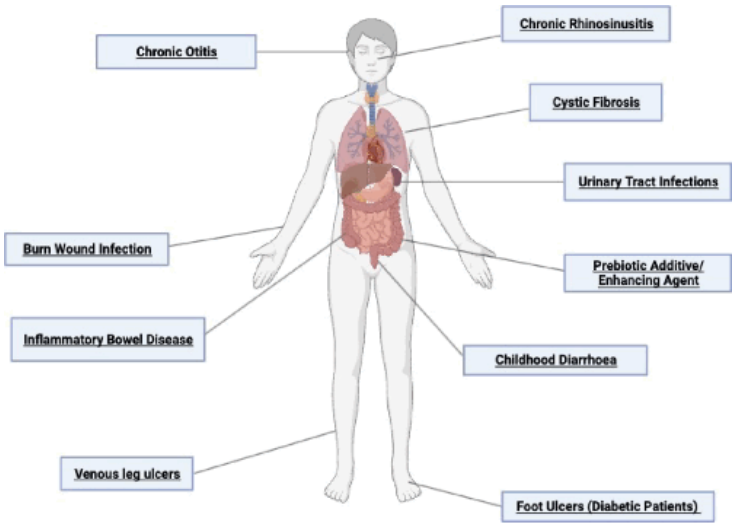


Cette image tirée de l'article montre le système de bioréacteurs en série utilisé pour la production des phages : C'est dans le premier réacteur (Bioreactor 1) qu'à lieu la croissance des bactéries (ici E. Coli). Ce réacteur est constamment alimenté en milieu de culture frais contenu dans le réservoir d'alimentation (Feed Tank). Le volume du premier réacteur est maintenu à 500 ml grâce à un système de contrôle du volume. L'infection des bactéries par les phages (en l'occurrence le phage T3) a lieu dans le second réacteur (Bioreactor 2). Celui-ci est constamment alimenté en bactéries provenant du premier réacteur. Le volume du second réacteur est fixé à des volumes variables entre 33 et 100ml, permettant ainsi différents taux de dilution pour la production de phages en utilisant le même débit dans le procédé. Après cela, les cellules infectées sont envoyées dans le dernier réacteur (Bioreactor 3) afin d'y terminer le processus d'infection. Enfin, les phages peuvent être collectés (Mancuso et al., 2018).

Ceci ne sont que deux exemples de méthodes potentiellement applicables à l'échelle industrielle, mais il en existe naturellement de nombreuses autres.

L'application de la thérapie de phages

Bon nombre d'essais cliniques ont déjà été réalisés et documentés pour évaluer l'efficacité et la sécurité de la thérapie de phages. Parmi eux, la plupart traitent des infections causées par des souches de *P. aeruginosa*, *S.aureus* et, plus récemment, *Escherichia coli*, car ces trois bactéries comptent parmi celles qui posent le plus de problèmes d'antibiorésistance.



Le schéma ci-dessus montre l'étendue de l'utilisation des bactériophages dans des essais cliniques. L'image est tirée d'un article analysant une sélection d'essais réalisés durant les cinq dernières années montrant des résultats prometteurs (F. Uchechukwu et al., 2024).

Il est important de noter que la thérapie de phages ne consiste pas toujours uniquement en l'administration d'un seul type de phages : dans les essais cliniques étudiés, nous verrons que dans les cas les plus prometteurs, l'administration d'un cocktail de phages (un ou plusieurs types de phages) est souvent accompagnée d'une administration simultanée d'un autre médicament comme des antibiotiques, afin de réduire l'émergence de sous-populations de bactéries résistantes aux phages, ou des protéines lytiques issues de phages afin d'éliminer les pathogènes avec une plus grande efficacité.

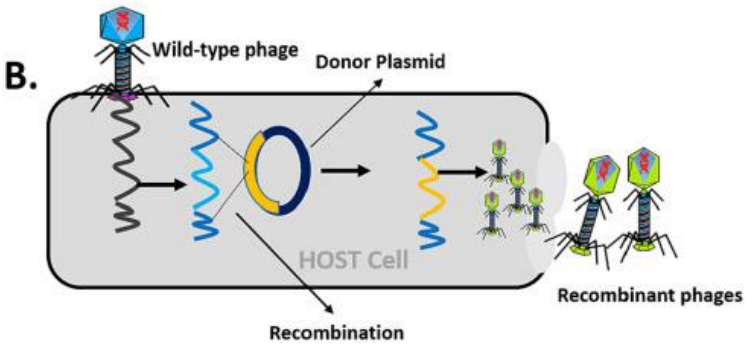
Ce type de thérapie de phages ou l'on ajoute un composé actif au cocktail de phages est appelé *combination therapy*. De nombreux chercheurs placent de grands espoirs dans les thérapies de phages combinatoires car elles permettent comme déjà expliqué de limiter des effets indésirables et de rendre les thérapies plus efficaces.

L'ingénierie de phages (phage engineering)

Dans certains cas, la haute spécificité des phages (gamme d'hôtes limitée) et leur élimination par les défenses bactériennes peuvent nuire à l'efficacité de la thérapie. Pour remédier à ce problème, on peut recourir à l'ingénierie de phages, en d'autres mots, l'édition génétique de phages.

Les bactéries peuvent résister aux attaques des phages grâce à différents mécanismes, notamment les mutations spontanées, les systèmes de modification par restriction (défense naturelle chez les archées et les bactéries contre de l'ADN étranger, reposant sur des enzymes spécifiques capables de dégrader des séquences d'ADN à double-brin) et l'immunité adaptative via le système CRISPR-Cas. CRISPR-Cas (abréviation pour « **C**lustered **R**egularly **I**nterspaced **S**hort **P**alindromic **R**epeats - **A**ssociated **P**rotein ») est une défense naturellement présente chez les bactéries permettant de modifier la séquence de nucléotides à un endroit spécifique de l'ADN, par exemple pour rendre un gène inutilisable. CRISPR-Cas est constitué de deux composants : une protéine capable de couper l'ADN (Cas9, Cas3 ou Cas10) et une séquence guide d'ARN qui reconnait la séquence d'ADN à modifier. Les mutations spontanées demeurent les principaux mécanismes à l'origine de la résistance aux phages et de la coévolution phage-bactérie. Des mutations spontanées peuvent conférer une résistance aux phages en modifiant la structure des composants de la surface bactérienne qui agissent comme des récepteurs de phages (endroit où le phage se fixe) et qui déterminent également la spécificité des phages. (Oechslin, 2018).

L'une des méthodes les plus courantes utilisées pour modifier génétiquement l'ADN des phages est la méthode par recombinaison homologue. La recombinaison est une façon de mélanger de l'ADN. Il s'agit d'un processus naturel au cours duquel un morceau d'ADN est échangé avec un autre morceau qui lui ressemble. Les scientifiques l'utilisent pour introduire de l'ADN nouveau ou modifié dans le génome du phage. Pour expliquer simplement cette méthode, le phage injecte son ADN dans une bactérie, et on fournit à cette bactérie un modèle d'édition (un petit bout d'ADN avec la modification souhaitée). Par recombinaison, le phage peut échanger un morceau de son ADN contre le morceau modifié du modèle. Ce mécanisme est illustré sur le schéma ci-dessous.



(Hussain et al., 2023)

Outre l'ingénierie visant à agrandir la gamme d'hôtes, l'activité antimicrobienne des phages peut être améliorée ou modulée par la production in situ de protéines hétérologues. Pour ce faire, on va ajouter un ou plusieurs gènes au génome du phage afin qu'il les transporte et les exprime au sein de l'hôte. Ces gènes codent pour des protéines dites « étrangères », ou hétérologues. Une fois les gènes exprimés, ces protéines seront synthétisées dans l'hôte. Ces protéines vont ensuite soit, selon leur nature, soit désactiver des fonctions dangereuses chez la bactérie, soit détruire l'hôte

directement et même détruire ou affaiblir les bactéries aux alentours une fois. Les protéines pouvant être utilisées de cette manière sont par exemple les *Biofilm/capsule-depolymerases*, des enzymes détruisant la couche protectrice des bactéries, rendant leur élimination plus facile, mais aussi des *Quorum-quenching enzymes*, capables des saboter les communications chimiques entre bactéries, ou encore des hydrolases à large spectre, des enzymes pouvant casser les parois de plusieurs types de bactéries (R Lenneman et al., 2020).

De plus, certains essais cliniques ont déjà été réalisés en combinant la thérapie de phages à la technologie CRISPR-Cas. On peut implanter CRISPR-Cas dans la capside d'un bactériophage afin que celui-ci le délivre à l'intérieur de la bactérie cible un fois qu'il a pénétré sa membrane. Le système CRISPR-Cas va alors découper une séquence d'ADN précise dans le génome bactérien. En conséquence, soit la bactérie meurt, soit on désactive un gène précis, par exemple un gène de résistance (R Lenneman et al., 2020). Cette stratégie permet d'affecter des souches de bactéries spécifiques plus efficacement et d'éviter de détruire les bactéries bénéfiques du microbiote, car le système CRISPR-Cas ne cible uniquement les bactéries présentant une séquence spécifique d'ADN (F. Uchechukwu et al., 2024).

Exemples d'essais cliniques récents

Pour donner une idée plus concrète de l'application de la thérapie de phages, voici une sélection d'essais cliniques prometteurs. Il est toutefois important de garder en tête que ces exemples sont des cas précis, et que l'utilisation des phages peut se faire selon des méthodes très différentes selon le contexte de l'infection.

Exemple 1 : Infection du tractus urinaire (*Escherichia Coli*)

Titre original de l'essai: Safety, Tolerability, and PK of LBP-EC01 in Patients with Lower Urinary Tract Colonization Caused by E. Coli (Medpace, 2022)

L'essai clinique, achevé le 19 novembre 2020, est une étude conçue pour évaluer la sécurité, la tolérance et le comportement pharmacologique du LBP-EC01, un cocktail de bactériophages modifiés par CRISPR-Cas3, chez des patients colonisés par *Escherichia coli* dans les voies urinaires inférieures. Ce fut le premier essai clinique réalisé pour une thérapie de phages recombinants (F. Uchechukwu et al., 2024). Cela permettrait d'explorer le potentiel du LBP-EC01 en tant qu'alternative aux antibiotiques traditionnels pour traiter les infections urinaires, en particulier chez les patients présentant des cathéters urinaires, une population à risque élevé d'infections récurrentes et résistantes aux antibiotiques.

L'étude cible environ 30 adultes (86% de femmes ; les infections de ce type étant bien plus fréquentes chez celles-ci) porteurs d'un cathéter urinaire permanent ou ayant recours à des cathétérismes intermittents, qui présentent une colonisation asymptomatique à *E. coli*. Le traitement est administré directement dans la vessie via le cathéter, deux fois par jour pendant sept jours. Chaque instillation est suivie d'une période de rétention d'environ 30 à 40 minutes pour permettre au traitement d'agir (Medpace, 2022).

Les résultats ont démontré que le LBP-EC01 était bien toléré, sans effets indésirables graves signalés. De plus, une amplification des bactériophages a été observée chez les patients dont les isolats d'E. coli étaient sensibles au LBP-EC01, fournissant une preuve claire du mécanisme d'action. Enfin, une réduction apparente de la charge bactérienne d'E. coli a été notée, indépendamment du statut de résistance aux médicaments, suggérant que le LBP-EC01 pourrait constituer une option prometteuse pour le traitement des infections urinaires causées par E. coli.

Exemple 2 : Ulcère du pied (*Staphylococcus Aureus*)

Titre original de l'étude : Compassionate Use of Bacteriophage Therapy for Foot Ulcer Treatment as an Effective Step for Moving Toward Clinical Trials (Fish et al., 2018)

L'étude visait à traiter des patients externes (pas de lien avec un laboratoire de recherches) issus d'une clinique de traitement des plaies en milieu hospitalier aux États-Unis. Les traitements de 6 sujets âgés entre 27 et 74 ans sont décrits, tous atteints d'ulcères aux pieds (orteils). Les patients présentaient tous une ostéomyélite ou des os découverts et infectés Par mise en culture, il a été constaté que dans tous les cas, l'infection était majoritairement causée par *S.Aureus* (Staphylocoque doré) plus, dans certains cas, un ou deux autres pathogènes minoritaires. Tous les patients avaient été traités avec des antibiotiques adéquats basés sur les résultats de sensibilité des bactéries obtenus par le laboratoire de l'hôpital, mais cela s'est révélé inefficace. Plus aucun traitement ne s'offrait à eux, mis à part l'amputation de l'orteil. Le traitement aux phages fût donc proposé aux sujets comme dernier recours avant l'amputation, et chacun a évidemment consenti à l'essai du traitement.

Le traitement employé pour l'étude est une préparation commerciale de bactériophages à staphylocoques Sb-1. Ces phages, spécifiques aux Staphylocoques, furent isolés en 1977 à l'Eliava Institute, à Tbilissi, dans la république de Géorgie. Depuis, ils ont déjà beaucoup été étudiés et utilisés pour traiter des plaies infectées en Géorgie, où la préparation est autorisée à la vente et régulièrement testés sur des souches de *S.Aureus*. Elle est importée vers les États-Unis dans le cadre d'un accord de recherche entre Elivia BioPreparations Ltd (Tbilissi) et la Research Foundation in Olympia (Washington) pour ce genre d'utilisations dans des études de cas. Le médicament se présente sous la forme de flacons stériles contenant 10 ml de préparation.

Le traitement a été appliqué au goutte-à-goutte directement sur la cavité de la plaie, qui a ensuite été emballée avec de la gaze d'emballage ordinaire imbibée de préparation de bactériophage, recouverte de gaze Xeroform© pour empêcher la solution de sortir de l'emballage, puis recouverte de gaze sèche. Le pansement a été maintenu en place pendant 48 heures, puis le patient a changé ses pansements avec des pansements humides standard pendant le reste de la semaine.

Les patients ont été examinés de manière hebdomadaire, où des débridements de tissus endommagés furent réalisés si nécessaire. Le traitement fut ensuite appliqué à nouveau jusqu'à la

fin de la semaine et ainsi de suite pendant plusieurs semaines (variable pour chaque patient selon le degré de gravité de la plaie).

Le traitement s'est révélé très efficace. L'équipe a pu tirer les conclusions suivantes :

- Dans tous les cas, à priori très difficiles, d'ostéomyélites et d'os exposés, la progression vers la fermeture de la plaie fut complète et bien plus rapide que prévue par les chercheurs. De plus, aucun des patients n'a développé d'infection sérieuse par après et ont par conséquent évité l'amputation.
- L'application locale d'un seul type de bactériophages ciblant *S.Aureus* s'est avéré efficace pour des plaies difficiles à fermer. Par extension, on peut dire que des niveaux cliniquement suffisants de bactériophages peuvent être atteints par application locale.

La critique principale de la thérapie de phage est son manque de sécurité, notamment dû à un nombre trop bas d'essais cliniques, mais ce genre d'études prouve que l'utilisation de traitements à base de phages est réaliste et même efficace dans des cas précis.

Les obstacles qui restent à franchir

Malgré les avantages évidents offerts par la thérapie phagique en tant que solution au problème permanent de la résistance aux antimicrobiens, la pratique est lente à s'imposer cliniquement dans la plupart des pays occidentaux.

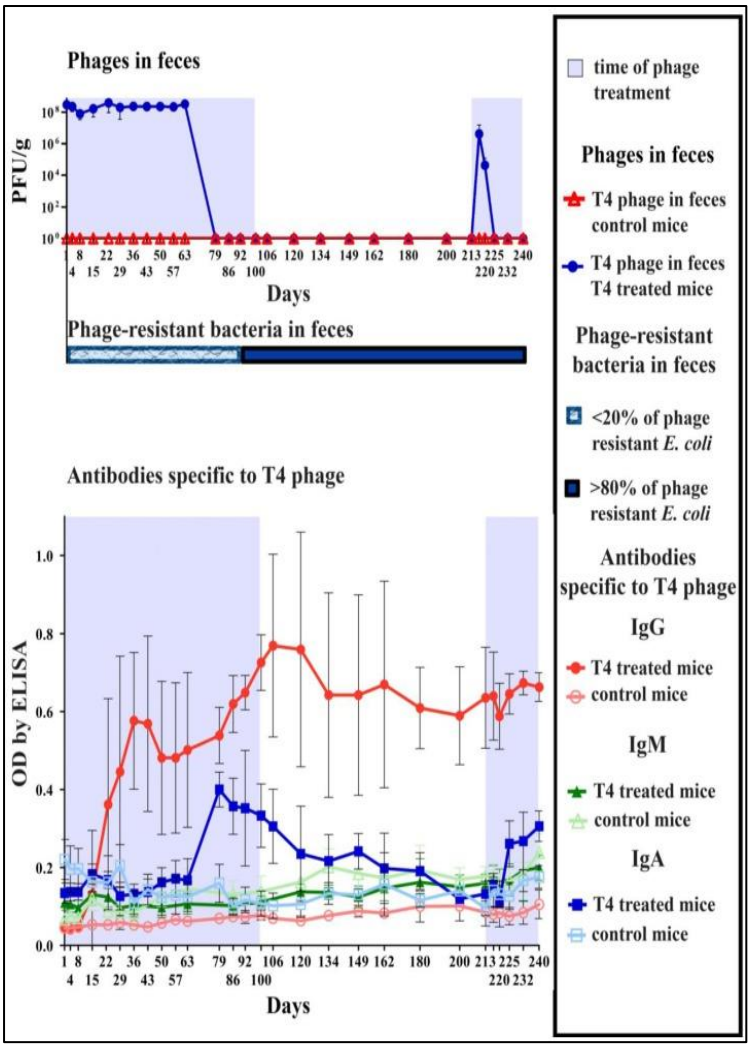
La raison pour laquelle ce genre de méthodes ne sont pas encore appliquées est, avant tout, les standards de qualité très élevés dans le domaine médical : en effet, même si certains protocoles de production de phages industrielle et certains essais cliniques sont très prometteurs, ils ne sont formellement pas autorisables à la vente en raison d'une qualité et d'une sécurité insuffisantes pour les applications cliniques envisagées en aval (Pirnay et al., 2021). Ce standard de qualité est appelé « Good Manufacturing Practices » (GMPs), et s'applique notamment aux médicaments. Les variables de pureté, de stabilité et de stérilité des préparations de phages sont concernées par les GMP. Les paramètres critiques de la thérapie par les phages qui doivent être respectés sont notamment le taux d'adsorption des phages, les cycles de réplication, la période de latence, le dosage optimal des phages et la voie d'administration, qui sont rendus difficilement contrôlables par différent facteurs, en particulier l'élimination de certaines barrières naturelles (système immunitaire), les variables inter-phages, les différences inter-individuelles et l'accès différentiel aux sites d'infection (F. Uchechukwu et al., 2024).

Bien que les GMPs soient d'une importance primordiale pour la sécurité des patients, ils restent tout de même un obstacle conséquent en matière de fabrication, de formulation et d'administration de la thérapie de phages en médecine, car il impose des contraintes de qualité et sécurité difficilement atteignables pour les laboratoires de recherche (Mutti & Corsini, 2019). Cependant,

l'Agence européenne des médicaments (AEM) et la US Food and Drug Administration (FDA) prévoient de faciliter le développement de produits à base de phages à condition que les procédures normales d'autorisation de mise sur le marché soient suivies (Pirnay et al., 2021).

Un autre obstacle majeur auquel la thérapie de phage doit faire face est la résistance que peuvent développer les bactéries à l'égard des bactériophages. En effet, plusieurs études suggèrent une possible émergence rapide de mutants phago-résistants. Des études expérimentales ont confirmé l'émergence de bactéries résistances lors suite à des traitements aux phages. Pour citer un exemple concret, une étude menée par J. Majewska et son équipe où des souris avaient été infectées par *E. Coli* (colonisation intestinale) et traitées au phage T4 par voie orale pendant plusieurs mois a montré que des souches résistantes de la bactérie dominaient les intestins après 92 jours de traitement (Majewska et al., 2015).

En plus de l'évolution des bactéries vers des souches résistantes, l'étude a aussi montré une réponse immunitaire forte aux phages. En effet, la réponse immunitaire est un autre grand obstacle s'opposant à l'utilisation médicale des phages. Durant le traitement, des échantillons de sérum des souris fut régulièrement testé à l'IgG et l'IgM (Immunoglobuline G et Immunoglobuline M, respectivement) et les fèces furent testées à l'IgA. Le quantité de phages fût également analysée dans les échantillons. Les résultats sont visibles sur les graphiques ci-contre : Comme on peut le voir sur le graphique du haut, la quantité de phages est restée constante, à environ 10^8 PFU/g, jusqu'au jour 63, ou le niveau commence à baisser drastiquement pour finalement atteindre 0 PFU/g après 79 jours de traitement. Cela nous indique que les phages ont commencé à rencontrer des difficultés à se reproduire à partir du jour 63.



(Majewska et al., 2015)

Sur le graphique du bas, on voit l'évolution la quantité d'immunoglobulines, mesurée à l'aide de la technique de quantification par spectrophotométrie ELISA (enzyme-linked immunosorbent

assay). On observe une claire tendance à l'augmentation pour tous les types d'immunoglobulines, qui est très marquée chez l'IgG (jusqu'à environ 0.8). Ceci nous montre explicitement que les phages provoquent bel et bien une réaction immunitaire.

La susceptibilité des phages à causer des réponses immunitaires est encore mal comprise, mais elle reste toutefois une entrave au développement de traitements à base de phages car elle pourrait non-seulement réduire l'efficacité du traitement, mais en plus, certains viromes de phages ont été mis en corrélation avec des maladies chroniques d'origine immunologique, comme les maladies inflammatoires de l'intestin, la maladie de Parkinson et l'obésité (Champagne-Jorgensen et al., 2023).

De plus, la pharmacocinétique des phages en présence de bactéries sensibles est fondamentalement différente de celle des médicaments chimiques en raison de la réplication des phages, comme l'ont démontré des analyses approfondies et la modélisation mathématique (Dąbrowska, 2019). La dissémination des phages dans l'organisme peut réduire leur efficacité, car les phages ont besoin d'un contact direct avec les bactéries à une concentration optimale pour agir efficacement sur les bactéries (Hibstu et al., 2022). Les interactions phages-bactéries doivent donc encore être étudiées en profondeur avant de pouvoir pleinement contrôler le traitement.

Les avantages de la thérapie de phages

Les principaux avantages de la thérapie de phages ont déjà été évoqués dans les pages précédentes, mais en voici un résumé :

Premièrement, même si les études cliniques sur. Des humains ne sont pas extrêmement nombreuses, celles-ci ont globalement indiqué que les bactériophages possèdent des facultés bactéricides très efficaces contre des bactéries aussi bien résistantes que sensibles aux antibiotiques et ce, sans être toxique pour l'humain. Les bactéries qui ont été infectées avec succès par des phages lytiques sont incapables de retrouver leur viabilité. En comparaison, certains antibiotiques sont bactériostatiques, comme la tétracycline, et permettent donc plus facilement aux bactéries d'évoluer vers la résistance (Loc-Carrillo et al., 2011).

Ensuite, la thérapie de phages permet des utilisations hautement spécifiques. Les bactériophages ont évolué pour reconnaître et se lier à des récepteurs spécifiques à la surface de leurs hôtes bactériens. Ce haut degré de spécificité signifie que lorsque les phages sont introduits dans l'organisme, ils ciblent sélectivement les bactéries pathogènes tout en épargnant les bactéries bénéfiques et les cellules humaines. Cette précision réduit considérablement le risque d'effets secondaires généralement associés aux antibiotiques à large spectre, tels que les perturbations du système microbien de l'organisme. De plus, la thérapie de phages est hautement personnalisable au patient : selon la nature du pathogène causant l'infection, on peut sélectionner les phages les plus appropriés pour combattre la souche spécifique à l'origine de l'infection. Cette approche

personnalisée augmente les chances de succès du traitement, en particulier dans les cas où les antibiotiques traditionnels échouent.

Un autre avantage de la thérapie de phages encore peu traité dans ce travail est son coût de production relativement bas. Les deux processus de base de la production de phages sont la croissance de l'hôte et la purification. Si les coûts de cultivation de l'hôte varient selon le type de bactérie, le coût de la purification diminue au fur et à mesure que les techniques se développent. Le coût de la fabrication des phages est finalement équivalent au coût des produits pharmaceutiques en moyenne.

En plus de cela, la phagothérapie serait moins nocive pour l'environnement. Contrairement aux antibiotiques qui peuvent s'accumuler dans l'environnement et potentiellement provoquer l'apparition de bactéries résistantes dans les écosystèmes, les phages, qui sont de toute façon présents dans la plupart des écosystèmes, auraient un impact minimal. En outre, les phages issus n'introduisent pas de composés synthétiques dans l'environnement, à l'inverse des antibiotiques (Vaishnavi et al., 2024).

Conclusion

Cela semble évident que le fait d'utiliser les prédateurs naturels les plus nombreux des bactéries pour combattre celles-ci soit une idée brillante. Et cela est d'ailleurs démontré par tous les avantages que pourrait offrir la thérapie de phages par rapport aux antibiotiques.

De toute manière, il va falloir, d'une façon ou d'une autre, trouver une alternative efficace aux antibiotiques dans les années à venir afin de résoudre au moins temporairement le problème de l'antibiorésistance. Et pour cela, la thérapie de phages semble en ce moment clairement être l'alternative la plus prometteuse.

Malgré certaines limitations qu'il reste à franchir, notamment la standardisation des traitements, l'adaptation des cadres réglementaires, l'optimisation des méthodes de production et une meilleure compréhension des interactions phage-hôte dans le corps humain, on peut clairement constater l'avancée rapide de la recherche sur la thérapie de phages à travers le nombre croissant d'articles qui paraissent sur le sujet mais aussi à travers l'augmentation d'essais cliniques réalisés sur des humains au fil du temps, qui montrent d'ailleurs des résultats très positifs, prouvant la sécurité et l'efficacité du traitement lorsqu'il est utilisé de manière ciblée pour des pathologies spécifiques.

L'avenir de l'utilisation des bactériophages en médecine repose donc sur une démarche multidisciplinaire, combinant recherche fondamentale, essais cliniques rigoureux, innovations biotechnologiques et volonté politique. Si ces conditions sont réunies, il est tout à fait envisageable que la thérapie de phage s'impose comme un traitement révolutionnaire de la médecine moderne et sauve de nombreuses vies, là où les antibiotiques échoueront.

Bibliographie

A. Aksyuk, A., & al., e. (2009, Fevrier 28). *National Library of Medicine.* Récupéré sur The tail sheath structure of bacteriophage T4: a molecular machine for infecting bacteria.: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2670864/

A. Strathdee et al., S. (2023, January 5). *Phage therapy: From biological mechanisms to future directions*. Récupéré sur Cell: https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(22)01461-1

Abedon, S. T., & Kuhl et al., S. J. (2011, March 1). *Phage treatment of human infections*. Récupéré sur Taylor & Francis online: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.4161/bact.1.2.15845?scroll=top&needAccess=true#d1e112

Arjamaa, O., & Nikinmaa, M. (2006, June 5). *Oxygen-dependent diseases in the retina: Role of hypoxia-inducible factors.* Récupéré sur ScienceDirect: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014483506001503

Bacteriophage, Wikipedia. (2024, October 1). Récupéré sur Wikipedia: https://en.wikipedia.org/wiki/Bacteriophage#

Black, L. W., & Rao, V. B. (2012, March 12). *Structure, Assembly, and DNA Packaging of the Bacteriophage T4 Head*. Récupéré sur National Library of Medicine: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4365992/#:~:text=The%20capsid%20is%20built%20from,packaging%20and%20exits%20during%20infection.

Bonilla, N., & Barr, J. J. (2018, August 2018). *Phage on Tap: A Quick and Efficient Protocol for the Preparation of Bacteriophage Laboratory Stocks*. Récupéré sur National Library of Medicine: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30128988/

CAPSH_BPT4, Uniprot. (2024). Récupéré sur Uniprot: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P04535/entry

CAPSP_BPT4, Uniprot. (2024, July 24). Récupéré sur Uniprot: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P19896/entry

Champagne-Jorgensen et al., K. (2023, October). *Immunogenicity of bacteriophages.* Récupéré sur ScienceDirect: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0966842X23001464

Cusabio. (s.d.). *The Overview of Phage Display : Protocol, Classification, Application and FAQs*. Récupéré sur Cusabio: https://www.cusabio.com/c-20680.html

D.Weynberg, K. (2018, May 7). *Chapter One - Viruses in Marine Ecosystems: From Open Waters to Coral Reefs.* Récupéré sur ScienceDirect: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065352718300046

Dąbrowska, K. (2019, March 19). *Phage therapy: What factors shape phage pharmacokinetics and bioavailability? Systematic and critical review.* Récupéré sur National Library of Medicine: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6767042/

F. Uchechukwu et al., C. (2024, September 25). *Current status of clinical trials for phage therapy*. Récupéré sur Microbiology Society: https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.001895

Fish et al., R. (2018). *Compassionate Use of Bacteriophage Therapy for Foot Ulcer Treatment as an Effective Step for Moving Toward Clinical Trials.* Récupéré sur National Library of Medicine: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29119440/

Fokine et al., A. (2013, May 27). The Molecular Architecture of the Bacteriophage T4 Neck. *Journal of molecular biology*, pp. 1731-1744.

Hibstu et al., Z. (2022, October 6). *Phage Therapy: A Different Approach to Fight Bacterial Infections*. Récupéré sur National Library of Medicine: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9550173/#:~:text=Phage%20therapy%20is%20a%20way,to%20rapidly%20kill%20pathogenic%20bacteria.&text=It%20involves%20the%20use%20of%20lytic%20phages%2C%20bioengineered%20phages%2C%20and,at%20the%20site%20of%20infectio

Hussain et al., W. (2023, February 10). *Genetic engineering of bacteriophages: Key concepts, strategies, and applications.* Récupéré sur ScienceDirect: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S073497502300023X

INSERM. (2021, Octobre 21). *Bataille de microbes : C'est quoi la phagothérapie ?* Récupéré sur INSERM: https://www.inserm.fr/c-est-quoi/bataille-de-microbes-cest-quoi-la-phagotherapie/#:~:text=La%20phagoth%C3%A9rapie%20est%20une%20forme,dire%20%C2%AB%20phages%20%C2%BB%20tout%20court.

J L Murray et al., C. (2022, February 12). *Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis*. Récupéré sur The Lancet: https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)02724-0/fulltext

Lerouge, S. (2014, March 27). *Sterilisation and cleaning of metallic biomaterials*. Récupéré sur ScienceDirect: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9781845694340500139

Loc-Carrillo et al., C. (2011, March). *Pros and cons of phage therapy.* Récupéré sur National Library of Medicine: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3278648/#:~:text=In%20terms%20of%20“Pros%2C”,be%20capable%20of%20disrupting%20bacterial

Majewska et al., J. (2015, August 20). *Oral Application of T4 Phage Induces Weak Antibody Production in the Gut and in the Blood.* Récupéré sur National Library of Medicine: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4576206/#sec2-viruses-07-02845

Mancuso et al., F. (2018, October 1). *High Throughput Manufacturing of Bacteriophages Using Continuous Stirred Tank Bioreactors Connected in Series to Ensure Optimum Host Bacteria Physiology for Phage Production*. Récupéré sur National Library of Medicine: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6213498/

Medpace. (2022, March 16). *Safety, Tolerability, and PK of LBP-EC01 in Patients With Lower Urinary Tract Colonization Caused by E. Coli.* Récupéré sur ClinicalTrials.gov: https://clinicaltrials.gov/study/NCT04191148?tab=results

Mutti, M., & Corsini, L. (2019, October 10). *Robust Approaches for the Production of Active Ingredient and Drug Product for Human Phage Therapy*. Récupéré sur National Library of Medicine: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31649636/

Myoviridae, Wikipedia. (2024, June 13). Récupéré sur Wikipedia: https://en.wikipedia.org/wiki/Myoviridae

Oechslin, F. (2018, June 30). *Resistance Development to Bacteriophages Occurring during Bacteriophage Therapy.* Récupéré sur National Library of Medicine: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6070868/#:~:text=Bacteria%20can%20resist%20phage%20attack,–bacterial%20coevolution%20%5B6%5D.

O'Neill, J. (2014, December). *Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations.* Récupéré sur Review on Antimicrobial Resistance: https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf

Pirnay et al., J.-P. (2021, July 21). *Recent progress toward the implementation of phage therapy in Western medicine*. Récupéré sur FEMS Microbiology Reviews: https://academic.oup.com/femsre/article/46/1/fuab040/6325169?login=false#327128063

PORTL_BPT4, Uniprot. (2024). Récupéré sur Uniprot: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P13334/entry

R Lenneman et al., B. (2020, December 10). *Enhancing phage therapy through synthetic biology and genome engineering.* Récupéré sur ScienceDirect: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166920301646

Sinha et al., S. (2018, April 12). *Chapter Three - Modeling Bacteria–Phage Interactions and Its Implications for Phage Therapy.* Récupéré sur ScienceDirect: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065216418300054

Smith, H. W., & Huggins, M. (1982, February 1). *Successful Treatment of Experimental Escherichia coli Infections in Mice Using Phage: its General Superiority over Antibiotics*. Récupéré sur Microbiology Society: https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-128-2-307

Sulakvelidze et al., A. (2001, March). *Bacteriophage Therapy*. Récupéré sur National Library of Medicine: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC90351/

Vaishnavi et al., M. (2024, March 2). *How Phage Therapy Works, Its Advantages and Disadvantages: Mini Review.* Récupéré sur Journal of Pure and Applied Microbiology: https://microbiologyjournal.org/how-phage-therapy-works-its-advantages-and-disadvantages-mini-review/

WHO. (2017, February 27). *WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed*. Récupéré sur World Health Organization: https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed

Yap, M. L., & Rossmann, M. G. (2014, October 9). *Structure and function of bacteriophage T4*. Récupéré sur National Library of Medicine: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4275845/

Yusuf, M. (2018). *Natural Antimicrobial Agents for Food Biopreservation*. Récupéré sur Sciencedirect: https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/bacteriophage