

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 009

**LA PHAGOTHÉRAPIE : PRINCIPE ET POTENTIELS
INTÉRÊTS EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 20 juin 2022
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par
VEDRINE Baptiste

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 009

**LA PHAGOTHÉRAPIE : PRINCIPE ET POTENTIELS
INTÉRÊTS EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 20 juin 2022
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par
VEDRINE Baptiste

Liste des enseignants du Campus vétérinaire de Lyon (26-01-2022)

Mme	ABITBOL	Marie	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Mme	AYRAL	Florence	Maître de conférences
Mme	BECKER	Claire	Maître de conférences
Mme	BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Professeur
M.	BERNY	Philippe	Professeur
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
M.	BRUTO	Maxime	Maître de conférences Stagiaire
M.	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
M.	BUFF	Samuel	Professeur
M.	BURONFOSSE	Thierry	Professeur
M.	CACHON	Thibaut	Maître de conférences
M.	CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
M.	CHABANNE	Luc	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
M.	CHAMEL	Gabriel	Maître de conférences
M.	CHETOT	Thomas	Maître de conférences Stagiaire
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Maître de conférences
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Professeur
Mme	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
M.	GALIA	Wessam	Maître de conférences
M.	GILLET	Benoit	AERC
Mme	GILLOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Mme	HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
Mme	JOSSON-SCHRAMME	Anne	Chargé d'enseignement contractuel
M.	JUNOT	Stéphane	Professeur
M.	KODJO	Angeli	Professeur
Mme	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Mme	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Professeur
Mme	LEBLOND	Agnès	Professeur
Mme	LEDOUX	Dorothée	Maître de conférences
M.	LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
M.	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Professeur
M.	LURIER	Thibaut	Maître de conférences Stagiaire
M.	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences Stagiaire
M.	MARCHAL	Thierry	Professeur
Mme	MOSCA	Marion	Maître de conférences
M.	MOUNIER	Luc	Professeur
Mme	PEROZ	Carole	Maître de conférences
M.	PIN	Didier	Professeur
Mme	PONCE	Frédérique	Professeur
Mme	PORTIER	Karine	Professeur
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Maître de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	Professeur
Mme	REMY	Denise	Professeur
Mme	RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
M.	ROGER	Thierry	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Maître de conférences
M.	SCHRAMME	Michael	Professeur
Mme	SERGENTET	Delphine	Professeur
M.	TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Mme	VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
M.	VIGUIER	Eric	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Chargé d'enseignement contractuel
M.	ZENNER	Lionel	Professeur

REMERCIEMENTS AU JURY

Au Professeur Sophie JARRAUD De l'Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de médecine de Lyon :

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de cette soutenance,
Hommages respectueux

Au Docteur Vincent LEGROS De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon :

Pour m'avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail sur les virus, pour votre disponibilité, pour m'avoir fourni vos précieux avis lorsque je vous ai sollicité à propos de ce projet et pour vos conseils lors des relectures qui m'ont à chaque fois permis d'étoffer et d'améliorer le contenu de ma thèse.

Sincères remerciements

Au Docteur Maria-Halima LAABERKI De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon :

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury,
Sincères remerciements



TABLE DES MATIERES

<u>Table des figures</u>	11
<u>Table des tableaux</u>	13
<u>Liste des abréviations</u>	15
<u>Introduction</u>	17
<u>Partie I- Nature, biologie et écologie des bactériophages :</u>	19
A- Nature, conformation et classification des bactériophages :	19
B- Cycle biologique des bactériophages :	21
1- Adhésion à la bactérie	21
2- Pénétration de l'information génétique dans la bactérie :	24
3- Le cycle lytique	26
4- Le cycle lysogénique :	29
5- L'infection chronique :	30
6- Mécanismes de défense bactériens :	31
C- Ecologie des bactériophages	33
1- Importance dans l'écosystème	33
2- Résistance dans l'environnement	34
<u>PARTIE II- Histoire de la phagothérapie et regain d'intérêt actuel :</u>	37
A- Découverte des bactériophages et prémices de la phagothérapie.....	37
1- découverte des bactériophages	37
2- Prémices de la phagothérapie.....	38
B- Ere des antibiotiques et crépuscule de la phagothérapie en Occident.....	39
1- Premières objections et découverte des antibiotiques	39
2- Querelles scientifiques et crépuscule de la phagothérapie	39
C- Antibiorésistance et nouvelle aube pour la phagothérapie	40
1- Antibiorésistance et impasses thérapeutiques	40
2- Nouvelle aube de la phagothérapie ?	42
<u>PARTIE III - La phagothérapie : conception et pharmacologie</u>	45
A- Conception d'une préparation de bactériophages	45
1- Isolement d'un bactériophage	45
2- Purification et caractérisation	46
3- Conservation des bactériophages	47
B- Pharmacologie des bactériophages	48
1- Pharmacocinétique des bactériophages	49
2- Pharmacodynamie	53
C- Avantages et limites	60
<u>PARTIE IV - Possibles utilisations des bactériophages en médecine vétérinaire</u>	63
A- La phagothérapie chez les animaux de compagnie.....	63
1- Les infections à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Chez le Chien	63
2- Les infections à <i>Staphylococcus spp.</i> chez le chien	65
3- Les infections du bas appareil urinaire.....	69
4- Utilisation de bactériophages chez les reptiles NAC	71
B- La phagothérapie chez les bovins	75
1- Les mammites bovines	75
2- Les Diarrhées néonatales à <i>E. coli</i>	80

3- Les <i>E. coli</i> O157/H7.....	83
C- La phagothérapie chez les porcins	87
1- Infections des porcs par <i>E. coli</i>	88
2- Infections par <i>Salmonella spp.</i>	90
3- Complexe de la rhinite atrophique porcine	95
4- Usage des bactériophages en tant que promoteurs de croissance	96
D- La phagothérapie chez les volailles	101
1- Infections par <i>Salmonella spp.</i>	102
2- Infections par <i>Campylobacter spp.</i>	108
3- Infections par <i>E. coli</i>	112
4- Lutte contre les clostridioses	117
5- Usage des bactériophages en tant que promoteurs de croissance	118
<u>Conclusion</u>	121
<u>Bibliographie</u>	123

TABLE DES FIGURES

<i>Figure 1 – Structures des bactériophages connus classifiés selon le support de leur information génétique</i>	<i>20</i>
<i>Figure 2 – Modèle du Bactériophage T4.....</i>	<i>23</i>
<i>Figure 3 - Modification de la conformation tridimensionnelle de la queue et de la plaque basale du phage T4 ..</i>	<i>23</i>
<i>Figure 4 – Mécanisme de pénétration des membranes Gram négatives du phage T7, membre de la famille des Podoviridae.....</i>	<i>25</i>
<i>Figure 5 – Principe du cycle lytique.....</i>	<i>26</i>
<i>Figure 6– Cycle lytique complet du phage T7 de la famille des Podoviridae</i>	<i>28</i>
<i>Figure 7 – Découverte ou mise sur le marché des principales molécules/ familles d'antibiotiques.....</i>	<i>41</i>
<i>Figure 8 – Nombre de publications répondants au mot-clef « Phage Therapy » sur le site Pubmed de 1946 à 2021.....</i>	<i>42</i>
<i>Figure 9 - Comparaison phagothérapie et utilisation des endolysines en tant qu'enzymotiques.....</i>	<i>68</i>

TABLE DES TABLEAUX

<i>Tableau I - Les Caudovirales : principaux virus utilisés en phagothérapie</i>	<i>20</i>
<i>Tableau II - Comparaison Antibiotiques et Bactériophages lytiques</i>	<i>61</i>
<i>Tableau III - Avantages et limites des bactériophages dans le traitement des pyodermites canines.....</i>	<i>69</i>
<i>Tableau IV - Principales études menées concernant la phagothérapie des mammites bovines à Staphylococcus aureus.....</i>	<i>78</i>
<i>Tableau V - Points positifs et limites des bactériophages dans le traitement des mammites bovines.....</i>	<i>79</i>
<i>Tableau VI – Principales études à propos de la phagothérapie ciblant Salmonella spp chez les porcs</i>	<i>93</i>
<i>Tableau VII - Bactériophages et portage de Salmonella chez les porcins.....</i>	<i>94</i>
<i>Tableau VIII – Principales études concernant l’usage de la phagothérapie dans la lutte contre Salmonella spp en médecine aviaire.....</i>	<i>106</i>
<i>Tableau IX - Caractéristiques principales de la phagothérapie ciblant Salmonella spp. chez les volailles.....</i>	<i>108</i>
<i>Tableau X – Bilan des principaux des apports de l’étude de la phagothérapie contre Campylobacter chez les volailles.....</i>	<i>112</i>
<i>Tableau XI – Principales études menées sur l’usage de phagothérapie contre la colibacillose aviaire</i>	<i>116</i>

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

APEC : Avian pathogenic *Escherichia coli*

ARN : Acide ribonucléique

CDC : Center for Disease Control and prevention

CFU : Colony forming unit

CRISPR/CAS : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats et CRISPR Associated proteins

DRO : Dérivés Réactifs de l'Oxygène = Reactive Oxygen Species (ROS)

EFSA : European Food Safety Authority

EOP : Efficiency of Plating

ETEC : Enterotoxigenic *Escherichia Coli*

FDA : Food and Drug Administration

GMQ : Gain Moyen Quotidien

ICTV : International Committee on Taxonomy of Viruses

LPS : Lipopolysaccharide

PFU : Plaque Forming Unit

ROS : Reactive Oxygen Species = Dérivés Réactifs de l'Oxygène (DRO)

SARM : *Staphylococcus Aureus* Résistant à la Méthicilline

SPM : Système des Phagocytes Mononucléés

SPRM : *Staphylococcus Pseudintermedius* Résistant à la Méthicilline

SPSM : *Staphylococcus Pseudintermedius* sensible à la Méthicilline

STEC : ShigaToxigenic *Escherichia Coli*

UV : Ultraviolets

INTRODUCTION

La découverte et la démocratisation des antibiotiques après la Seconde Guerre mondiale a permis une amélioration drastique du pronostic associés aux maladies bactériennes. Associées à la vaccination, ces molécules ont laissé entrevoir à certains scientifiques la « *fin du chapitre des maladies infectieuses* ». Cependant, les phénomènes d'antibiorésistance, la propagation des phénotypes antibiorésistants et le tarissement de la découverte de nouvelles molécules antibiotiques représentent aujourd'hui une menace. Les médecins et vétérinaires connaissent des impasses thérapeutiques par absence de traitements antibactériens efficaces.

Face à cet état de fait, les organisations sanitaires mondiales recommandent un meilleur usage des antibiotiques et la recherche d'alternatives pour la maîtrise des pathologies infectieuses parmi lesquelles la vaccination, le développement de polymères antimicrobiens ou la phagothérapie. Nous étudions ici le cas des bactériophages, virus spécifiques des bactéries et dont de potentiels usages thérapeutiques ont été envisagés il y a plus d'un siècle. Les bactériophages sont des entités biologiques connues à travers leur usage en génie génétique ou à cause des problématiques qu'ils créent dans les industries de transformation fromagère. Après une disparition quasi-totale de la recherche occidentale au cours des soixante années écoulées, leur usage thérapeutique connaît un regain d'intérêt, tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire.

Nous nous concentrons donc sur l'étude de cette phagothérapie, c'est-à-dire l'usage thérapeutique des bactériophages pour leurs propriétés antibactériennes et en tant qu'alternative éventuelle aux antibiotiques. Par un travail de recherche bibliographique nous définirons le principe de la phagothérapie et tenterons de déterminer quels intérêts les bactériophages pourraient présenter en médecine vétérinaire.

Pour ce faire, l'étude des bactériophages est ici divisée en quatre grandes parties. La première partie est consacrée à l'étude de la nature, de la biologie et de l'écologie des bactériophages puisque la compréhension de tels paramètres est essentielle à la compréhension de leur pharmacologie. La deuxième partie est dédiée à l'histoire de la phagothérapie. La troisième étudie la pharmacologie de la phagothérapie et la conception des préparations phagothérapeutiques. Enfin la quatrième partie est consacrée aux possibles utilisations des bactériophages en médecine des animaux de compagnie, bovine, porcine et aviaire.

PARTIE I- NATURE, BIOLOGIE ET ECOLOGIE DES BACTERIOPHAGES :

A- NATURE, CONFORMATION ET CLASSIFICATION DES BACTERIOPHAGES :

Le terme bactériophage regroupe l'ensemble des virus capables d'infecter les bactéries. Par définition, il s'agit donc de parasites intracellulaires obligatoires ne pouvant pas se multiplier sans détourner au préalable les capacités métaboliques des hôtes infectés, ici des hôtes bactériens (1–3) .

Le monde viral est aujourd'hui divisé en trois « ensembles » viraux qui correspondent aux trois domaines cellulaires que sont les eucaryotes, les bactéries et les archées. Il semble que chaque virus soit spécifique d'un domaine cellulaire et il ne semble pas y avoir de publication relatant l'existence d'un virus pouvant infecter à la fois des eucaryotes et des procaryotes. Jusqu'à la définition de la dichotomie entre archées et des bactéries, les bactériophages incluait l'ensemble des virus des procaryotes. En raison de cette distinction phylogénétique entre bactéries et archées et entre ces ensembles viraux, spécifiques de chaque domaine du vivant, certains chercheurs considèrent donc le terme « bactériophage » comme caduc et estiment qu'il devrait être abandonné au profit des termes « bactérovirus » et « archéovirus » (2). Toutefois, dans l'étude à suivre nous utiliserons indifféremment les termes « bactériophage » et « bactérovirus » car l'immense majorité des publications actuelles concernant l'étude des virus des bactéries et leur usage en phagothérapie vétérinaire emploient le terme « bactériophages ».

La structure des bactériophages (ou phages), est comparable à celle des virus qui infectent les cellules eucaryotes. Leur premier composant est une molécule portant leur information génétique. Il peut s'agir d'une molécule d'ADN double brin, d'une molécule d'ADN simple brin, d'une molécule d'ARN double brin ou d'une molécule d'ARN simple brin. La taille du génome des bactériophages est variable selon l'espèce considérée. Par exemple, le phage MS2 de la famille des *Levivirus* a son information portée par une molécule simple brin d'ARN constituée d'environ 3500 bases tandis que le *Bacillus virus G* contient une molécule d'ADN double brin de 500 000 bases (1). Cette molécule est encapsidée dans une capsidée formée par des protéines structurales. A cela peuvent s'ajouter des structures annexes pouvant être impliquées dans le cycle de vie du phage. Parmi ces « annexes », certains phages possèdent une queue, des fibres permettant l'adhésion à la bactérie ou une plaque basale (3). Morphologiquement, il est possible de distinguer des phages dit caudés, des phages avec une capsidée polyédrique, souvent en forme d'icosaèdre ou apparentés, des phages filamenteux et des phages pléomorphes. Des structures lipidiques sont aussi recensées dans certaines familles, soit sous la forme de vésicules internes à la capsidée, soit sous forme d'enveloppe. Les *Cystoviridae* sont une famille de phages enveloppés infectant des bactéries pathogènes pour les végétaux (4). Des représentations des principales familles de bactériophages sont présentes sur la figure 1.

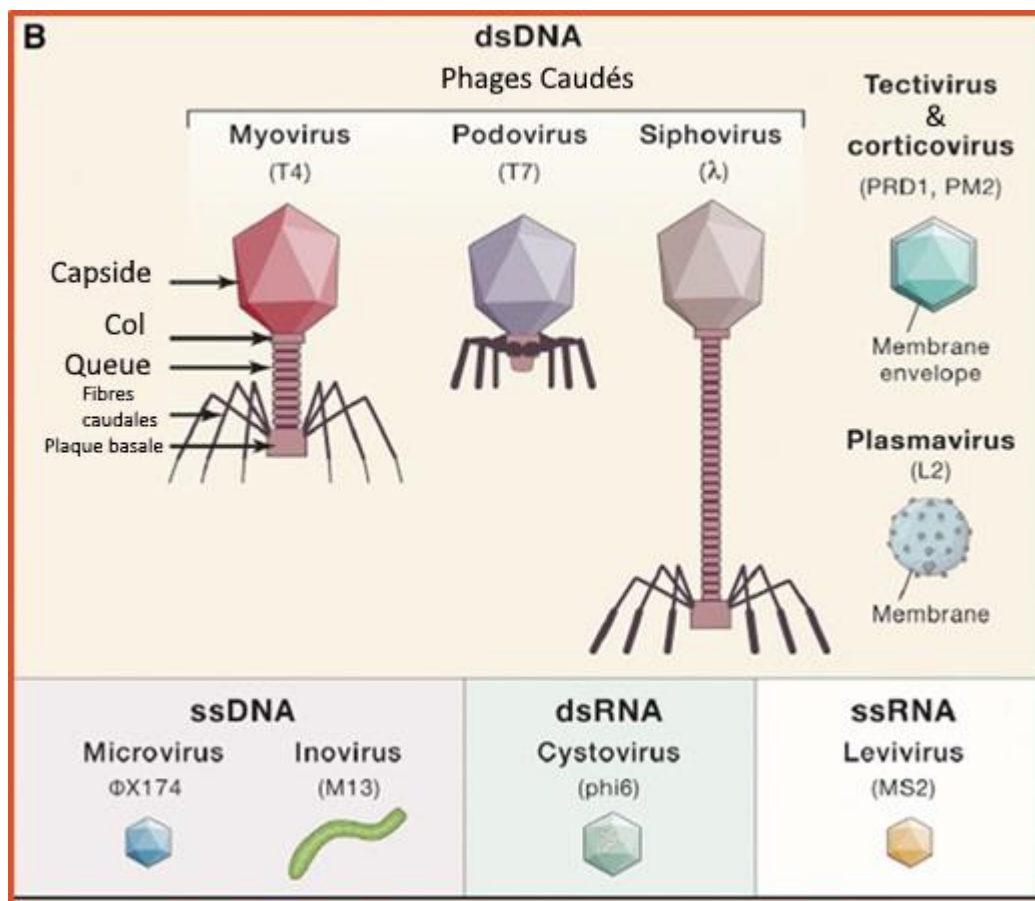


Figure 1 – Structures des bactériophages connus classifiés selon le support de leur information génétique D'après (3) : OFIR, Gal et SOREK, Rotem. Contemporary Phage Biology: From Classic Models to New Insights. *Cell*. 08 2018. Vol. 172, n° 6, pp. 1260-1270. DOI [10.1016/j.cell.2017.10.045](https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.10.045). Avec l'autorisation de Elsevier Science & Technology Journals © - 2018

Dans ses travaux de classification des virus, l'*International Comitee on Taxonomy of Virus* ou ICTV a organisé les bactériophages en ordres et familles selon leur morphologie, la nature du support de leur information génétique, la présence d'une enveloppe, leur spectre d'hôte et de nombreux autres critères (5). D'après Ackermann, plus de 95% des phages connus et identifiés à ce jour sont des phages caudés appartenant à l'ordre des *Caudovirales*. Ce sont des phages composés d'une molécule d'ADN linéaire double brin empaquetée dans une capsidie protéique formant une queue. La classification de l'ICTV comprend dans cet ordre 1967 espèces de virus principalement organisés en trois familles : les *Myoviridae* ; les *Siphoviridae* et les *Podoviridae* (6). Cet ordre est détaillé dans le tableau I.

Tableau I – Les *Caudovirales* : principaux virus utilisés en phagothérapie

CAUDOVIRALES	Famille	Nombre d'espèces	Particularités	Exemple de virus
	Siphoviridae	783	Longue queue non contractile	Phage λ
	Myoviridae	434	Queue contractile	Phage T4
	Podoviridae	132	Courte queue	Phage T7

Ces trois familles regroupent la plupart des bactériophages pour lesquels un potentiel usage en phagothérapie a été évoqué. L'appartenance à une famille virale ne permet toutefois pas de déduire le spectre d'hôte du phage considéré.

B- CYCLE BIOLOGIQUE DES BACTERIOPHAGES :

Les bactériophages, comme tous les virus, sont des parasites intracellulaires obligatoires. Ils piratent les capacités métaboliques et les systèmes enzymatiques d'une bactérie afin de pouvoir se multiplier. Dans tous les cas, cela nécessite une phase d'attachement du phage à la bactérie hôte puis la pénétration de l'information génétique du phage à l'intérieur de l'hôte. A partir de cette étape, plusieurs cycles sont possibles. Nous allons ci-dessous détailler les différents cycles existants et nous intéresser aux implications pratiques de ceux-ci.

1- ADHESION A LA BACTERIE

La première étape du cycle biologique des phages consiste en leur adhésion à la bactérie. Cette adhésion est essentielle dans la mesure où elle conditionne le spectre d'hôtes que le phage peut infecter (7–9). En effet, en l'absence de reconnaissance de structures permettant l'attachement, il sera impossible d'établir une liaison irréversible et stable permettant la pénétration du matériel génétique du phage dans la bactérie. Plus précisément, l'adhésion à la bactérie passe en premier lieu par une étape dite d'adsorption où, après une collision aléatoire, des interactions faibles non spécifiques et réversibles se mettent en place entre le virus et la cellule. Dans un second temps, s'il y a reconnaissance entre les protéines virales et les récepteurs cellulaires impliqués dans la pénétration du virus, des interactions spécifiques, stables et irréversibles se forment et permettent la continuation du cycle (7, 8). Les phages sont connus pour présenter une grande spécificité d'hôtes. Plus précisément, de nombreux phages n'infectant qu'une seule espèce bactérienne, voire une seule souche bactérienne, sont recensés. Ceci est à mettre en lien avec la spécificité de la reconnaissance entre les récepteurs et parfois avec le nombre et la localisation de ces récepteurs dans l'enveloppe bactérienne. Cette spécificité constitue à la fois un avantage et un inconvénient en phagothérapie. Nous pouvons ainsi distinguer deux types structures reconnues par les virus. Les facteurs d'attachement sont impliqués dans des liaisons réversibles entre le phage et la bactérie. Les récepteurs « d'entrée » assurent une liaison irréversible avec les protéines virales. En réponse à cette liaison, une modification de la conformation tridimensionnelle du phage a le plus souvent lieu et cela entraîne la cascade d'événements permettant la pénétration du virus dans la cellule (8, 9). Concernant la partie virale du couple, les protéines impliquées dans cette reconnaissance sont nommées adhésines. Chez les phages caudés, elles se trouvent principalement au niveau de la queue ou des fibrilles de la queue, leur partie C-terminale orientée vers l'extérieur de la capsid (10).

L'adsorption résulte d'un mécanisme aléatoire de collision entre le phage et la cellule. Le taux d'adsorption est donc régi par la loi d'action de masse, c'est-à-dire par la quantité de

phages et la quantité de potentielles cellules hôtes. D'autres paramètres physico-chimiques interviennent comme le pH, la température et la nature du milieu (9).

Les sites pouvant servir de récepteurs aux bactériophages sont nombreux et dépendent du couple bactérie/phage considéré (10). Il peut s'agir de protéines de transport insérées dans l'enveloppe bactérienne, de porines formant les canaux transmembranaires (11), ou encore d'enzymes. Notons aussi la capacité de certains phages à se lier à des protéines assurant l'efflux de molécules antibiotiques, ce qui pourrait permettre de sélectionner des souches bactériennes sensibles aux antibiotiques (12). Ces considérations seront étudiées plus en détails dans le paragraphe III-B-2-c dédié à la pharmacodynamie des phages. *In fine*, de nombreux éléments constitutifs de l'enveloppe bactérienne peuvent servir de site de fixation (9, 10).

Chez les bactéries Gram négatives, le lipopolysaccharide (ou LPS) peut servir de site de reconnaissance aux bactériophages, soit directement, soit par l'intermédiaire de complexes formés avec des protéines. Des expériences montrent, par exemple, que la protéine OmpA associée au LPS parvient à inhiber l'infectivité de phages K3 de la famille des *Myoviridae* lorsqu'ils sont cultivés dans une même solution. De plus, des bactéries ne produisant pas OmpA sont résistantes à l'infection par ces phages. Cette association sert de récepteur à plusieurs bactériophages (9, 11). La reconnaissance directe du LPS est parfois spécifiques au LPS de type R (Rough) ou à celui de type S (Smooth). Le LPS est composé d'une partie constante et d'une partie variable. La partie variable est constituée de l'antigène O tandis que la partie constante est formée d'un « core » et du lipide A. Les colonies de type S possèdent un LPS complet tandis que les colonies de type R présentent un LPS sans présence de la chaîne O. La chaîne O présente une plus grande variabilité que la partie constante qui est beaucoup plus conservée au sein des espèces et genre bactériens des bactéries Gram négatives (9). Par exemple, chez *Escherichia coli*, près de 200 sérotypes O différents sont connus (10). Dès lors, si certains bactériophages peuvent se lier aux deux types de LPS, ceux se liant uniquement à celui de type S présentent souvent un spectre beaucoup plus étroit que ceux se liant au LPS de type R (10).

Si le LPS revêt une importance certaine dans la fixation des phages aux bactéries Gram négatives, chez les bactéries Gram positives, la paroi se compose principalement du peptidoglycane et des acides téichoïques. Ces-derniers sont impliqués dans la reconnaissance de *Staphylococcus aureus* par de nombreux phages (9, 10).

Détaillons l'exemple de l'infection de la bactérie *Escherichia coli* E12 par le phage T4. Le phage T4 est un *Caudovirales* de la famille des *Myoviridae*. Il s'agit donc d'un phage caudé possédant une queue contractile à l'apex de laquelle se trouvent six grandes fibres. Sous la plaque basale, six fibres caudales courtes sont initialement repliées (13). Un modèle du bactériophage T4 est présenté sur la figure 2.

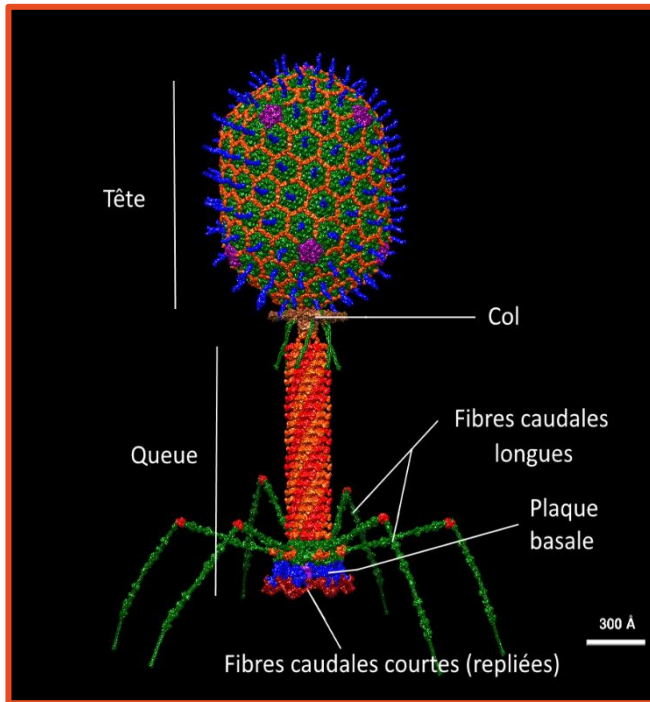


Figure 2 – Modèle du Bactériophage

T4 Représentation informatique de la structure tridimensionnelle du phage T4.

Adapté de (13) : PADILLA-SANCHEZ, Victor. Structural Model of Bacteriophage T4. *WikiJournal of Science*. 5 août 2021. Vol. 4, n° 1, pp. 5. DOI [10.15347/WJS/2021.005](https://doi.org/10.15347/WJS/2021.005) - Creative Commons CC BY-SA 4.0

La phase d’attachement nécessite en premier lieu la reconnaissance de la protéine OmpC, présente sur la membrane externe. Les fibres longues caudales du phage T4 se fixent alors de manière aléatoire et réversible. Lorsqu’au moins trois des longues fibres sont liées à OmpC, la conformation tridimensionnelle du phage change. En particulier, la plaque basale passe d’une forme hexagonale à une forme en étoile. Ceci entraîne le déploiement des six fibres caudales courtes dont la fixation sur le « core » du LPS est irréversible. Une contraction de la queue du phage a alors lieu et permet la poursuite du cycle (9, 10, 13–15). Cette modification tridimensionnelle de la queue et de la plaque basale est représentée sur la figure 3 (15).

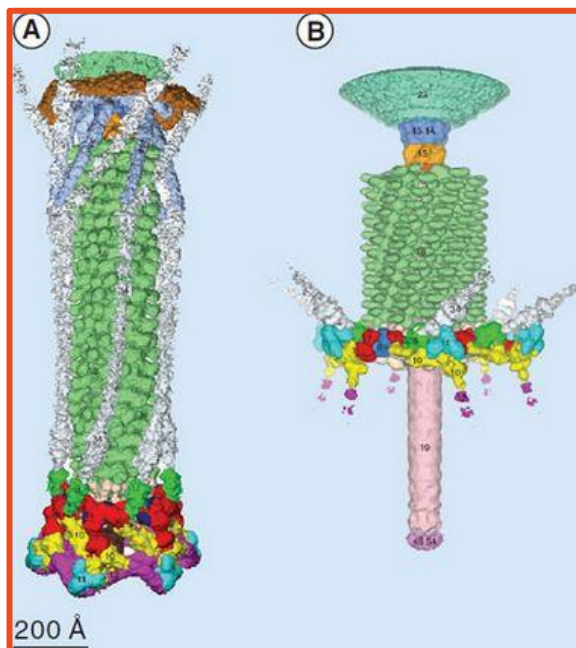


Figure 3 - Modification de la conformation tridimensionnelle de la queue et de la plaque basale du phage T4 – A : queue du phage avant fixation, B : queue du phage une fois la contraction ayant eu lieu

Source (15) : YAP, Moh Lan et ROSSMANN, Michael G. Structure and function of bacteriophage T4. *Future microbiology* [en ligne]. Octobre 2014, Vol. 9, p. 1319-1327. DOI [10.2217/fmb.14.91](https://doi.org/10.2217/fmb.14.91)

Avec l’autorisation de : Future Medicine Ltd. © 2014 - Springer Nature BV © 2005 et Elsevier Science & Technology Journals © 2004

2- PENETRATION DE L'INFORMATION GENETIQUE DANS LA BACTERIE :

La seconde phase de la réplication des phages nécessite la pénétration du matériel génétique au sein de la bactérie infectée. Nous l'avons vu, cette phase commence une fois le bactériophage fixé de manière irréversible. Nous étudierons ici quelques exemples détaillés dans la littérature, et principalement ceux concernant les trois grandes familles d'intérêt en phagothérapie : les *Myoviridae*, les *Siphoviridae* et les *Podoviridae*. Le cas des *Cystoviridae* sera aussi exposé afin d'illustrer le cas des phages enveloppés.

Pour les *Myoviridae*, nous reprendrons l'exemple du phage T4 exposé précédemment appliqué aux bactéries Gram négatives. La fixation des fibres longues caudales sur leur récepteur entraîne le changement de conformation tridimensionnelle de la plaque basale, reliée aux fibres par l'intermédiaire de la protéine gp9 (15). La cascade de modifications provoquée mène à la contraction de la queue du phage. Ceci expose une structure protéique tubulaire creuse, jusqu'ici présente à l'intérieur de la queue du virus qui ponctionne la membrane externe de l'hôte (9, 16, 17). Au bout de cette structure protéique, souvent comparée à une aiguille, se trouve une exolysine qui assure l'hydrolyse du peptidoglycane présent dans le périplasme (17, 18). Dès lors, au contact de la membrane plasmique bactérienne, des glycoprotéines virales forment un canal transmembranaire qui permet la migration du génome viral vers le cytoplasme (9, 17).

Les *Podoviridae*, dont fait partie le phage T7, sont des phages caudés avec une courte queue non contractile. Une fois le virus T7 fixé de manière irréversible, il change de conformation. Des protéines sont alors éjectées hors de la capsid et forment une extension tubulaire de la queue du phage. Le peptidoglycane est hydrolysé et la queue continue de s'étendre jusqu'à atteindre la membrane cytoplasmique de la bactérie où elle forme alors un canal transmembranaire. Ce canal permet la translocation de l'ADN depuis la tête du phage vers le cytoplasme (3, 19). La principale différence avec le cycle des *Myoviridae* réside en l'absence de contraction de la queue et de ponction de la membrane externe lors de la modification de la conformation du virus. Ce processus de pénétration des membranes des bactéries Gram négatives par le phage T7 est observé et modélisé sur la figure 4.

Les *Siphoviridae* sont des phages caudés à longue queue non contractile. Ils sont notamment représentés par le phage λ . Au bout de leur queue se trouvent des structures protéiques capables de s'insérer à travers les membranes lipidiques. De plus, des lysines peuvent permettre de lyser le peptidoglycane. Ces protéines forment ensuite le canal permettant le passage de l'ADN (20).

Concernant les phages enveloppés, nous décrivons ici le cas des *Cystoviridae*, famille virale infectant des bactéries du genre *Pseudomonas* pathogènes pour les plantes. La pénétration dans la bactérie implique une fois encore une reconnaissance entre des protéines du phage et leur récepteur bactérien. La membrane du virus fusionne alors avec la membrane externe de l'hôte et la capsid est libérée dans le périplasme. Le peptidoglycane est hydrolysé

par des enzymes présentes à la surface de la capside. Des protéines virales sont ensuite impliquées dans la formation d'une vésicule à partir de la membrane plasmique ce qui permet l'internalisation du phage. Ce mécanisme demeure obscur et la manière dont le phage se libère de la vésicule formée est mal connu. Toutefois, il semblerait que la dépolarisation de la membrane plasmique soit un élément clef de la pénétration du phage dans le cytosol (21, 22).

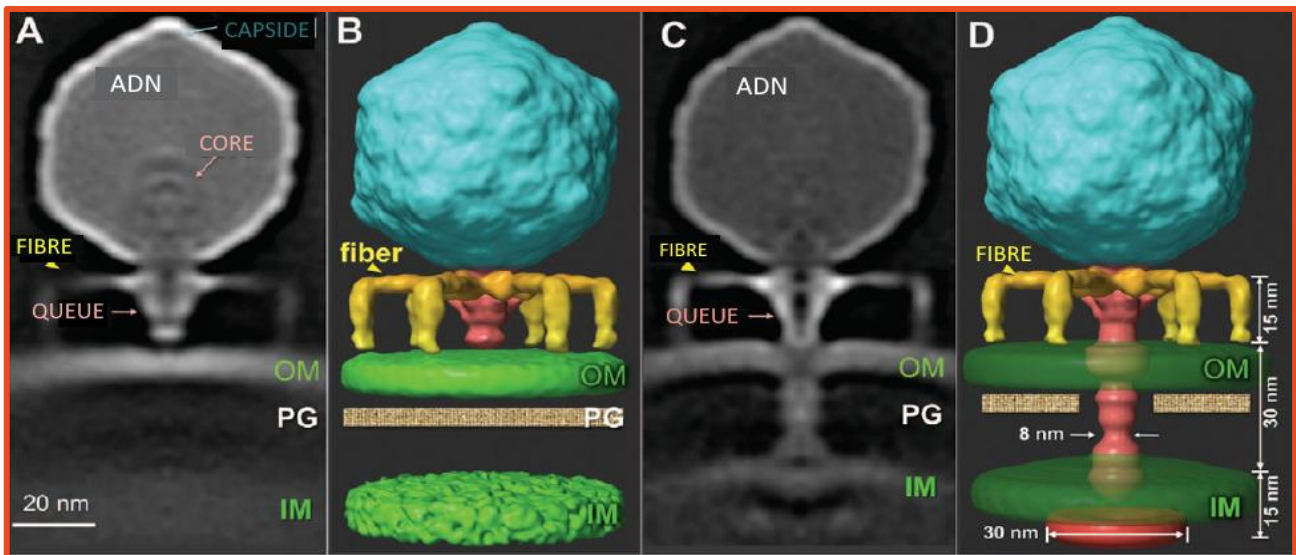


Figure 4 – Mécanisme de pénétration des membranes Gram négatives du phage T7, membre de la famille des *Podoviridae* (Microscopie électronique et modélisations informatiques) : OM = Membrane externe, IM = Membrane Interne, PG = Peptidoglycane. Ces images permettent d'observer la création d'un canal transmembranaire lors de l'infection des bactéries par le phage T7.

Adapté de (19) : HU, Bo, MARGOLIN, William, MOLINEUX, Ian J. et LIU, Jun. The Bacteriophage T7 Virion Undergoes Extensive Structural Remodeling During Infection. *Science*. 1 février 2013. Vol. 339, n° 6119, pp. 576-579. DOI [10.1126/science.1231887](https://doi.org/10.1126/science.1231887). – Avec l'autorisation de American Association for the Advancement of Science © 2013

Le mécanisme conduisant à la translocation de l'ADN de la tête des phages caudés vers le cytoplasme bactérien demeure aujourd'hui relativement obscur (20). Toutefois, il semblerait qu'il y ait deux grands mécanismes conditionnés par la largeur du canal formé par les protéines virales (23, 24). Si le canal est plus large que la molécule d'ADN, des ions et des molécules en fortes concentrations dans le cytosol peuvent fuir hors de la bactérie. A cause de la différence de pression osmotique entre les deux compartiments, l'eau va pénétrer dans la cellule, de la capsid vers le cytosol. Le mouvement des molécules d'eau entraîne alors la molécule portant l'information génétique. Si le canal est trop étroit pour permettre le passage des molécules d'eau simultanément à l'ADN, des protéines exerçant une traction active de l'ADN vers le cytosol sont nécessaires (24). Dans le cas du phage T7, initialement seules 1 000 bases d'un génome de 40 kb sont extériorisées par l'action combinée de deux glycoprotéines exerçant le rôle de nanomoteurs actifs exploitant le potentiel de membrane de la bactérie comme source d'énergie. Ensuite, la progression de l'ARN polymérase sur la molécule d'ADN virale permettrait, en utilisant l'énergie contenue au sein de la cellule bactérienne, de tracter l'ADN restant vers le cytosol (23). Certains modèles suggèrent aussi que des protéines

produites à l'issue de ces premières transcriptions pourraient aider à extraire la molécule hors de la capsid.

Pour les *Cystoviridae*, une fois la capsid internalisée, celle-ci est désassemblée ce qui libère l'ARN viral ainsi que les ARN-polymérase ARN dépendantes (24).

Une fois l'information génétique introduite dans la cellule, plusieurs cycles sont possibles. Certains phages sont capables de réaliser plusieurs de ces cycles en fonction des conditions auxquelles ils sont exposés. Nous allons maintenant étudier ces cycles.

3- LE CYCLE LYTIQUE

Le premier cycle que nous détaillerons est le cycle lytique. C'est le cycle le plus intéressant lorsque l'on s'intéresse à la phagothérapie, c'est-à-dire l'usage des bactériophages dans la lutte contre des infections bactériennes. Les phages qui ne peuvent que se multiplier par l'intermédiaire d'un cycle lytique sont appelés phages « virulents » (1). Environ 90% des phages connus peuvent être potentiellement impliqués dans un cycle lytique, et en particulier les *Caudovirales* (25).

Le principe général du cycle lytique consiste en la multiplication intense du phage au sein de la cellule bactérienne en utilisant les capacités métaboliques de cette dernière. Cela résulte en la formation de nombreux nouveaux bactériophages, fabriqués par la cellule, qui seront libérés dans le milieu lors de la rupture de la membrane plasmique et de la lyse bactérienne (26). Le principe de ce cycle est présenté sur la figure 5.

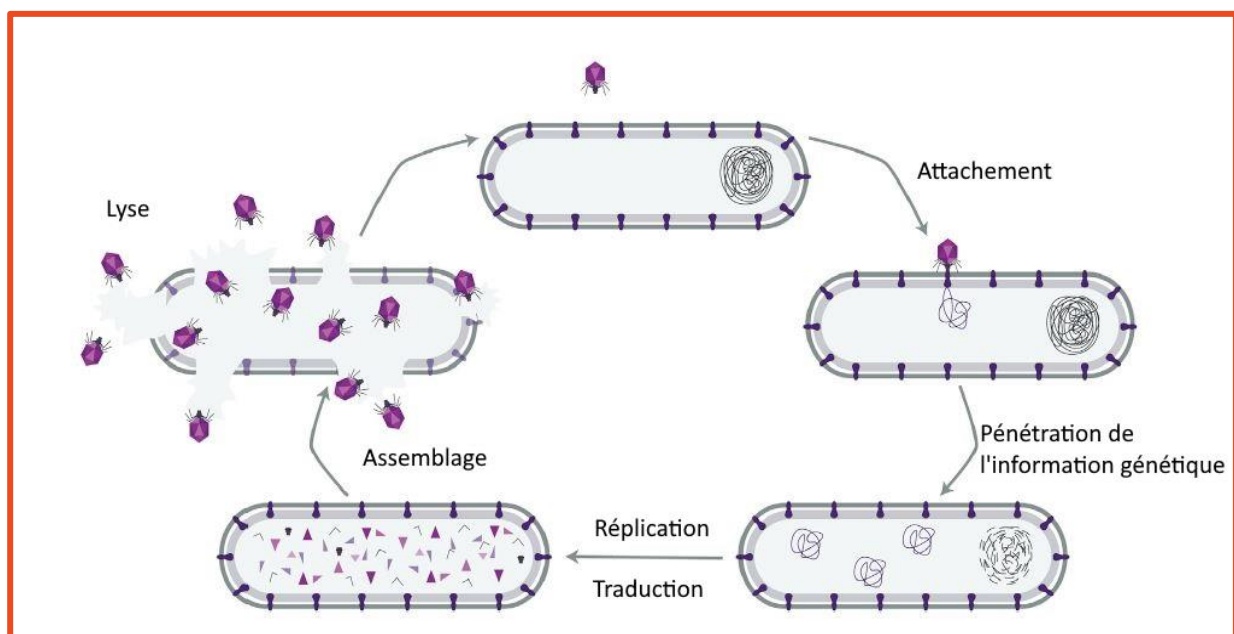


Figure 5 – Principe du cycle lytique : Après pénétration du génome viral dans la bactérie, celui-ci est répliqué et de nouveaux virions produits. La lyse de la bactérie permet la libération des virions.

Adapté d'après (12) : KORTRIGHT, Kaitlyn E., CHAN, Benjamin K., KOFF, Jonathan L. et TURNER, Paul E. *Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria*. *Cell Host & Microbe*. 13 2019. Vol. 25, n° 2, pp. 219-232. - avec l'autorisation de Elsevier Science & Technology Journals © - 2019

Dans les faits, lorsque l'information génétique du phage pénètre la bactérie, des promoteurs de transcription puissants sont reconnus et les ARN polymérase de l'hôte transcrivent immédiatement certains gènes viraux, nommés gènes de classe I (27, 28). Les protéines issues de ces séquences vont permettre de protéger le génome du phage, notamment en bloquant les enzymes de restriction bactériennes, d'inactiver des protéases ou de lyser des protéines de l'hôte et mettre fin à des processus métaboliques (27). Par exemple, lors de l'infection par le phage T7, la protéine Ocr, une des premières produites, empêche l'altération du génome viral en se fixant aux sites se liant à l'ADN des enzymes de restriction bactériennes (28). Les gènes codant la protéine kinase O,7, l'ARN polymérase du phage T7 et la protéine inhibitrice de la dGTPase sont transcrits par l'ARN polymérase bactérienne. Ces protéines mettent à disposition du phage T7 les processus métaboliques de l'hôte, notamment en inhibant l'activité de l'ARN polymérase bactérienne et assurant la transcription du génome du phage par une ARN polymérase virale (28). Les gènes de classe II sont alors transcrits. A terme, ils aboutissent à la destruction du génome bactérien et à la production d'enzymes permettant la réplication du génome viral (27). Parmi les protéines produites lors du cycle du phage T7, nous retrouvons notamment des endonucléases et des exonucléases dégradant l'ADN bactérien. Une hélicase et une exonucléase permettent la réplication du génome de T7. *In fine*, 80% des nucléotides utilisés dans la synthèse des répliques du génome de T7 sont issus de la dégradation de l'ADN bactérien. Enfin les derniers gènes transcrits, les gènes de classe III, codent les protéines structurales du phage. Une fois les ARN messagers traduits dans les ribosomes bactériens, les protéines obtenues s'assemblent dans le cytosol pour former la capsidie et les autres structures des nouveaux virions. Certaines protéines assurent l'empaquetage de l'ADN viral dans la capsidie. Les gènes de classe III codent aussi les protéines impliquées dans la lyse bactérienne qui permet la libération des virions (27). Le cycle viral du phage T7 est présenté sur la figure 6. Lorsque des phages, tels que les *Leviviridae*, n'ont pas leur information génétique portée par de l'ADN mais par de l'ARN, le mécanisme est globalement le même. La molécule d'ARN, la plupart du temps limitée au brin codant, est tout d'abord traduite et permet l'expression d'une réplicase qui assure la synthèse du brin d'ARN complémentaire puis la synthèse des ARN intégrés aux futurs virions. En parallèle, les protéines de la capsidie et celles nécessaires à la lyse cellulaire sont produites. Finalement, comme dans le cas précédemment évoqués, les virions s'assemblent et la lyse bactérienne intervient (27).

Concernant la lyse bactérienne, nous évoquerons plus en détails la lyse des cellules Gram négatives infectées par des *Caudovirales*, qui est la lyse la plus connue et étudiée à l'heure actuelle. Il a été montré par microscopie en temps réel que la lyse des bactéries par les phages se caractérise par une absence quasi-complète de modifications morphologiques de l'hôte jusqu'à l'observation du phénomène de lyse, rapide et soudain. Les principales enzymes impliquées sont au nombre de trois groupes : les holines, les endolysines et les spanines (29, 30). Les spanines sont des enzymes additionnelles, retrouvées principalement chez les phages infectant des bactéries Gram négatives puisqu'elles sont nécessaires à la destruction de la membrane externe (31). Ces protéines sont produites au cours du cycle viral.

Deux grands modèles de lyse sont à distinguer chez les bactéries Gram négatives: le modèle holines/endolysines et le modèle pinholines/SAR endolysines (29).

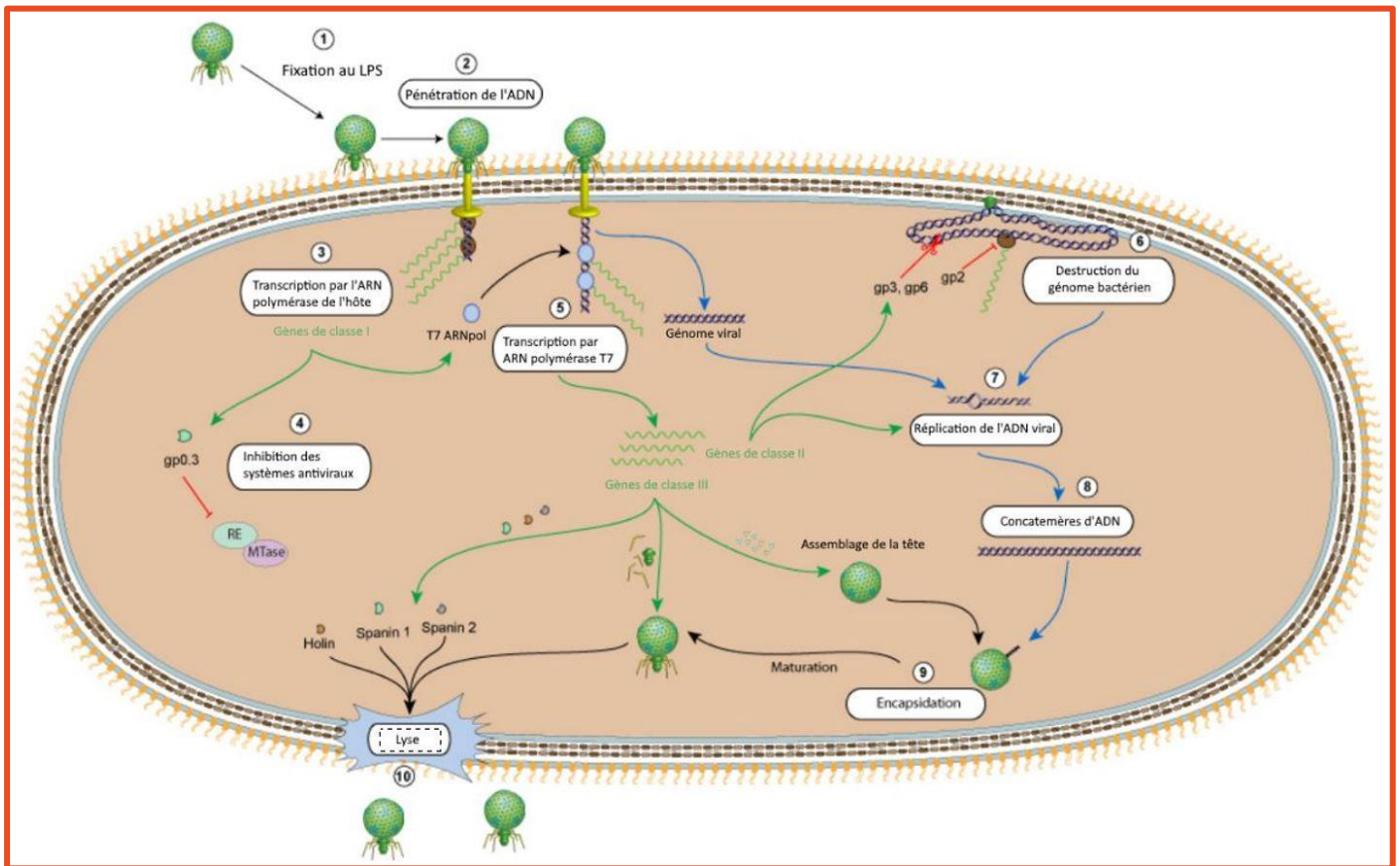


Figure 6 – Cycle lytique complet du phage T7 de la famille des Podoviridae – Après pénétration du génome viral dans la bactérie, la traduction de ce-dernier permet d’inhiber les systèmes antiviraux et la destruction du génome bactérien. L’ADN viral est répliqué, encapsidé et la lyse permet de libérer les virions.

Adapté de (28) : SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS. T7 cycle ~ ViralZone [en ligne]. [s. d.]. [Consulté le 6 avril 2022]. Disponible à l’adresse : <https://viralzone.expasy.org/3916> – Avec l’autorisation de Swiss Institute of Bioinformatics ©

Le modèle holines/endolysines se caractérise par l’accumulation de holines dans la membrane interne de l’hôte et des endolysines dans le cytoplasme. En diffusant dans la membrane, les holines se polymérisent (30). Notons aussi l’existence de protéines nommées antiholines qui, en se polymérisant avec les holines, les inactivent (30, 31). A un instant génétiquement programmé, probablement en lien avec l’atteinte d’une concentration critique (29, 31), un N-polymère est formé, N correspondant au nombre de holines nécessaires pour former un pore à travers la membrane interne (30). Ce pore perméabilise la membrane et entraîne la fuite d’ions vers le périplasma et donc la dépolarisation de la membrane. Cette modification du potentiel de membrane pourrait correspondre au signal qui entraînerait la modification de la conformation des autres polymères de holines et anti-holines présents dans la membrane qui formeraient de nombreux autres pores (30). La force protomotrice, une force conditionnée par l’existence d’un gradient de proton entre la cellule et son

environnement et impliquée dans la synthèse d'ATP, disparaît et les biosynthèses s'arrêtent. Les endolysines accumulées dans le cytosol passent à travers ces pores et lysent le protéoglycane (31).

Dans le modèle pinholine/SAR endolysine, les pinholines s'accumulent au sein de la membrane interne tandis que les SAR endolysines s'accumulent à sa surface externe (29, 31). Par un processus similaire à celui évoqué précédemment, les pinholines forment des pores dans la membrane qui se dépolarisent. Cette dépolarisation active les SAR endolysines et les libère de la surface membranaire vers le peptidoglycane qui est alors lysé (29).

Les spanines s'accumulent dans la membrane interne et la membrane externe. La lyse du peptidoglycane permet leur activité. Elles forment alors un pont entre les deux membranes et conduisent à leur fusion. Cette fusion est la dernière étape de la lyse des bactéries Gram négatives (29, 31).

4- LE CYCLE LYSOGENIQUE :

Une autre modalité d'infection des cellules bactériennes par un phage est le cycle lysogénique. Ce cycle commence encore une fois par la pénétration de l'information génétique du phage à l'intérieur de la bactérie. Les phages capables de réaliser un cycle lysogénique sont qualifiés de « tempérés » par opposition aux phages « virulents ». La lysogénie se définit comme un état d'association stable entre le phage et son hôte. Le génome viral est alors désigné en tant que prophage. Ce dernier est répliqué avec le génome bactérien et peut se présenter sous deux formes. Dans le premier cas, le génome viral est présent sous forme circulaire dans le cytoplasme et est alors appelé épisome. La seconde forme correspond à l'intégration du génome viral dans le chromosome bactérien. Le phage, au travers de son information génétique, se multiplie donc avec la bactérie. Notons que la plupart des phages tempérés codent une intégrase permettant leur intégration et leur excision de l'ADN bactérien (1, 26). La lysogénie, à travers l'apport d'information génétique, peut induire des modifications phénotypiques des populations bactériennes (26). En particulier, le génome viral peut permettre l'expression de nouvelles protéines. Ainsi, le matériel génétique apporté par lysogénie peut induire l'expression de facteurs de virulence chez les bactéries ou une résistance à la surinfection par d'autres phages ce qui protège la bactérie des infections lytiques. La lysogénie peut donc jouer un rôle dans l'émergence de pathogènes. Par exemple, les toxines de *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, mais aussi des enzymes ou des protéines protégeant les bactéries du système immunitaire sont codées par des séquences issues de phages et améliorent la valeur sélective de ces dernières (32). A titre d'exemple, la superoxyde dismutase permettant la survie de *Salmonella enterica* dans les lysosomes des macrophages est codée par un prophage. Des gènes modifiant l'antigène O de *E.coli* ou *Shigella spp* par glycosylation ou acétylation, altérant leur reconnaissance par le système immunitaire, sont aussi d'origine lysogénique (33).

De nombreux facteurs conditionnent le fait qu'un phage tempéré initiera un cycle lytique ou un cycle lysogénique. Parmi ces facteurs, il est possible de citer la compatibilité génétique avec l'hôte, l'état physiologique de l'hôte, ou la densité en phage (34–36). Par exemple, une étude menée en 2017 montre que les phages phi3T de la famille des *Siphoviridae* entraînent, lors de l'infection de bactérie du genre *Bacillus*, la fabrication d'un peptide de 6 acides aminés libéré dans le milieu. Lorsque la concentration en ce peptide devient suffisamment importante, les infections deviennent lysogéniques plutôt que lytiques (37). Une fois le génome viral intégré à la bactérie, il peut rester dormant. Cette phase de maintenance du prophage est notamment permise par l'expression de répresseurs. Par exemple, lorsque le phage λ est impliqué dans un cycle lysogénique, le facteur de transcription CI réprime la transcription des facteurs lytiques (34, 38). Une infection lysogénique peut revenir à une infection productive avec lyse de la bactérie. Ceci se fait soit spontanément, à une fréquence comprise entre 10^{-8} et 10^{-5} épisodes par cellule infectée pour le phage λ , soit à la suite d'un phénomène d'induction (34). Par exemple, toujours chez le phage λ , l'altération de l'ADN de la bactérie par des facteurs externes entraîne l'activation du système de réparation SOS et de la protéine RecA. L'activité de ce système mène à l'arrêt de l'expression du répresseur CI et donc à l'induction du cycle lytique (34). De nombreux signaux peuvent être responsables d'une telle induction tels que le pH, la température, des changements de nutriments dans le milieu, une altération de l'ADN bactérien ou encore une exposition aux antibiotiques. La dichotomie cycle lytique/cycle lysogénique est donc permise par l'équilibre entre différents répresseurs et protéines orientant un phage vers l'un des deux cycles (34, 38).

Ces mécanismes semblent présenter un intérêt évolutif. En effet, concernant phi3T, la communication médiée par la production de peptides assurerait la persistance du génome viral en permettant la production de virions lorsque ceux-ci sont les plus sujets à trouver des bactéries hôtes. Au contraire, lorsque de nombreux virions ont été produits et les bactéries lysées, la population bactérienne est moindre et la lysogénie permet d'assurer le maintien du génome (37). De nombreuses questions autour de la lysogénie, en particulier les raisons de sa prévalence dans une population bactérienne dans un milieu et à un temps donné et ses conséquences sur les populations virales et bactériennes, demeurent aujourd'hui sans réponse (34).

5- L'INFECTION CHRONIQUE :

La dernière modalité d'infection que nous évoquerons ici est l'infection chronique de la bactérie par le phage. Elle concerne principalement les phages filamenteux de la famille des *Inoviridae* de l'ordre des *Tubulavirales*. Ces bactériophages contiennent une molécule d'ADN circulaire simple brin au sein d'une capsidie longue et fine formée de la même protéine d'enveloppe répétée plusieurs milliers de fois. Il est possible de distinguer des virus parfaitement symétriques de virus ayant une géométrie hélicoïdale. Ces phages infectent le plus souvent des bactéries Gram négatives et ne tuent pas l'hôte chez lequel ils se multiplient (39, 40). Au contraire, ils peuvent parfois apporter un avantage à l'hôte. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, ces phages sont notamment impliqués dans la formation du biofilm bactérien

tandis que le phage CTX Φ permet à *Vibrio cholerae* de produire la toxine cholérique et de se disséminer par l'intermédiaire des diarrhées engendrées (39, 41).

Encore une fois, le cycle d'infection comprend un phénomène d'adhésion du phage à la bactérie puis une phase de pénétration de l'ADN. Les phages filamenteux peuvent alors entraîner une infection chronique produisant des virions ou entrer en lysogénie. L'infection chronique est liée à des facteurs de stress, notamment à un manque de nutriments dans le milieu (41). Ces phages se lient d'abord aux *pili*, des structures à la surface des cellules bactériennes. La rétraction des *pili* rapproche les phages de protéines présentes sur la membrane interne de la bactérie, jouant le rôle de seconds récepteurs. Les virus pénètrent alors dans la cellule. Selon les cas, l'ADN est alors répliqué ou intégré au chromosome bactérien. Dans le cas de la réplication, puisqu'il n'y a qu'un seul brin d'ADN, le brin complémentaire est synthétisé, il y a réplication de l'ADN et transcription puis traduction. Des molécules d'ADN simple brins sont empaquetées par des protéines et les phages assemblés. Ces phages sont ensuite sécrétés activement hors de la cellule à travers des canaux protéiques codés par les phages et s'insérant dans la membrane de la bactérie (40).

Les bactériophages filamenteux réduisent la plupart du temps la vitesse de multiplication des souches bactériennes infectées mais dans le cas du phage CTX Φ et de *Vibrio cholerae* ceci n'est pas rapporté. Cette association semble être réciproquement profitable, suite à une coévolution permettant à CTX Φ d'utiliser les outils métaboliques de son hôte pour assurer sa réplication sans en altérer la survie et en lui offrant des facteurs de virulence permettant sa dissémination (39)

6- MECANISMES DE DEFENSE BACTERIENS :

Nous avons jusqu'ici évoqué les principaux mécanismes d'infection des bactéries par les phages. L'évolution conjointe de ces deux entités selon un modèle proie/prédateur a mené à la sélection de mécanismes de défense bactériens face aux phages. Parmi ces mécanismes, nous pouvons notamment citer : l'empêchement de l'adsorption des phages, le blocage de l'entrée de l'ADN viral dans la cellule, la dégradation de cet ADN et enfin l'induction d'infections abortives (42).

Nous l'avons évoqué dans la partie concernant l'adsorption du phage à la bactérie, cette étape essentielle du cycle viral est conditionnée par la reconnaissance entre le phage et ses récepteurs présents à la surface de la bactérie. La modification de ces récepteurs causée par des mutations peut rendre une bactérie résistante à l'infection par les phages (42). Notons aussi la capacité de certaines bactéries à produire des protéines masquant ces récepteurs. La protéine A produite par *Staphylococcus aureus* réduirait l'adsorption des phages en se liant à la fraction constante des immunoglobulines G et en masquant le récepteur utilisé par les virus (42, 43). La production d'une matrice extracellulaire (alginates, ...) par la bactérie permet aussi d'empêcher l'accès des récepteurs aux phages ne disposant pas des enzymes nécessaires pour la lyser.

L'entrée de l'ADN viral dans la cellule bactérienne permet sa traduction, la mise en place des outils permettant au virus de détourner les processus métaboliques de l'hôte puis d'assurer sa propre réplication. Bloquer l'entrée de cet ADN est un moyen d'interrompre le cycle viral. Dans les faits, ces mécanismes de défense sont liés à des protéines issues de phages, permettant donc d'exclure des phénomènes de « super infection ». Les protéines Imm et Sp, codées par le génome du phage T4, empêchent l'infection de la bactérie par d'autres phages. Imm est une protéine transmembranaire bloquant le passage de l'ADN viral à travers cette membrane en modifiant la conformation du site d'injection. De son côté, Sp inhibe l'activité de l'enzyme du phage T4 lysant le peptidoglycane. L'action combinée de ces deux protéines permet d'empêcher la pénétration d'ADN viral (42). Si ce système est un des plus caractérisés, notons que d'autres systèmes d'exclusion des super infections existent et sont portés par des prophages.

La dégradation de l'ADN viral met en jeu les enzymes de restriction et le système CRISPR/Cas (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats et CRISPR ASSociated proteins*), enzymes aujourd'hui très connues à travers leur utilisation en génie génétique (42). Les enzymes de restrictions sont des endonucléases reconnaissant des séquences spécifiques dans l'ADN. L'ADN bactérien est protégé grâce à la méthylation de ses nucléotides par une méthyltransférase. Le génome viral n'est, de son côté pas protégé, et sera donc coupé par les enzymes de restriction si des contre-mesures n'ont pas été mises en place, comme nous l'avons évoqué dans le paragraphe concernant le cycle lytique. Les enzymes de restriction coupent uniquement de l'ADN bicaténaire (44). Le système CRISPR/Cas est un mécanisme d'immunité adaptative des bactéries face aux phages. On retrouve ainsi dans l'ADN bactérien des *loci* CRISPR, constitués d'une multitude de séquences génétiques répétées. Ces séquences répétées sont séparées entre elles par des petites séquences nommées « spacers ». Ces « spacers » sont en fait introduits dans l'ADN non codant de la bactérie à partir de séquences virales et sont des marqueurs des infections passées subies par une population bactérienne. L'acquisition d'un nouveau spacer lors d'infection virale correspond à un phénomène nommé adaptation ou immunisation (44). Dans une population bactérienne naïve, la fréquence d'apparition de ce phénomène est approximée à 1.10^{-6} (42). Le « spacer » est exactement identique à une séquence présente dans le génome viral. Les spacers sont transcrits et forment des complexes avec les protéines Cas. La présence des ARN transcrits à partir des « spacers » permet au complexe de reconnaître la séquence complémentaire présente dans le génome viral et la protéine Cas clive la molécule (44). Le système CRISPR/Cas sert donc d'immunité adaptative pour les populations bactériennes.

Enfin, certaines protéines peuvent induire des infections abortives lors d'infection virale en induisant la mort de la cellule bactérienne (42, 44). Ainsi certaines souches de *E.coli* présentent un tel mécanisme, médié par les protéines RexA et RexB, lors de l'infection par le phage λ . En l'absence d'infection, les protéines RexA et RexB sont inactives, respectivement dans le cytosol et dans la membrane interne. Lors de la pénétration du génome viral, des protéines bactériennes forment un complexe avec l'ADN viral. Ce complexe est reconnu par

RexA qui devient active. Les protéines RexA activent à leur tour les protéines RexB dans la membrane qui forment alors un canal ionique transmembranaire. Ce canal entraîne la perte du potentiel de membrane et la diminution d'énergie cellulaire disponible. A terme, cela induit l'avortement de l'infection virale (42).

Si les bactéries présentent des moyens de défense, la coévolution constante des bactériophages avec ces-dernières amène aujourd'hui à la découverte de mécanismes utilisés par les phages pour leur échapper (44). Ces évolutions passent par la sélection de nouvelles enzymes pour accéder aux récepteurs masqués, à la reconnaissance de nouveaux facteurs d'attachement et récepteurs ou à la présence de protéines bloquant l'activité des enzymes de restriction, comme nous l'avons déjà évoqué.

C- ECOLOGIE DES BACTERIOPHAGES

1- IMPORTANCE DANS L'ECOSYSTEME

A l'instar des bactéries, les bactériophages jouent un rôle non-négligeable dans l'écosystème. Il semblerait qu'ils soient présents dans la quasi-totalité des niches écologiques. Les estimations du nombre de virus sur Terre s'échelonnent de 10^{31} à 10^{32} particules virales (45). Les phages sont donc considérés comme une des entités les plus abondantes sur notre planète et sont recensés dans la plupart des environnements, du désert du Sahara aux pôles (26). Leur présence est rapportée dans les milieux aquatiques, dans les eaux usées, dans les sols et sous-sols mais aussi en association avec les êtres vivants pluricellulaires.

Les bactériophages sont présents en très grands nombres dans les océans. Ces phages peuvent notamment infecter des cyanobactéries telles que *Synechoccus* ou *Prochlorococcus*. Ces virus sont alors dénommés cyanophages (46). Dans les eaux marines, les virus les plus fréquemment identifiés correspondent à des virus de la famille des *Myoviridae*, des *Siphoviridae* ou des *Podoviridae* (46, 47). Des prélèvements d'eaux sur lesquels des comptages viraux ont été réalisés révèlent un nombre de particules de l'ordre de 10^7 particules par mL dans les eaux marines et dans les eaux douces issues de mares ou de lacs de barrages par exemple (45). Les deux genres de cyanobactéries cités précédemment sont estimés comme responsable de 50% de la production primaire des océans, c'est-à-dire de la synthèse de biomasse à partir d'énergie et d'éléments minéraux (48). Les phages infectant ces cyanobactéries et les bactéries hétérotrophes des océans ont donc une grande importance dans le cycle du carbone à l'échelle mondiale. Ils seraient responsables d'un flux de carbone dans les océans de 150 gigatonnes par an (29, 47). A titre de comparaison, les émissions atmosphériques de carbone liées à l'usage d'énergies fossiles entre 2010 et 2019 sont estimées, en moyenne, à 9,4 gigatonnes par an (49).

Les phages sont aussi présents chez les êtres vivants. L'être humain porte ainsi de nombreux phages dans son tube digestif mais aussi sur sa peau et ses muqueuses (50). Il est possible d'isoler des phages depuis les cheveux, la peau, les follicules pileux, l'urine ou les

fèces des humains ou des animaux (51) . Chez les hommes, les concentrations en particules virales sont estimées à 10^{10}mL^{-1} dans les fèces tandis que chez les chevaux cette valeur atteint 10^{11}mL^{-1} . Parmi ces particules, la microscopie électronique montre que l'immense majorité correspond, chez des individus en bonne santé, à des phages. Chez les ruminants, les concentrations ruminales en bactériophages sont estimées entre 10^9 et 10^{10} mL^{-1} . La plupart des phages isolés dans les fèces d'êtres vivants sont des *Caudovirales*. Les quantités de phages ainsi que la nature de leurs interactions avec les flores commensales des animaux varient selon les espèces. Par exemple, si les coliphages sont naturellement présents dans le tube digestif des chevaux et excrétés dans les crottins, les conditions présentes dans le tube digestif murin semblent défavorables à leur réplication et à leur excrétion. De plus, si la plupart des coliphages isolés dans l'espèce équine sont virulents, dans l'espèce humaine les virus isolés sont le plus souvent tempérés. Les interactions sont assez mal connues et impliquent le bactériophage, son hôte bactérien et l'organisme dans lequel ils se trouvent (48).

2- RESISTANCE DANS L'ENVIRONNEMENT

Comme nous l'avons évoqué plus tôt, il est possible d'isoler des phages dans la plupart des environnements terrestres, du désert du Sahara jusqu'aux pôles glaciaires (26). Certains virus résistent donc à des conditions extrêmes. Par exemple, les phages T1 sont résistants à la dessiccation tandis que les phages du groupe *Thermus* qui regroupe notamment des *Siphoviridae* ont pu être isolés dans les sources chaudes d'Islande, de Chine, du Japon et des Etats-Unis d'Amérique à une température de plus de 70°C et un pH de 7 (27, 52).

Si la résistance des phages aux agents chimiques et physiques varie selon l'espèce considérée, il est cependant possible d'essayer de tirer quelques grandes tendances. Les phages sont dans leur ensemble assez sensibles aux rayonnements ultraviolets. Ceci est particulièrement vrai pour les rayonnements proches de 260 nm et pour les UV lointains, c'est-à-dire les rayonnements ultraviolets dont la longueur d'onde est comprise entre 122 et 200 nm. Concernant le pH, les domaines de stabilité des phages s'étendent d'un pH de 5 à un pH de 8 pour la plupart des phages. Cependant, certains sont toujours stables pour des pH proches de 3. Le phage TS4 isolé dans des sources chaudes de la province de Yunnan en Chine est ainsi stable pour une échelle de pH allant de 3 à 10 (52). Il est donc nécessaire de caractériser chaque phage indépendamment, par exemple dans l'optique d'une administration par voie orale dans le cadre de phagothérapie. La nature protéique des phages les rend assez sensible aux molécules dénaturants les protéines comme l'urée mais l'inactivation dépend de la concentration de la molécule et de la température appliquée. A l'exception des phages enveloppés, la plupart des phages sont très peu sensibles aux détergents (27).

POINTS ESSENTIELS : NATURE ET BIOLOGIE DES BACTERIOPHAGES

- Les bactériophages ou phages sont des virus spécifiques des bactéries.
- Ils sont constitués d'une molécule d'ADN ou d'ARN portant l'information génétique contenue dans une capsidie protéique.
- La plupart des phages caractérisés à ce jour appartiennent à l'ordre des Caudovirales, les phages caudés.
- Ce sont des parasites intracellulaires obligatoires qui détournent les capacités métaboliques de leur hôte à leur profit pour pouvoir se multiplier !
- Le cycle biologique des phages regroupe plusieurs étapes : l'attachement, la pénétration dans la cellule puis la multiplication du phage.
- L'attachement est un processus essentiel qui définit le spectre d'hôte du bactériophage. Il repose sur la création d'une liaison irréversible entre des structures du phage et des structures de la cellule bactérienne. Cela résulte d'un mécanisme aléatoire de collision entre le phage et son hôte et est influencé par de nombreux paramètres physico-chimiques tels que le pH ou la température.
- Les phages présentent une grande spécificité d'hôte.
- La pénétration du matériel génétique du phage vers l'intérieur de la bactérie met la plupart du temps en jeu des modifications conformationnelles de la structure du bactériophage.
- Plusieurs cycles sont possibles et dépendent de l'espèce de phages et de nombreux facteurs.
- Le cycle lytique permet la production de virions. Ces-dernier sont produits par le détournement du métabolisme de la cellule bactérienne infectée et l'expression des gènes viraux. Une fois les virions produits, ils sont libérés lors de la lyse de la cellule bactérienne qui met en jeu des enzymes telles que les holines, les endolysines et les spanines. C'est le cycle le plus intéressant en phagothérapie.
- Le cycle lysogénique correspond à un état d'association stable entre la bactérie et le virus. Le génome viral devient un prophage et est répliqué en même temps que le génome bactérien. Cette association peut apporter à la bactérie des gènes pathogènes ou des gènes de résistances aux antibiotiques qu'elle n'exprimait pas auparavant et donc modifier le phénotype de populations bactériennes entières.
- L'entrée en lysogénie est influencée par de nombreux facteurs tels que la concentration en phages dans le milieu, la compatibilité génétique ou l'état physiologique de l'hôte. Un cycle lysogénique peut aussi devenir productif, notamment si l'hôte bactérien est exposé à un stress.
- L'infection chronique concerne en particulier les phages filamenteux et ne conduit pas à la lyse de la bactérie.
- Divers mécanismes de défense bactériens existent. Des années d'évolution commune ont conduit à une véritable « course à l'armement » entre les phages et les bactéries qu'ils infectent.
- Les bactériophages sont présents en grande quantité dans l'environnement et sont considérés comme les entités les plus abondantes sur Terre. Ils sont trouvés dans tous types de milieux et leur résistance varie beaucoup selon l'espèce. Ils sont sensibles aux ultraviolets et globalement résistants aux détergents.

PARTIE II- HISTOIRE DE LA PHAGOTHERAPIE ET REGAIN D'INTERET ACTUEL :

La phagothérapie, sa découverte, son oubli et le regain d'intérêt qu'elle connaît aujourd'hui sont intimement liés à l'histoire du monde et à l'évolution des défis rencontrés en médecine. Auguste Comte affirmait dans son *Cours de Philosophie positive* : « *On ne connaît pas complètement une science tant qu'on n'en connaît pas l'histoire* ». La partie ci-dessous sera donc consacrée à l'histoire de la phagothérapie afin de mettre en lumière les enjeux actuels et les raisons du regain d'intérêt du monde scientifique à son égard.

A- DECOUVERTE DES BACTERIOPHAGES ET PREMICES DE LA PHAGOTHERAPIE

1- DECOUVERTE DES BACTERIOPHAGES

La paternité de la découverte des phages est un sujet relativement contesté au sein de la communauté scientifique. Selon certains scientifiques, le premier à avoir parlé d'un phénomène potentiellement induit par les bactériophages est le bactériologiste britannique Ernest Hanbury Hankin. Commissionné par le Commonwealth, il étudia les épidémies de choléra en Inde. Lors de ses études, il réalisa des prélèvements des eaux du Gange et de la Yamuna et constata, au contraire de ses hypothèses initiales, une faible contamination de ces derniers par *Vibrio cholerae*. Selon lui, une entité biologique présente dans les eaux de ces deux fleuves indiens limitait la croissance des bactéries. Cette substance est rapportée comme thermolabile puisque « *l'eau du Gange non bouillie tue le microbe du choléra en moins de trois heures* » (53). Son travail fut alors publié dans les *Annales de l'institut Pasteur* en 1896 (53, 54). Il faut toutefois considérer que l'attribution des effets observés par Hankin aux bactériophages peut être contestable. La spécificité de l'inhibition bactérienne pourrait potentiellement être attribuée à une présence de phages. En effet, les eaux du Gange n'étaient pas actives contre certaines souches de *Vibrio cholerae* tandis que des eaux de la Yamuna l'étaient. Cependant, lorsque Hankin chauffait des tubes scellés hermétiquement, le pouvoir bactéricide demeurait présent, ce qui ne correspond pas aux propriétés des phages (55). Au total, plus d'une trentaine d'articles peuvent être considérés comme faisant partie de la préhistoire des phages (55).

Il est toutefois convenu que la découverte des phages résulte des expériences indépendantes de deux hommes : le britannique Frederik Twort et le franco-canadien Félix d'Hérelle. En 1915, Twort remarqua que des cultures en souche « pure » de bactéries pouvaient être associées avec un matériel non filtrable qui détruisait les bactéries. Il décrit alors des « formations vitreuses » au sein de colonies de microcoques (1, 56, 57). Le matériel isolé pouvait infecter et altérer la croissance de microcoques pour un grand nombre de générations. Il observa aussi la formation de cercles transparents sur des géloses. Il décrit ce matériel comme incapable de se multiplier sans bactérie mais comme pouvant garder son potentiel d'altération des cultures pendant plusieurs mois. Il nota aussi que cette entité perdait sa capacité à altérer les cultures bactériennes si elle était chauffée à 60°C pendant

plusieurs minutes. Bien qu'il n'exclût pas la potentialité que le responsable de ces altérations soit un virus invisible au microscope, sa principale hypothèse était la présence d'une enzyme sécrétée par les microcoques. Il évoqua aussi des amibes ou un stade particulier dans le cycle de vie de la bactérie (54, 57). Twort ne put pousser ses expérimentations plus loin pour des raisons financières. En 1917, Félix d'Hérelle, un microbiologiste franco-canadien travaillant pour l'institut Pasteur de Paris travaillait sur les selles d'individus convalescents de dysenterie. Il parvint à isoler un microbe « anti-Shiga » en filtrant et incubant des fèces pendant 18 heures. Il remarqua que ce filtrat parvenait à arrêter le développement et à lyser les bacilles incriminés. Sans les bacilles, le microbe ne pouvait pas se multiplier. De plus, il n'attaquait pas des bacilles préalablement inactivés par la chaleur. D'Hérelle considéra, de manière erronée, ce microbe comme étant responsable de l'immunité des animaux. En effet, des cultures du « microbe anti-Shiga » parvenaient à protéger des lapins de doses de bacilles qui tuent des lapins témoins en 5 jours. Felix d'Hérelle fût alors le premier à utiliser le terme de bactériophage. Dès sa première étude, il envisagea d'appliquer un protocole analogue concernant le traitement de la fièvre paratyphoïde (58). D'Hérelle comprit très rapidement le potentiel intérêt des phages en médecine mais considéra ces virus comme des agents de l'immunité endogène. Cette double découverte des phages sera à la base d'une querelle scientifique entre les partisans de d'Hérelle et ceux de Twort (59).

2- PREMICES DE LA PHAGOTHERAPIE

Rapidement après ses premiers travaux ayant permis la découverte des bactériophages, Félix d'Herelle imagina l'emploi de bactériophages multipliés en laboratoire à des fins thérapeutiques et prophylactiques (59). En 1919, il utilisa la phagothérapie pour soigner des poulets atteints de typhose (12). Les années 1920 virent donc les prémices de la phagothérapie à travers plusieurs essais cliniques. Par exemple, un des premiers essais cliniques en France fut mené en 1921 par Bruynoghe et Maisin pour lutter contre les infections staphylococciques de la peau. En 48h, les deux chercheurs obtenaient une réduction des lésions et de la douleur associée. Les phages furent aussi employés dans le traitement d'une épidémie de peste bubonique en Egypte en 1925 (50). Enfin, d'Hérelle les utilisa pour décontaminer l'eau de puits et traiter des individus malades au cours d'une épidémie de choléra en Inde en 1926 (12, 50).

L'intérêt pour ces traitements était alors tel que d'Hérelle fonda son propre laboratoire, le « Laboratoire du bactériophage » produisant cinq cocktails de bactériophages dont le « *Bacté-Coli-Phage* », le « *Bacté-pyo-phage* » ou le « *Bacté-intesti-phage* ». Ces spécialités ont ainsi été commercialisées en France de 1928 jusqu'à 1978, d'abord par le laboratoire fondé par d'Hérelle puis par le groupe L'Oréal (60). Paradoxalement et malgré l'enthousiasme saisissant alors une partie de la communauté scientifique de l'époque, la nature des bactériophages demeurait mal comprise.

B- ÈRE DES ANTIBIOTIQUES ET CREPUSCULE DE LA PHAGOTHERAPIE EN OCCIDENT

1- PREMIERES OBJECTIONS ET DECOUVERTE DES ANTIBIOTIQUES

Malgré les premiers succès, qui conduisirent certains médecins à considérer la phagothérapie comme la panacée, d'autres, plus sceptiques, mirent rapidement en évidence certaines limites (59). Parmi ces critiques, nous pouvons notamment citer les désavantages liés au spectre étroit des phages, la purification insuffisante des préparations ou le manque de stabilité des phages produits. A cela s'ajoutent des prétentions exagérées quant à l'utilité des bactériophages avec certaines préparations affirmant pouvoir traiter l'herpès ou l'eczéma. *In fine*, la plupart des critiques et limites à la phagothérapie trouvaient leur origine dans une mauvaise compréhension des bactériophages, de leur nature, de leur hétérogénéité et d'un manque de preuves scientifiques de leur efficacité (60).

Tandis que la phagothérapie connaissait un essor relatif dans les années 1920-1930, le britannique Alexander Fleming découvrit accidentellement la pénicilline en 1928. Or, à l'aube des années 1930, l'échiquier politique profilait déjà l'explosion de la Seconde Guerre mondiale qui entraîna une hausse massive de la demande en anti-infectieux, en particulier au cours de la guerre du Pacifique. Contrairement aux préparations bactériophagiques, les sulfamides et pénicillines étaient plus stables, plus faciles à fabriquer en grandes quantités et plus facilement administrables aux patients. De plus, leur large spectre était alors perçu comme un avantage comparativement aux bactériophages (50).

2- QUERELLES SCIENTIFIQUES ET CREPUSCULE DE LA PHAGOTHERAPIE

La facilité d'emploi et de production des antibiotiques et les critiques qui s'accumulaient vis-à-vis des bactériophages laissaient alors présager une hégémonie de l'antibiothérapie dans la pratique médicale à partir des années 1940-1950. Toutefois, cela ne suffit pas à expliquer la disparition quasi-totale de ce savoir en occident. En plus de ces éléments, le crépuscule de la phagothérapie trouve son origine dans une querelle scientifique opposant d'Hérelle à certaines autres sommités de l'époque mais aussi dans le contexte géopolitique.

Nous l'avons évoqué précédemment, la découverte des bactériophages est le résultat des travaux de Twort et de d'Hérelle. La « querelle » suivant l'attribution de cette double découverte et sur la nature du phénomène observé vit Twort indirectement représenté par Jules Bordet, ayant reçu le prix Nobel de médecine pour ses travaux sur l'immunité. Si d'Hérelle considérait la lyse qu'il observait comme l'action de virus, il considérait aussi que ces-derniers étaient directement responsables de l'immunité. Bordet, de son côté, avait reçu le prix Nobel pour ses travaux sur la lyse des bactéries par l'intermédiaire des anticorps. Toutefois, d'Hérelle considéra les travaux de Bordet comme une erreur. La réponse ne se fit pas attendre et Bordet et ses disciples attaquèrent d'Hérelle à travers de multiples publications, considérant de leur côté les phages comme des enzymes lytiques (50, 59). La

majorité de la communauté scientifique de l'époque se rangea alors derrière le nobélisé Bordet plutôt que derrière l'iconoclaste d'Hérelle. John Nortrop, ayant reçu le prix Nobel pour ses travaux sur la trypsine et la pepsine, considéra aussi que les phages étaient une enzyme (59). Malheureusement pour d'Hérelle, la première image des bactériophages fut obtenue par microscopie électronique en Allemagne dès 1940, mais la Seconde Guerre mondiale ne favorisa pas le partage de cette découverte dans les pays ennemis de l'Axe (61).

En plus de cet aspect personnel des attaques, un aspect purement politique s'empara des recherches sur la phagothérapie. En 1934, d'Hérelle rejoignit un de ses disciples, George Eliava, pour fonder un centre de recherche sur le phage à Tbilissi, capitale de la république soviétique de Géorgie. En plus d'être utilisée et développée par les services de santé de la Wehrmacht et de l'armée impériale japonaise, la phagothérapie s'est donc retrouvée associée aux régimes communistes, ces-derniers ne bénéficiant pas des nombreuses découvertes occidentales concernant l'antibiothérapie. *In fine*, la phagothérapie fut rapidement considérée comme une discipline pratiquée par les ennemis de l'occident (59).

Le crépuscule de la phagothérapie s'explique donc par un ensemble de causes dont notamment les querelles personnelles entre scientifiques, le contexte géopolitique associant la phagothérapie aux ennemis des Etats-Unis d'Amérique, un manque de preuves scientifiques solides sur l'efficacité de la phagothérapie, des attentes et promesses démesurées et une utilisation bien plus contraignante que celle des antibiotiques (50, 56, 59, 60). En 1963, Gunther Stent actera ce crépuscule à travers une publication considérant la phagothérapie comme une croyance plutôt qu'une science, comme une technologie obsolète et comme une discipline portée par les ennemis de l'Amérique (62). Les recherches sur les phages se limitèrent dès lors à leur emploi pour comprendre le génome. Dans les pays soviétiques, la phagothérapie continua d'être étudiée, particulièrement à Tbilissi et en Pologne (59). Enfin, en France, les années 1980 marquèrent l'arrêt de la phagothérapie avec la destruction des collections des instituts Pasteur de Lyon et Paris (50).

C- ANTIBIORESISTANCE ET NOUVELLE AUBE POUR LA PHAGOTHERAPIE

1- ANTIBIORESISTANCE ET IMPASSES THERAPEUTIQUES

Nous l'avons évoqué précédemment, la Seconde Guerre mondiale entraîna une explosion de la demande en anti-infectieux. L'enthousiasme pour les antibiotiques, associés aux progrès de la vaccination, entraîna la fameuse déclaration suivante : « *il est désormais temps de refermer le livre des maladies infectieuses* », citation apocryphe attribuée à William Stewart, alors responsable de la santé publique aux Etats-Unis d'Amérique. Si cette prophétie représentait l'enthousiasme de la communauté médicale de l'époque, elle ne s'accomplit malheureusement pas.

Dès 1945, en plein essor de l'antibiothérapie, Alexander Fleming mit en garde la communauté internationale contre leur mésusage, présageant déjà les problématiques associées à l'antibiorésistance (12, 63). Toutefois, les trente années qui suivirent virent le développement de nombreuses familles d'antibiotiques et de nombreuses molécules différentes ce qui eut pour effet de compenser les résistances, provisoirement toutefois. Depuis la fin des années 1980, la recherche autour des antibiotiques s'est considérablement ralentie et peu de nouvelles familles ont été découvertes (12, 64, 65). Ce ralentissement peut être expliqué par le coût de développement d'un antibiotique, estimé entre 350 millions et 5 milliards de dollars (65), la moindre rentabilité de ces nouvelles molécules, souvent réservées au traitement des infections résistantes, et par une réorientation de la recherche vers le traitement des maladies chroniques, bien plus rentable économiquement (64). Le développement d'antibiotiques est représenté sur la figure 7.

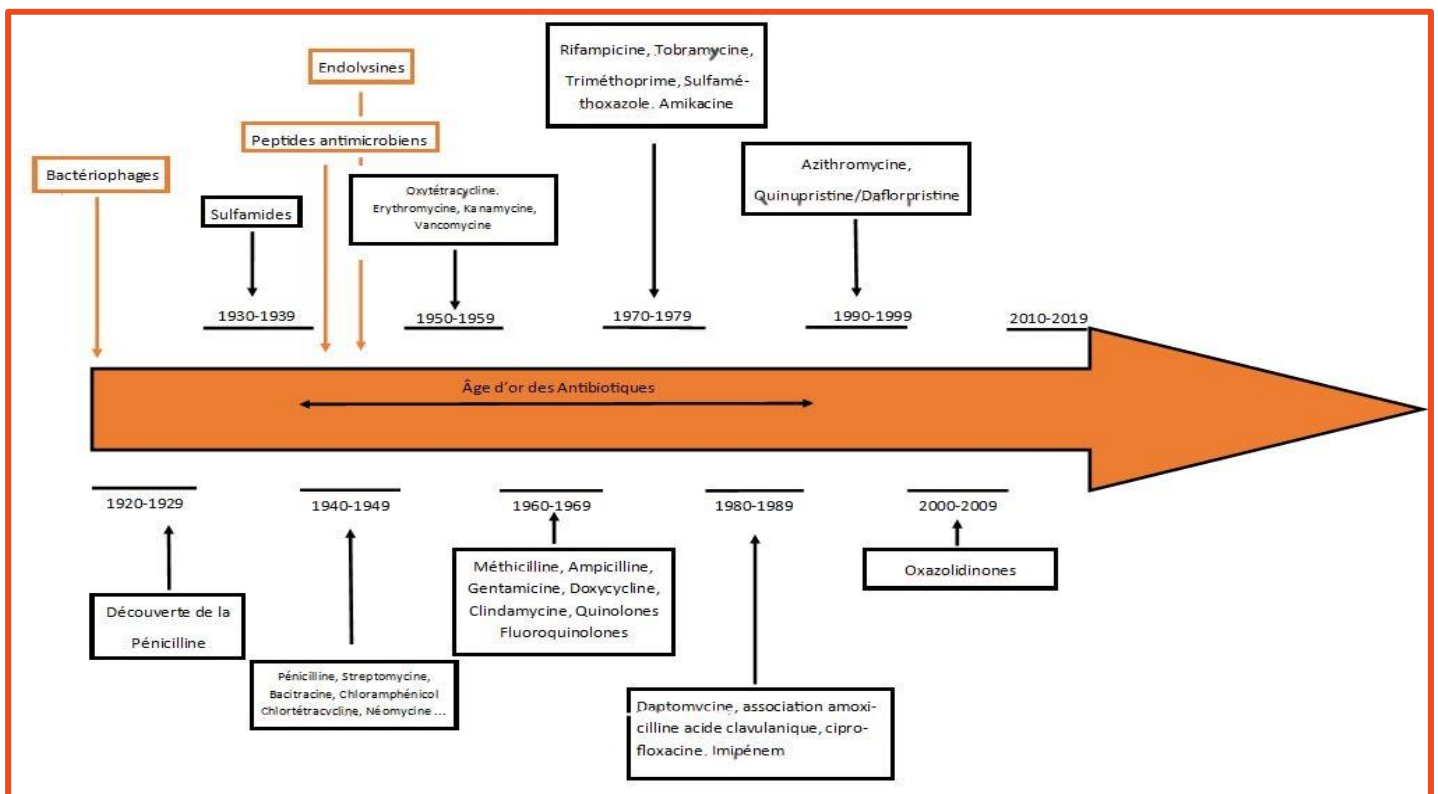


Figure 7 – Découverte ou mise sur le marché des principales molécules/ familles d'antibiotiques

Créé à partir de (65) : WANFORD, Joe. Revitalizing the drug pipeline: AntibioticDB, an open access database to aid antibacterial research and development. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 12 juin 2018. Vol. 73. DOI [10.1093/jac/dky208](https://doi.org/10.1093/jac/dky208).

Or, parallèlement à ce « tarissement » de nouvelles familles antibiotiques, l'antibiorésistance se faisait de plus en plus préoccupante. Initialement, les souches bactériennes antibiorésistantes se limitaient essentiellement aux infections nosocomiales mais représentent aujourd'hui une véritable menace pour la santé publique, plaçant certains médecins dans de véritables impasses thérapeutiques (66). En 2014, l'antibiorésistance a été impliquée dans le décès de plus de 700 000 personnes dans le monde. D'ici 2050, ce nombre

pourrait dépasser les 10 millions de morts tous les ans et représenter un coût supérieur à 100 000 milliards de Dollars américains (66).

La situation est actuellement tellement préoccupante que l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a publié des alertes régulières à destination des états membres à propos de cette menace. L'OMS insiste ainsi notamment sur la nécessité de la mise en place de plans internationaux de lutte et sur la recherche d'alternatives aux antibiotiques (67). Aujourd'hui, de nombreux genres bactériens sont inscrits sur la liste des menaces du Center for Disease Control and prevention (CDC) dont les bactéries regroupées sous le sigle ESKAPE : *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter spp* (68).

2- NOUVELLE AUBE DE LA PHAGOTHERAPIE ?

La recherche d'alternatives aux antibiotiques a alors entraîné la renaissance des travaux autour des bactériophages en Occident. Ce regain d'intérêt peut notamment être illustré par l'intermédiaire des banques de données scientifiques retraçant la recherche médicale. Si nous prenons l'exemple du site internet PubMed, encadré par le NCBI (National Center for Biotechnology Information), nous pouvons observer une augmentation massive du nombre de publications répondant au mot clef « phage therapy » à partir des années 2000 (69). Ces données sont schématisées dans la figure 8.

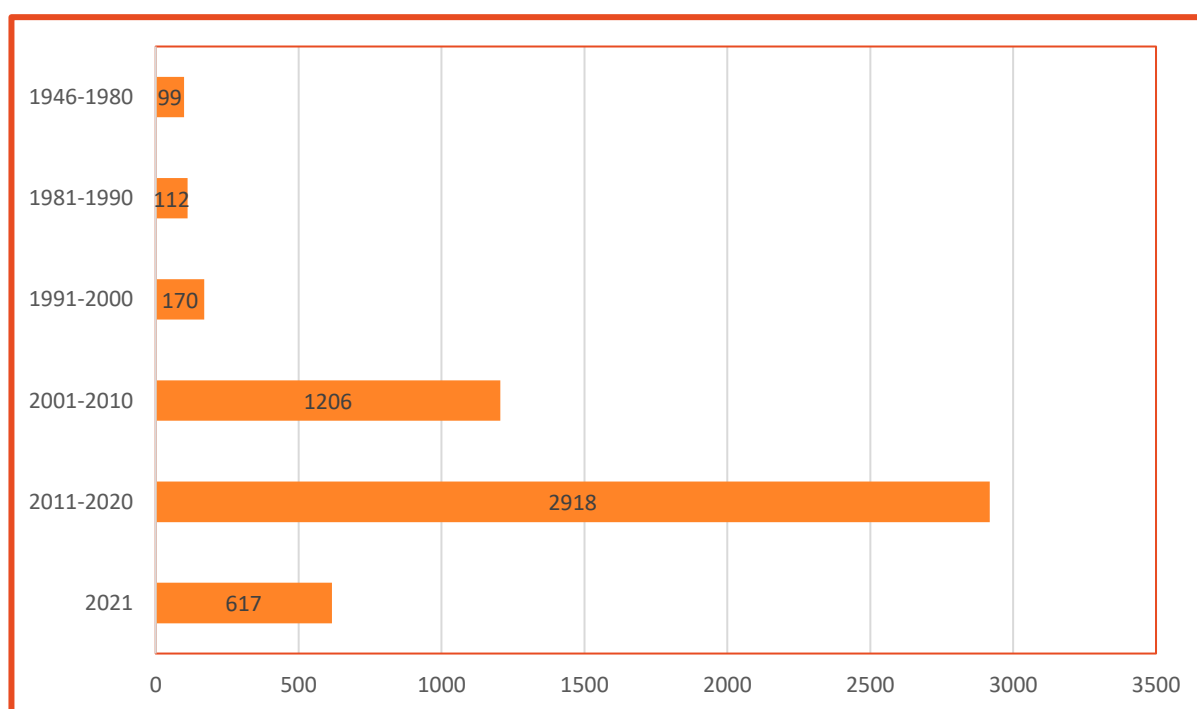


Figure 8 – Nombre de publications répondants au mot-clef « Phage Therapy » sur le site Pubmed de 1946 à 2021

La quantité de travaux scientifiques consacrés à la phagothérapie a fortement augmenté depuis les années 2000.

Réalisé à partir de (69) : PubMed. *PubMed* [en ligne]. [Consulté le 17 décembre 2021]. Disponible à l'adresse : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Les instances réglementaires aussi s'intéressent à la phagothérapie. En 2015, l'agence européenne du médicament a ainsi organisé un colloque sur l'état des connaissances et sur les recherches à mener autour de cette discipline. Il souligne notamment la nécessité de travaux démontrant l'efficacité et l'innocuité des préparations de bactériophages produites selon les bonnes pratiques de fabrication (70). Les médecins et chercheurs français travaillant autour du bactériophage se sont aussi réunis au sein d'un réseau dont la dernière assemblée fut l'occasion d'évoquer plusieurs projets de recherche, notamment Phagoburn et Phosa (71). Le projet Phagoburn est un projet porté par les hôpitaux militaires, principalement français et belges, visant à créer des préparations de bactériophages efficaces sur des brûlures surinfectées par *Pseudomonas aeruginosa* tandis que le projet Phosa vise à lutter, par l'intermédiaire des phages, contre les infections osseuses, articulaires et les ulcères diabétiques (50, 72). De plus, des essais sur des infections de prothèses articulaires ont présenté des résultats satisfaisants (73).

Concernant la médecine humaine, la principale entreprise française travaillant sur les bactériophages est la société Pherecydes Pharma, dont le phage PP1131 dispose d'une autorisation temporaire d'utilisation nominative et dont plusieurs autres produits vont entrer en essais cliniques à partir de 2022. En particulier, le 22 décembre 2021, Pherecydes Pharma a reçu l'approbation de l'agence du médicament pour son programme PhagoDAIR. Ce programme consiste en des essais cliniques de l'usage des bactériophages adaptés à la souche de *S.aureus* impliquée dans des infections ostéoarticulaires. Il s'agit aujourd'hui du premier essai clinique de la phagothérapie de précision approuvé à l'échelle mondiale (74, 75). En médecine vétérinaire, l'entreprise Vetophage, travaillant dans les locaux de l'Ecole Normale Supérieure de Lyon promet de mettre sur le marché des kits de détection rapide des pathogènes majeurs de mammites bovines reposant sur les phages d'ici 2022, puis une gamme thérapeutique développée à partir de leur collection de virus (76).

Il convient de noter qu'actuellement, l'usage des bactériophages est limité en France à un usage « compassionnel », c'est-à-dire lorsqu'un cas clinique se trouve dans une situation d'impasse thérapeutique, encadré par l'agence du médicament. Ces préparations ont notamment été utilisées par les Hospices civils de Lyon, la Pitié-Salpêtrière ou l'hôpital Georges Pompidou pour lutter contre des infections respiratoires, ostéoarticulaires ou neuroméningées. *In fine*, en France, seules les préparations produites par l'hôpital militaire de la Reine Astrid, situé en Belgique, et par la société Pherecydes Pharma ont pu être utilisées (75). Pour pouvoir prétendre à un tel usage, l'agence du médicament rappelle la nécessité de répondre aux bonnes pratiques de fabrication (75).

Si nous avons ici principalement évoqué la France, il faut souligner que cet élan est partagé à travers le monde. Les travaux d'Europe de l'Est sont désormais accessibles et publiés dans le monde anglophone et les Etats-Unis se lancent aussi dans l'étude des bactériophages thérapeutiques. Nous pouvons notamment citer le groupe TAILΦR (*Tailored Antibacterials and Innovative Laboratories for Phage Research*), formé d'un ensemble de virologistes,

bactériologistes et médecins, et coordonné par l'université de médecine de Baylor au Texas. Ce groupe travaille en collaboration avec la *Food and Drug Administration* et souhaite produire des préparations de bactériophages répondant aux bonnes pratiques de fabrication (51).

Points essentiels : Histoire de la phagothérapie et regain d'intérêt actuel

- La découverte des bactériophages est le résultat des travaux du britannique Frederik Twort et du franco-canadien Félix d'Hérelle (1,56,57). Les travaux de d'Hérelle sont datés de 1917.
- Félix d'Hérelle vit rapidement des applications thérapeutiques à sa découverte (58). Dès 1919, il traita des poulets atteints de typhose (12).
- Les années 20 virent l'essai de la phagothérapie dans de nombreux cas cliniques. Les bactériophages furent aussi utilisés pour décontaminer l'eau dans le cadre d'épidémies de choléra (12,50,59).
- La découverte des antibiotiques, leur grande facilité d'utilisation, des querelles scientifiques, politiques et une mauvaise compréhension des bactériophages conduisit à leur oubli dans les pays occidentaux (50,59-62).
- La recherche concernant les bactériophages et leur emploi continuèrent dans les pays du bloc de l'Est dont principalement la Pologne et la république Soviétique de Géorgie (59).
- La phagothérapie continua d'être utilisée en France jusqu'à la fin des années 1970 (50).
- Le monde fait aujourd'hui face à la menace de l'antibiorésistance (66).
- En 2050, le nombre de morts imputables chaque année à l'antibiorésistance pourrait atteindre les 10 millions d'individus (66).
- Parallèlement, le nombre de familles d'antibiotiques découvertes s'est amenuisé à partir des années 1980 et la recherche autour des antibiotiques a globalement ralenti (12,64,65).
- L'ONU, consciente de la menace, a donc appelé, à travers l'OMS, les gouvernements mondiaux à trouver des solutions, parmi lesquelles des alternatives aux antibiotiques (67).
- La recherche occidentale autour de l'usage thérapeutique des bactériophages s'est massivement redéveloppée à partir des années 2000 (69).
- En France, plusieurs études encadrées par l'agence du médicament ont été mises en place. De plus, cette dernière organise des réunions d'experts travaillant autour du bactériophage (50,71-73,75).
- Actuellement, l'usage des bactériophages reste limité à des usages compassionnels. Les produits utilisés sont sujets à Autorisation Temporaire d'Utilisation nominative (75).
- Pour pouvoir prétendre à un tel usage, les préparations bactériophagiques doivent avoir été produites en respectant les bonnes pratiques de fabrication (75).

PARTIE III - LA PHAGOTHERAPIE : CONCEPTION ET PHARMACOLOGIE

Dans les deux parties précédentes de cette étude, nous avons étudié la nature et la biologie des bactériophages puis l'histoire de la phagothérapie. Comme pour tous médicaments, avant d'en évoquer les emplois qui ont été ou sont envisagés en médecine vétérinaire, nous allons étudier les principes pharmacologiques de la phagothérapie, de l'isolement d'un bactériophage aux données actuelles concernant la pharmacocinétique des préparations de phages. Nous étudierons aussi quels sont les principaux avantages et les principales limites de la phagothérapie, en particulier en regard des antibiotiques, desquels les phages sont considérés comme une des alternatives.

A- CONCEPTION D'UNE PREPARATION DE BACTERIOPHAGES

Avant d'étudier la pharmacologie des bactériophages, il est essentiel de comprendre comment sont élaborées les préparations bactériophagiques. Même si les préparations multi-usages, souvent qualifiées dans la littérature anglophone de « *prêt à porter* », sont plus pratiques d'utilisation car il n'est pas nécessaire de les renouveler pour chaque patient, nous étudierons dans cette sous-partie le mode de préparation dit « *tailored* » ou « *sur-mesure* », adapté à chaque patient, et en particulier à la bactérie l'infectant, et considéré comme préférable car ciblant précisément une espèce ou souche bactérienne donnée (51, 77–79).

1- ISOLEMENT D'UN BACTERIOPHAGE

Nous l'avons évoqué plus tôt, les bactériophages sont omniprésents dans l'environnement et forment l'entité biologique la plus importante en nombre sur Terre (45). Lorsqu'aucun phage d'intérêt n'est présent dans les collections du laboratoire, il est nécessaire d'isoler un nouveau phage actif contre la bactérie ciblée (51). Plusieurs matrices sont disponibles dont notamment les eaux usées, sources d'un très grand nombre de bactériophages, les sols, l'eau des lacs, rivières ou océans mais aussi l'urine et les déjections humaines ou animales (51, 79). Il est aussi possible de trouver des phages au niveau des follicules pileux, de la peau, de la salive ou des muqueuses (51). En particulier, les bactériophages ciblant des pathogènes humains sont plus facilement retrouvés à proximité des hôpitaux. De plus, plus une bactérie est rare, plus il est difficile de trouver un bactériophage lui correspondant et il faut alors prélever un grand volume d'échantillon pour espérer trouver un bactériophage (79).

Une fois que la matrice d'où l'on veut extraire un bactériophage est collectée, il faut isoler le bactériophage. Les protocoles possibles sont nombreux (79). Globalement, la première étape passe par la mise en solution de l'échantillon prélevé. Pour les échantillons solides, cette étape est réalisée par l'ajout de solution tampon salée de citrate de potassium et par un processus de sonication ou d'agitation permettant de libérer les virus dans la solution (80). Si de la matière organique est présente en grande quantité, les échantillons sont centrifugés. Le surnageant ou l'échantillon passent alors à travers des filtres dont le diamètre

des pores est de 0.2 μm assurant le retrait des bactéries de l'échantillon. Dès lors, si un enrichissement est souhaité, il est possible d'incuber la solution obtenue en y ajoutant un milieu de culture contenant la souche bactérienne étudiée en phase exponentielle de croissance. Les prérequis à un tel enrichissement sont variables selon le bactériophage et la bactérie (78, 79). Cette solution enrichie est de nouveau filtrée pour en éliminer les bactéries résiduelles et les débris bactériens. Les bactériophages peuvent être concentrés en réalisant des centrifugations ou des filtrations mais cela peut altérer leur survie (81).

Une fois cette solution réalisée, la présence d'un ou plusieurs bactériophages peut être mise en évidence par plusieurs méthodes. La principale est l'application de la solution sur une gélose recouverte par un tapis bactérien formé par la bactérie hôte, typiquement la bactérie impliquée dans la maladie du patient, mais aussi des bactéries « substituts » lorsque cela est possible. Par exemple, des bactériophages de *M. tuberculosis* ont déjà été cultivés en se basant sur des tapis bactériens de *M. smegmatis*, considérée comme non pathogène et beaucoup plus facile à cultiver (82). La présence de bactériophages est évaluée qualitativement par la présence de plages de lyse sur la tapis bactérien (81). L'aspect de la plage est différent selon le bactériophage impliqué dans le phénomène de lyse. Pour purifier un bactériophage, une plage de lyse est prélevée et incubée avec un bouillon de culture similaire à celui utilisé lors de l'étape d'enrichissement. Le résultat de l'incubation est étalé une nouvelle fois sur un tapis bactérien. La répétition de cette étape permet la purification du bactériophage et de passer à l'étape de caractérisation (51, 78, 79, 81).

D'autres méthodes existent afin de mettre en évidence la présence de bactériophages dans un échantillon dont notamment des techniques reposant sur de la colorimétrie ou de la microscopie électronique (79). Ces méthodes permettent de trouver des phages dans des échantillons où la méthode précédemment évoquée n'a pas été suffisante.

2- PURIFICATION ET CARACTERISATION

Une fois un bactériophage d'intérêt isolé, il faut le caractériser, c'est-à-dire déterminer la famille du phage, ses principaux critères infectieux, s'il est capable de lysogénie, s'il porte éventuellement des gènes codant des toxines pour, *in fine*, déterminer s'il est concevable de l'utiliser en phagothérapie (51, 79, 81). Les phages sont préalablement purifiés. Cette étape peut être réalisée par précipitation des bactériophages dans du polyéthylène glycol et du chlorure de sodium ou par concentration dans une solution de chlorure de Césium (51).

Les principaux critères infectieux étudiés sont le spectre d'hôte et donc par extension la spécificité du bactériophage, le taux d'adsorption des phages aux bactéries, la productivité de l'infection, c'est-à-dire le nombre de virions produits par phénomène de lyse, et la période de latence entre le moment où l'ADN du bactériophage est internalisé par la bactérie et le moment de la lyse (51, 79, 83). Pour déterminer le spectre d'hôte, des « spot tests » sont réalisés sur les plusieurs souches bactériennes hôtes. Des cultures fraîches des souches bactériennes sont préparées et par un procédé similaire à celui évoqué dans la partie sur

l'isolement du bactériophage, une goutte de solution contenant le bactériophage à tester est placée sur ce tapis bactérien. Ceci permet de tester plusieurs bactériophages sur une même gélose. La qualité de la plage de lyse formée est alors classifiée entre lyse totale, lyse partielle et absence de lyse (84). Une fois les souches bactériennes et les bactériophages choisis, il est alors possible de déterminer l'EOP (*Efficiency of Plating*) de ces bactériophages. L'EOP est une valeur relative du titre de bactériophage obtenu sur une lignée cellulaire donnée par rapport à une valeur référence correspondant au titre maximal obtenu. Pour la déterminer, il est possible de réaliser des dilutions d'un facteur 10 du titre en bactériophage et d'appliquer les solutions obtenues sur un tapis bactérien. La réalisation de cette mesure permet de mettre en évidence certains phénomènes où une lyse bactérienne est effectivement observée aux plus hauts titres mais absente après quelques dilutions. Ceci peut permettre d'illustrer une liaison du bactériophage à la bactérie mais la présence d'infections trop peu productives ou d'infections abortives n'assurant pas une répllication suffisante du bactériophage pour détruire la souche bactérienne (84). De la qualité des plages de lyse bactérienne, il est aussi possible de supposer la présence d'un phénomène de lysogénie, les plages étant généralement troubles (79). L'étape de la caractérisation peut aussi être celle où des synergies ou antagonismes avec d'autres bactériophages ou avec des antibiotiques sont recherchés (51).

Aujourd'hui, l'étude des bactériophages passe aussi par le séquençage de leur génome. L'analyse de l'information génétique du virus permet de statuer sur la capacité lysogénique d'un bactériophage, mais aussi sur la présence de gènes codant des toxines, ou associés à de l'antibiorésistance. Ces deux éléments excluent certains phages d'un usage thérapeutique. Ainsi, les gènes codant des intégrases ou ceux codant les toxines staphylococciques peuvent être recherchés (51, 81).

3- CONSERVATION DES BACTERIOPHAGES

L'isolement, la purification et la caractérisation des bactériophages sont des étapes chronophages parfois incompatibles avec un usage thérapeutique. Emerge alors la nécessité d'une « phagothèque », dans laquelle sont conservés et catalogués les bactériophages. Le groupe TAILΦR, composé de bactériologistes, virologistes et médecins basés à l'université Baylor au Texas, estime ainsi que la création d'une préparation bactériophagique est réduite de plusieurs semaines voire mois lorsqu'ils possèdent déjà les bons bactériophages dans leur banque (51). La stabilité des phages au sein de ces collections doit être évaluée et, au cours du stockage, l'activité des particules virales ne doit pas être altérée.

Les paramètres influençant la stabilité des bactériophages sont, certes le milieu dans lequel les virus sont stockés, mais aussi des paramètres physico-chimiques extérieurs (79). La température est un facteur essentiel au bon stockage des bactériophages. Malheureusement, il est difficile de tirer des règles générales quant au bon stockage des préparations bactériophagiques en solution. Par exemple, certains phages perdront leur activité en 24h s'ils sont stockés à 4°C tandis que d'autres conservent leur activité jusqu'à 6 mois à cette même

température (85). L'acidité et l'osmolarité du milieu de stockage sont aussi à prendre en compte. Enfin, les phages étant sensibles aux UV, il convient de les stocker à l'abri des sources lumineuses.

La conservation en solution n'est pas le seul moyen pour réaliser une banque de bactériophages. La lyophilisation et la conservation directe des bactériophages à -80°C, parfois dans l'azote liquide, ont été envisagées (79, 86, 87). Lors de la lyophilisation, les bactériophages associés à des cryoprotecteurs sont congelés puis l'eau est sublimée par modification du couple pression-température. Le résultat est scellé sous vide. La lyophilisation permet d'obtenir un produit stable dans le temps mais le protocole en lui-même peut induire une forte chute du titre en bactériophage. Il n'est donc pas indiqué pour tous les bactériophages. La lyophilisation laisse toutefois envisager un moyen de commercialisation des préparations bactériophagiques facile d'emploi, en particulier pour une utilisation dans les élevages (79, 87, 88). Enfin, une autre méthode consiste en la conservation des bactériophages sous forme d'ADN contenu dans la bactérie hôte, bactérie étant elle-même placée dans l'azote liquide puis conservée à -80°C. La conservation sous une telle forme semble plus stable que la congélation des bactériophages directement à -80°C. Les auteurs, considèrent cette solution comme un bon moyen de conserver les *Caudovirales*, et en particulier, ceux dont la caractérisation est insuffisante pour choisir d'autres méthodes de stockage (79, 86).

Malgré l'existence de plusieurs techniques de conservation, aucune aujourd'hui n'est universelle et seule l'étude individuelle de chaque virus permet de choisir la bonne technique. Lorsque les virus sont conservés en solution, le titre en bactériophage doit être régulièrement contrôlé et s'il s'amenuise trop, la population doit être de nouveau multipliée. Néanmoins, l'accumulation de mutations au fil des cycles peut entraîner une dérive génétique des virus stockés, et les phages « sauvés » peuvent, petit à petit, devenir différents du virus originel (86, 87).

Afin d'être employée en thérapie, la population de bactériophages doit de nouveau être amplifiée et le résultat doit être purifié des éléments bactériens et des éventuelles toxines par filtration et par les processus de purification évoqués précédemment avant d'être mis sous la forme galénique d'administration (81).

B- PHARMACOLOGIE DES BACTERIOPHAGES

Le dossier d'autorisation de mise sur le marché des médicaments passe nécessairement par une étude des principales données pharmacologique de ces derniers. Ces données permettent de comprendre le fonctionnement d'un médicament. Traditionnellement, la pharmacologie est elle-même divisée en deux composantes élémentaires, différentes mais complémentaires : la pharmacocinétique (PK) et la pharmacodynamie (PD). Dans cette partie, nous développerons les connaissances actuelles concernant les travaux PK/PD menés chez les bactériophages.

1- PHARMACOCINETIQUE DES BACTERIOPHAGES

La pharmacocinétique est une discipline qui englobe l'ensemble des actions de l'organisme sur le médicament. Elle permet d'étudier l'atteinte et le maintien d'une concentration active de principe actif au niveau du site d'action. Elle est classiquement divisée en quatre éléments se succédant au cours de la vie d'un principe actif au sein de l'organisme : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion. L'absorption correspond au passage de la molécule vers la circulation systémique. La distribution s'intéresse à son passage du sang vers les tissus où aura lieu l'activité. Le métabolisme s'intéresse à toutes les modifications de la structure de molécule réalisées par l'organisme et regroupe donc les phénomènes de biotransformation, en particulier au niveau du foie. Enfin, l'élimination correspond à l'excrétion du xénobiotique hors de l'organisme, par voie urinaire ou fécale, mais aussi parfois par les voies pulmonaires, mammaires ou à travers d'autres sécrétions (89). Si l'ensemble de ces concepts peuvent s'appliquer à la phagothérapie, la nature virale des phages implique la prise en compte d'autres éléments, en particulier leur répllication *in situ*. Ci-dessous, nous tenterons d'évoquer les principaux points communs entre les bactériophages mais il demeure difficile de tirer des conclusions générales pour tous les bactériophages potentiellement utilisables en thérapie. Malgré leur utilisation comme agents thérapeutiques dans certains pays, de nombreuses données sont encore manquantes concernant la pharmacocinétique des phages (90).

A- ABSORPTION

Lors de l'emploi d'une préparation bactériophagique, la première étape est l'absorption. Il s'agit donc ici du passage du bactériophage vers le compartiment systémique. L'absorption est conditionnée par la voie d'administration. Les bactériophages peuvent être injectés, administrés par voie orale, mais aussi pulvérisés dans les poumons ou utilisés localement (91).

La première voie d'administration que nous étudierons ici est la voie *per os*. L'administration *per os* présente l'avantage d'être facilement utilisable, en particulier chez l'humain. De plus, certains bactériophages font partie de la flore commensale du tube digestif des animaux (92). Il est globalement admis que les bactériophages peuvent transiter dans le tube digestif puisque des bactériophages administrés par voie orale peuvent être retrouvés, toujours actifs, dans les fèces, de manière dose dépendante. Par exemple, lors d'administration expérimentale de solutions de bactériophages à des enfants bangladais souffrants de diarrhée, ces mêmes virus, toujours actifs, ont été isolés à partir de leurs selles (93, 94). Néanmoins, plusieurs facteurs conditionnent cette survie. Le premier est la sensibilité du phage à l'acidité, et en particulier à l'acidité gastrique. Cette sensibilité aux pH faibles est variable selon les espèces et peut entraîner une inactivation temporaire ou définitive du bactériophage. Ainsi, chez l'homme comme chez les animaux, des tampons à l'acidité gastrique ont parfois été utilisés lors d'administration de bactériophages. Toutefois, ceci ne semble pas augmenter significativement les comptages fécaux de phages (92). Pour les

espèces virales les plus sensibles, des procédés d'encapsulation ont été proposés (95). Au contraire, il semblerait que les bactériophages soient relativement résistants aux enzymes digestives et aux sels biliaires. Notons que la plupart des expériences concernant la stabilité des bactériophages sont menées *in vitro*. *In vivo*, la présence de certains ions ou molécules pourrait empêcher l'altération du virus. Enfin, la présence d'une bactérie hôte peut, dans certains cas, favoriser la survie des bactériophages à travers le tube digestif, comme cela a été démontré sur modèle murin (92). *In fine*, une des principales questions aujourd'hui reste la capacité des bactériophages à passer à travers l'épithélium digestif pour rejoindre le compartiment systémique. *In vitro*, il a été montré que les bactériophages peuvent passer à travers l'épithélium intestinal par un phénomène de transcytose (96). Malgré cela, l'administration *per os* des phages est la voie donnant les plus mauvais résultats quant à leur biodisponibilité, et donne des résultats significativement moins bons que l'administration par voie parentérale (92). Encore une fois, un des facteurs primordiaux pour l'absorption des phages est la dose administrée. Une des hypothèses pouvant expliquer cette mauvaise biodisponibilité serait le passage des bactériophages par les nœuds lymphatiques mésentériques qui joueraient le rôle de filtre (91, 92). Dès lors, la phagothérapie par voie *per os* apparaît principalement indiquée pour des affections digestives mais cela n'exclue pas une administration par une telle voie pour un usage systémique. Dans tous les cas, l'étude de la stabilité des bactériophages est essentielle.

Parmi les autres voies d'administration, nous pouvons notamment évoquer les voies respiratoires, la voie transcutanée et la voie intra-rectale. L'administration de bactériophages par les voies respiratoires se fait au moyen d'inhalations et par des administrations intranasales ou intra-trachéales. Les retours sont toutefois contrastés avec quelques études rapportant une bonne absorption (97) et d'autres une absorption médiocre (92). Cette voie d'administration est principalement indiquée pour les affections respiratoires. L'absorption de bactériophages par voie transcutanée est complexe, la plupart des études montrant une absorption faible (98). Enfin, concernant la voie intrarectale, des travaux de 2020 menés sur des lapins ont montré la capacité de bactériophages présentés sous forme de suppositoires à passer dans le sang dans les 15 minutes suivant l'administration du produit. Si des travaux supplémentaires sont nécessaires, les auteurs considèrent que cette voie d'administration pourrait être une méthode d'administration des phages pour des affections systémiques (99). Avec une telle galénique, une bonne observance apparaît toutefois compliquée en médecine vétérinaire des animaux de compagnie.

Les injections sont considérées comme la voie d'administration assurant le plus grand passage de particules virales vers le compartiment systémique (91, 92). Ainsi, les voies intrapéritonéales, intramusculaires, sous-cutanées et intraveineuses assurent une biodisponibilité significativement plus élevée que la voie orale (92). De plus, ces voies sont celles qui permettent de détecter des phages dans le sang le plus rapidement. L'injection intrapéritonéale permet une détection des phages dans le sang plus rapide que les voies intramusculaires ou sous-cutanée. Les injections offrent la plus haute biodisponibilité des

bactériophages dans le sang. Elles pourraient donc être particulièrement indiquées pour le traitement des infections systémiques, mais aussi des infections plus localisées (92).

B- DIFFUSION

Une fois que le bactériophage a atteint le compartiment sanguin, la seconde étape conditionnant sa pharmacocinétique est la diffusion, c'est-à-dire sa capacité à rejoindre les tissus où se trouve sa cible.

Après l'injection des bactériophages par voie intraveineuse, leur titre diminue drastiquement en 30 minutes (100), devenant très inférieur au titre théorique calculé suite à la dilution de la préparation dans le volume sanguin (92). Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer une telle différence dont la capture des phages par le système des phagocytes mononucléés (SPM) ou leur liaison aux érythrocytes. Si la seconde hypothèse n'a jamais pu être prouvée (92), les phages peuvent effectivement être phagocytés par le SPM (101). Les implications de cette phagocytose sur le succès de la phagothérapie sont encore mal connues (101).

Les bactériophages sont aussi capables d'atteindre de nombreux tissus. Dans les quelques minutes suivant leur administration par voie parentérale, des bactériophages peuvent être retrouvés, au niveau du foie et de la rate et, en quelques heures, leur concentration peut dépasser celle du sang (91, 92). La rate est aussi l'organe où des phages actifs persistent le plus longtemps après l'administration. Ceci est à relier avec la présence en forte quantité de cellules du système des phagocytes mononucléés dans ces organes. Des bactériophages peuvent aussi passer du flux sanguin aux muscles striés squelettiques, au cœur, aux glandes salivaires, aux nœuds lymphatiques, à la moelle osseuse, aux reins, à la vessie, aux poumons et au système digestif (91, 92). Cette pénétration semble facilitée en cas d'infection par une bactérie hôte et est dépendante de la dose de phages.

Enfin, il semblerait que les bactériophages puissent aussi traverser la barrière hémato-encéphalique et rejoindre le système nerveux central. Les hypothèses principales émises quant à cette diffusion reposent sur l'endocytose des particules virales et le transport axonal (91, 92, 102). En particulier, des expériences ont montré la capacité des bactériophages à protéger des souris infectées intra cérébralement par des bactéries du genre *Shigella* (103). Les principaux facteurs influençant cette diffusion sont encore une fois la dose de phages administrée et la voie d'administration.

C- METABOLISME

L'analyse du métabolisme d'une substance en pharmacocinétique comprend toutes les modifications que cette substance subit au sein du corps. Classiquement, lors de l'étude de xénobiotiques, nous nous intéressons principalement aux bioactivations, biotoxifications, mais aussi aux inactivations, détoxifications et aux éventuels métabolites produits. Nous l'avons déjà évoqué, au contact de la population bactérienne cible, les bactériophages

subissent une série de modifications physico-chimiques, allant de la modification de leur conformation tridimensionnelle à l'expression de leur génome, expliquant leurs propriétés antibactériennes et pouvant entraîner une libération de nouveaux virions. L'activation des bactériophages et l'amplification des populations virales doivent donc être incluses dans notre étude du métabolisme (104). Dans un second temps, nous étudierons aussi l'inactivation des particules virales, en particulier par le système immunitaire.

Deux types de phagothérapie sont différenciés. La phagothérapie passive est définie comme la destruction des bactéries par des bactériophages directement administrés à l'individu. Au contraire, la phagothérapie active, repose sur la destruction des bactéries par des bactériophages générés *in situ* par leur propre amplification (89, 104, 105). Dès lors, ce métabolisme influe donc sur la pharmacocinétique et implique des modèles semblables à ceux retrouvés dans des études proie-prédateur. La potentielle croissance de la population virale est donc directement corrélée à la densité de la population bactérienne. Ainsi, il existe une densité bactérienne seuil au-dessus de laquelle la population de bactériophages va croître, et en dessous de laquelle elle va s'amenuiser. Dès lors, en considérant une population bactérienne en croissance exponentielle, par exemple dans le cadre d'une infection aiguë, il est possible d'associer à la densité seuil une valeur temporelle. Une phagothérapie active est donc idéalement commencée dans un intervalle de temps proche de ce moment critique (105). D'autres modèles compilent les effets passifs et actifs. De plus, ces informations concernant les seuils bactériens peuvent aussi permettre de déterminer à quels moments l'usage d'un antibiotique peut être favorable ou délétère à la phagothérapie (89, 105).

L'inactivation des bactériophages au cours de leur séjour dans l'organisme est assurée par trois systèmes : le système des phagocytes mononucléés, le système du complément et par la réponse humorale. Ces trois éléments sont couramment inclus dans l'étude pharmacocinétique (89, 91, 92). La prise en charge des phages par le SPM serait principalement liée à la grande taille des particules virales. De plus, certaines études suggèrent que les bactériophages les plus grands seraient pris en charge par les SPM plus rapidement (106). Ceci explique aussi les fortes concentrations observées de bactériophages dans la rate et le foie, organes fortement infiltrés par le SPM. L'inactivation des bactériophages dans le foie est aussi plus rapide que dans la rate (100). Une fois phagocytés, l'inactivation des bactériophages n'est pas immédiate et est réalisée après environ deux heures (101). Les enzymes faisant partie du système du complément peuvent aussi inactiver les bactériophages (107). Enfin, l'induction d'une réponse humorale et la génération d'anticorps ciblant les bactériophages a été mise en évidence (92). Ces anticorps peuvent être responsables de la neutralisation des virus, en particulier lorsqu'ils ciblent les épitopes présents au niveau de la queue du phage et responsables de la reconnaissance de la bactérie (16, 108). Toutefois, l'intensité de cette réponse anticorps varie selon la voie d'administration, le phage administré et le patient. Elle n'exclue pas un résultat positif de la phagothérapie (109).

Les études ont aussi permis de mettre en évidence des virions à circulation plus longue dans l'organisme. Ainsi, en modifiant les protéines de la tête d'un bactériophage, des chercheurs sont parvenus à créer un virion circulant plus longtemps car il était beaucoup moins sensible au complément (110). Il est donc possible de sélectionner des virions à longue persistance (77). L'encapsulation est aussi une technique évoquée pour diminuer l'inactivation des bactériophages (77, 91, 92). L'encapsulation consiste en l'inclusion du bactériophage dans une structure lipidique ou protéique le protégeant des agressions extérieures. Ainsi, des chercheurs ont créé des bactériophages encapsulés dans des liposomes ou dans des polymères tels que de l'alginate, des pectines, du chitosane, de l'agarose ou du polyméthyl-méthacrylate (95). Si les procédés et les molécules utilisées pour réaliser l'encapsulation sont nombreux, cette technique a pour but une meilleure stabilité des bactériophages ou une plus longue persistance dans l'organisme. Elle peut notamment limiter leur neutralisation par le système immunitaire en les masquant (92).

D- ELIMINATION

La dernière étape étudiée par la pharmacocinétique est l'élimination du xénobiotique de l'organisme. Même si la disparition des bactériophages après leur prise en charge par le système immunitaire pourrait aussi être incluse dans cette partie, elle a été traitée dans la partie concernant le métabolisme à cause des nombreuses modifications chimiques qu'elle implique. Nous étudierons ainsi principalement l'excrétion des bactériophages par voie urinaire et digestive.

La voie urinaire est la principale voie d'élimination de la plupart des xénobiotiques. L'excrétion du principe actif dans les voies urinaires présente parfois un effet thérapeutique, ceci permettant son action directement au niveau du tractus urinaire. Au niveau des glomérules rénaux, le passage des molécules du plasma vers l'urine est dépendante de la taille (111). L'excrétion rénale des phages est négligeable, probablement à cause de leur taille (112). De plus, cette excrétion est inconstante, individu-dépendante et à des titres inférieurs à ceux obtenus dans le sang (91). Il apparaît donc difficile de se reposer uniquement sur l'excrétion urinaire des bactériophages pour le traitement des infections urinaires et la plupart des auteurs suggèrent une administration locale des bactériophages (91, 112, 113).

Concernant l'élimination digestive des bactériophages, nous avons vu précédemment que les bactériophages pouvaient diffuser au niveau des glandes salivaires et du tractus digestif. Toutefois, cette élimination concerne principalement l'administration par voie *per os* et donc les bactériophages qui n'ont pas pénétré à l'intérieur de l'organisme (91, 92).

2- PHARMACODYNAMIE

La pharmacodynamie est une discipline étudiant les effets du médicament sur l'organisme et sur sa cible. Cela englobe notamment les effets thérapeutiques, l'étude de l'affinité du ligand pour son récepteur, le mécanisme d'action de la molécule mais aussi les éventuels effets secondaires. Dans le cas des bactériophages, nous nous intéresserons

principalement aux effets bactéricides et à ce qui les conditionne. Néanmoins, des études suggèrent de potentiels effets anti-inflammatoires et immunomodulateurs. Nous évoquerons aussi les effets secondaires et toxiques pouvant être associés aux préparations bactériophagiques. A l'instar de la pharmacocinétique, il conviendrait d'étudier chaque phage indépendamment puisqu'ils n'ont pas tous les mêmes caractéristiques. Nous tenterons donc ici d'évoquer les principes pharmacodynamiques généraux attribuables aux phages.

A- EFFET BACTERICIDE

Le premier effet que nous allons étudier est l'effet antibactérien. Il s'agit de celui principalement recherché en phagothérapie. Nous avons déjà évoqué les cycles que peuvent accomplir les bactériophages au contact des bactéries dans la partie I-B concernant la biologie des bactériophages. Toutefois, il faut souligner ici que, même si certains bactériophages tempérés peuvent réduire la prolifération de populations bactériennes, le risque associé aux modifications du génotype des bactéries par transfert de gènes codant des toxines ou responsable d'antibiorésistance implique l'exclusion des phages à capacité lysogénique lors de phagothérapie. Des phages strictement lytiques seront donc sélectionnés suite à la caractérisation évoquée dans la partie III-A-2 (12).

Trois grands types d'interactions peuvent se produire lorsqu'un phage virulent rencontre une bactérie. La première conduit à un effet nul, c'est-à-dire sans effet bactéricide. Elle peut être le résultat d'un phage ne pouvant s'attacher à la bactérie ou d'une infection abortive, causée par la présence d'endonucléases bactériennes, d'une infection préalable par un phage ou par la présence du système CRISPR-Cas. Ces interactions ne sont donc pas intéressantes en phagothérapie et sont détaillées dans la partie I-B-6 (25, 89, 114). La seconde est un effet bactéricide associé ou non à une production de virions. Cet effet bactéricide est nécessaire pour la bonne conduite de la phagothérapie et est à la base du mode de traitement passif. La production de virions est quant à elle nécessaire afin de réaliser un traitement actif (89). Un phénomène pouvant expliquer la destruction de la bactérie sans production de virions est nommé « *Lysis from Without* » (lyse par l'extérieur) dans la littérature anglophone. Il correspond à l'adsorption de nombreux bactériophages simultanément à la paroi bactérienne aboutissant à des dommages tels que la bactérie est détruite (115).

A partir de ces modèles, plusieurs données ont été utilisées pour tenter de fournir des bases mathématiques permettant de prévoir l'efficacité de la phagothérapie. La première des données employée est le titre en bactériophage qui doit être suffisamment élevé pour atteindre en quantité suffisante la cible bactérienne (51, 105). Dans le cadre de la phagothérapie passive, deux seuils sont définis ; le premier correspond à la quantité de phages nécessaire pour que la croissance bactérienne soit stoppée, le second correspond à la quantité minimale de phages à atteindre pour détruire totalement la population bactérienne (105). Des données importantes sont aussi la « multiplicity of infection » ou MOI qui correspond au nombre de particules virales par rapport au nombre de bactéries, le nombre de virions produits par infection productive ou la période de latence. Par exemple, le phénomène de

« lysis from without » est souvent associé à des MOI élevées. (89). Enfin, certaines données ont déjà été évoquées précédemment dans la partie concernant le métabolisme des bactériophages. Nous avons notamment cité la densité bactérienne et le moment critique à partir duquel la phagothérapie peut être employée (105).

B- EFFET SUR LES BIOFILMS

Les biofilms sont des structures produites par les bactéries leur permettant de coloniser des milieux hostiles. Ils sont formés par de nombreuses cellules bactériennes entourées par une matrice extracellulaire. *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* sont capables de s'organiser en biofilms (116). Si la nature des biofilms est hautement variable selon les bactéries qui les constituent, ils ont tous pour matrice principale un polysaccharide auquel s'ajoute diverses molécules comme de l'ADN ou des protéines (117). Dans ces structures, les bactéries sont protégées des antibiotiques et du système immunitaire de l'hôte, ce qui explique les fréquents échecs thérapeutiques associés aux biofilms (118).

Les bactériophages peuvent permettre la destruction des bactéries impliquées dans les biofilms. Cette désorganisation du polymère est permise par la pénétration des bactériophages dans le biofilm, l'élimination des bactéries produisant la matrice extracellulaire, la présence au niveau des capsides des phages d'enzymes détruisant le polymère et enfin la capacité à faire exprimer des enzymes similaires par les bactéries hôtes (89, 116). Plusieurs études mettent ainsi en évidence la capacité des phages à détruire des biofilms, seuls ou en association avec des antibiotiques (118–120). Des travaux supplémentaires seront nécessaires afin de déterminer quels phages sont les plus adaptés dans le traitement des biofilms (12).

C- EFFET SUR LES RESISTANCES BACTERIENNES

Le dernier effet de l'exposition des populations bactériennes aux bactériophages que nous allons évoquer ici est la sélection de phénotypes résistants aux bactériophages. Cette sélection de bactéries résistantes lorsqu'une population est exposée aux phages est connue depuis 1943. Les auteurs avaient alors noté une diminution de l'affinité des virus pour la bactérie (121).

Dans les faits, plusieurs systèmes sont impliqués dans la résistance des bactéries à leurs virus (12). Cette résistance est médiée par des mécanismes internes et externes. Concernant les mécanismes internes, nous pouvons d'abord citer l'existence d'endonucléases lysant l'ADN viral mais épargnant l'ADN bactérien lorsqu'il est méthylé. Un second mécanisme repose sur la production d'une toxine et de son anti-toxine naturellement par expression du génome bactérien. Lorsque les phages infectent la bactérie et altèrent ses capacités métaboliques, l'expression du génome est modifiée et la toxine n'est plus contrée par son ligand (122). Dès lors, cela entraîne la mort de la cellule infectée sans qu'il y ait eu production de virions. Le système CRISPR/CAS permet aussi la reconnaissance de l'information génétique étrangère et sa dégradation. Enfin, il existe des mécanismes externes dont le principal est la modification

des récepteurs reconnus par les phages. Ces récepteurs étant nécessaires à l'adsorption du virus, l'infection n'est alors plus possible (3, 122). Pour plus de détails concernant les mécanismes de défense bactériens, merci de se reporter au paragraphe I-B-6 leur étant dédiés.

L'existence de ces mécanismes à plusieurs conséquences sur la phagothérapie. En particulier, cela réduit la possibilité d'utiliser des traitements contenant un seul bactériophage et implique la nécessité de parfois réévaluer les cocktails de phages (91). Néanmoins ces résistances n'ont pas empêché le succès expérimental de traitements basés sur un seul virus mais cela limite un potentiel usage empirique (91). Il faut toutefois souligner que les bactériophages co-évoluent avec les bactéries et qu'ils ont eux-mêmes des contre-mesures contre les systèmes de défense bactérien. Ces contre-mesures ont aussi été évoquées dans la partie I-B-6 (123).

Enfin, il est important de considérer la sélection de ces résistances sous un spectre évolutif. En effet, ces mutations offrent un avantage évolutif aux bactéries les subissant avec une augmentation de leur valeur sélective dans un système exposé aux phages. Néanmoins, il existe aussi souvent un contre-coup évolutif, nommé « trade-off » (12, 123). Ainsi, des bactéries résistantes aux phages peuvent présenter des vitesses de croissance réduites lorsque ceux-ci sont absents (124). D'autres « trade-off » existent comme la diminution de la pathogénicité de la bactérie ou la réapparition de la sensibilité aux antibiotiques (12). Par exemple, quand les phages ciblent une protéine impliquée dans l'efflux d'antibiotique chez *Pseudomonas aeruginosa*, les populations mutantes obtenues après pression sélective étaient de nouveaux sensibles aux antibiotiques (120, 125).

Il est donc important de considérer la résistance aux bactériophages sous un spectre global et son étude sera essentielle pour déterminer quels objectifs sont visés par la phagothérapie.

D- EFFETS SUR LES CELLULES DE L'IMMUNITÉ

Nous avons déjà évoqué la relation entre les cellules de l'immunité, innée ou acquise, et les bactériophages au cours de la partie concernant le métabolisme de ces derniers dans l'organisme. Les bactériophages sont phagocytés par le système des phagocytes mononucléés ce qui aboutit à leur inactivation. Parallèlement, une réponse immunitaire adaptative peut se mettre en place et aboutir, par le biais d'anticorps, à la neutralisation des bactériophages. Ces deux réponses ne sont toutefois pas synonymes d'échec de la phagothérapie (89, 91, 92, 109). Ici, nous étudierons l'effet des bactériophages lytiques sur les cellules de l'immunité afin de déterminer quels impacts ils peuvent avoir sur la réponse immunitaire de l'organisme face aux bactéries. Nous n'évoquerons pas les bactériophages lysogéniques ou filamenteux puisqu'ils ne sont pas utilisés en phagothérapie.

Plusieurs travaux ont étudié les effets de la présence des bactériophages sur la phagocytose des bactéries. Dès les années 20, d'Hérelle remarqua une augmentation de la phagocytose de bactéries du genre *Shigella* en présence de bactériophages, suggérant alors

un phénomène d'opsonisation (101). Une étude de 2002, montre une diminution des capacités de phagocytose des neutrophiles de patients atteints d'infections à *S. aureus*. Toutefois, aucune donnée ne permet de mettre en lien cette diminution et la phagothérapie (126). La pré-incubation de phages avec des macrophages diminue significativement la capacité de phagocytose de ces derniers. Lorsque que les phagocytes sont incubés avec les phages et les bactéries, une diminution de la phagocytose est aussi observée pour les plus hautes doses de bactériophage. Employés chez des souris, l'effet des bactériophages sur la phagocytose est non-significatif (127). Des études supplémentaires sont donc nécessaires pour déterminer si les bactériophages pourraient avoir un effet impactant les capacités de phagocytose des cellules de l'immunité innée, et si cet effet a potentiellement un impact lors de leur utilisation thérapeutique.

Il semblerait que les bactériophages puissent aider à la destruction des bactéries ayant été phagocytées. En 2014, *Kaur et al* montrèrent que la phagocytose de *S. aureus*, préalablement exposés à des phages et ayant des phages adsorbés à leur surface, permettait une réduction significative de la quantité de bactéries persistant à l'état intracellulaire dans les macrophages. Toutefois, lorsque les phages sont ajoutés sans bactérie, cette augmentation de la destruction des bactéries n'a pas lieu (128). Cette destruction des *S. aureus* au sein des macrophages est observée *in vivo* et *in vitro* (129). Nous avons vu précédemment que les phages phagocytés ne sont inactivés qu'après environ deux heures (101). Les phages poursuivraient donc leur activité lytique au sein des macrophages, aidant donc à la destruction des bactéries phagocytées (130).

La production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) semble aussi modifiée par les bactériophages. Les DRO sont des entités chimiques, telles que des radicaux libres ou des molécules portant un groupement peroxyde, produites par les phagocytes et participant à leur effet antibactérien. Une production en trop grande quantité est toutefois négative puisqu'elle peut entraîner d'important dommages tissulaires (131). Seuls, les bactériophages n'engendrent qu'une faible production de DRO (127). Une étude de 2006, montre une inhibition significative de la production de DRO lorsque les bactéries sont préincubées avec un phage leur étant spécifique, mais pas lorsqu'elles sont incubées avec un phage spécifique d'une autre espèce bactérienne. Cette inhibition est, de plus, dose-dépendante (127). En 2008, une équipe polonaise observe aussi cette inhibition par les phages lorsque des neutrophiles sont stimulés par du LPS ou par des bactéries desquelles le phage n'est pas spécifique (132). Cette inhibition de la production de DRO pourrait donc être une spécificité de certains bactériophages et non pas une propriété commune à tous (132). Enfin, plus récemment, des travaux publiés en 2016 montrent la capacité de la protéine gp12 du phage T4 à se lier au LPS. Cette liaison réduirait la réponse inflammatoire associée. Certains auteurs ont donc émis l'hypothèse selon laquelle une telle fixation serait à l'origine de la diminution de la production du ROS lors d'utilisation du phage T4 (130, 133).

E- EFFETS DES PHAGES SUR L'INFLAMMATION

Dans l'hypothèse d'un emploi en médecine humaine ou vétérinaire, il est aussi important d'étudier les conséquences de l'administration de bactériophages concernant la réponse inflammatoire de l'organisme. En effet, plusieurs études ont montré une modification des profils d'expression cytokiniques lors de l'exposition de l'organisme aux bactériophages (101, 130, 134). Or, les cytokines sont des protéines impliquées dans la communication intercellulaire. Certaines d'entre elles sont associées à des profils pro-inflammatoires ou vont, au contraire, modérer l'inflammation.

En tant que matière protéique et particule virale, il serait légitime d'attendre une réponse inflammatoire de l'organisme face aux bactériophages (135). Toutefois, plusieurs études suggèrent que l'administration de phages ne génère pas une stimulation massive de l'inflammation. Ainsi, le phage T4 et les protéines gp23, gp24, Hoc et Soc ont été injectés à des souris et aussi testés sur des cellules humaines *in vitro*. Dans les deux cas, aucune différence significative avec les échantillons non traités n'était visible et la production de cytokines pro-inflammatoires était significativement beaucoup moins élevée comparativement à une stimulation par du LPS (135). En 2019, Dufour *et al* ont étudié les effets de l'administration locale de bactériophages au niveau de poumon. En l'absence de bactérie, un seul des deux phages entraînait une réponse cytokinique antivirale. En revanche, lors de la présence de bactéries, cette réponse n'était pas présente. La présence des phages tendait même à réduire l'inflammation. Les auteurs en ont donc conclu que les phages ne seraient pas responsables de sur-stimulation de l'inflammation lors d'une infection (136). En revanche, une autre étude mit en évidence la production d'interféron gamma lors d'une exposition aux phages et l'augmentation de l'inflammation locale. Notons toutefois l'utilisation dans cette étude d'un phage tempéré qui n'est, normalement, pas considéré comme idéal en phagothérapie (137). La réponse inflammatoire de l'organisme aux phages semble ainsi dépendre du virus considéré.

Au-delà des propriétés inflammatoires des phages, plusieurs auteurs leur suggèrent des propriétés anti-inflammatoires (134, 138, 139). Van Belleghem *et al* ont par exemple directement associés l'activation et l'inhibition de la transcription de certains gènes à la présence des bactériophages. Ainsi, les phages utilisés entraînaient l'activation des gènes codant l'interleukine 10, aux propriétés anti-inflammatoires, mais aussi de gènes codant l'interleukine 1, aux propriétés inflammatoires. A cela s'ajoute une activation de gènes codant des antagonistes à l'interleukine 1 (134). Les phages semblent aussi diminuer l'inflammation due au LPS (132, 138). Enfin, dans un modèle de poisson zèbre servant à étudier la mucoviscidose, l'administration de bactériophages a permis de réduire l'inflammation basale des embryons. De plus, ils réduisaient l'inflammation associée à la surinfection par *Pseudomonas aeruginosa*. Nous avons donc ici un effet clairement anti-inflammatoire associé à un cocktail de quatre bactériophages (140).

Nous obtenons donc des résultats contrastés. S'il semble que l'inflammation causée par les phages soit dans la majorité des cas négligeable, il demeure important de l'étudier afin d'éviter l'apparition d'effets négatifs dans le cadre de la phagothérapie. Certains cas laissent entrevoir un aspect anti-inflammatoire des bactériophages avec une altération des profils d'expression des cytokines. L'effet antibactérien des phages pourrait expliquer une partie des résultats obtenus. Des recherches demeurent nécessaires afin de déterminer les mécanismes et les implications de tels résultats. *In fine*, si ces effets sont démontrés, il apparaît difficile de les comparer aux effets obtenus par des anti-inflammatoires reconnus et utilisés (130).

F- EFFETS SECONDAIRES ET TOXIQUES

Pour achever notre étude de la pharmacodynamie des bactériophages, nous allons étudier les potentiels effets secondaires et toxiques associés à leur administration. La composition des bactériophages, leur grande spécificité, leur incapacité à infecter directement des cellules eucaryotes, l'absence de production de métabolites toxiques et l'exposition constante de l'organisme aux phages explique la faible toxicité inhérente à ces virus (141). Toutefois, des inquiétudes demeurent émises concernant leur utilisation, en particulier par voie intraveineuse, par crainte d'éventuels chocs liés à la préparation bactériophagiques ou à la libération massive de toxines bactériennes suite à leur lyse par les virus (142).

Les phénomènes de chocs à la suite de l'administration de préparations bactériophagiques sont rarement rapportés dans la littérature (142). Au cours des prémices de la phagothérapie, certains chercheurs ont décrit des réactions systémiques à l'administration de bactériophages. Ces symptômes peuvent, pour la plupart, être associés à une mauvaise purification des préparations qui contenaient alors des endotoxines ou des résidus bactériens (143). Aujourd'hui, la purification des solutions est bien plus aisée et les phages beaucoup mieux caractérisés (141). Notons que les bactériophages ont été utilisés pour déterminer les statuts immunitaires d'individus immunodéprimés (144). De plus, des chocs existent aussi lors de l'administration d'antibiotiques. Nous pouvons évoquer l'exemple des allergies aux β -lactamines.

Une autre crainte est la libération massive de toxines lorsque les bactériophages lysent les bactéries (141–143, 145). Une étude polonaise rapporte des douleurs au niveau du foie chez un patient traité par phagothérapie et dont l'origine serait attribuable à la libération des endotoxines. Encore une fois, ces effets secondaires sont peu graves et rares (143). Il faut aussi souligner que cette libération d'endotoxines est aussi un risque lors de l'utilisation d'antibiotiques bactéricides (145). Une étude s'est attachée à comparer la lyse bactérienne issue des bactériophages à celle induite par les β -lactamines. Cette étude démontrait que les deux souches virales concernées entraînaient une libération d'endotoxines comparable à celle de l'amikacine mais inférieure à celle issue de l'usage de β -lactamines (146).

Enfin, nous pouvons évoquer l'effet des bactériophages sur la flore commensale. L'action des antibiotiques à large spectre peut impliquer une altération de cette flore et entraîner des

dysbioses. Administrés par voie orale, les phages n'ont pas d'effet sur la population commensale du tube digestif (147, 148). Ceci est à mettre en lien avec la haute spécificité des bactériophages.

Ainsi, les effets secondaires et toxiques associés à la phagothérapie apparaissent comme rares et peu graves. Les antibiotiques présentent des effets toxiques parfois plus marqués que les bactériophages. Toutefois, dans les processus d'autorisation de mise sur le marché, les instances réglementaires exigent la présence d'études concernant l'innocuité des préparations utilisées. Les principaux effets secondaires trouvent leur origine dans les contaminants issus de la préparation des produits bactériophagiques. Pour répondre aux bonnes pratiques de fabrications, ils doivent aujourd'hui être purifiés ce qui limite fortement les risques (142).

Le dernier axe pouvant être exploré quant aux éventuels risques de la phagothérapie est l'impact environnemental que pourrait avoir un tel usage de virus. Notons que si dans ce travail nous envisageons la phagothérapie principalement du point de vue animal, l'usage des bactériovirus est aussi étudié dans la lutte contre les pathogènes des plantes (149). Peu d'études se sont consacrées aux éventuelles conséquences de l'utilisation des bactériophages sur les populations microbiennes naturelles mais les principales inquiétudes sont la sélection de phénotypes résistants aux phages, la création d'une perturbation dans les populations bactériennes entraînant une dysrégulation de ces dernières ou la propagation de gènes de virulence. Du fait de la spécificité des bactériophages, leur utilisation semble moins à risques d'entraîner des dysrégulations massives que l'usage d'antibiotiques, pourtant utilisés en agriculture. Par précaution, et en l'absence d'une compréhension totale des cycles biologiques dans lesquelles les phages pourraient être impliqués, il conviendrait de les utiliser de manière raisonnée, à l'instar des autres antimicrobiens (149).

C- AVANTAGES ET LIMITES

Nous avons évoqué de nombreux aspects de la phagothérapie au cours des parties précédentes, allant de leur haute spécificité à leur absence de toxicité, en passant par leur conception et le regard actuellement porté par les instances réglementaires à leur propos. Dans cette partie, nous allons mettre en avant les principaux avantages et limites des bactériophages, en particulier par rapport aux antibiotiques. Ces données sont organisées au sein du tableau II.

Tableau II – Comparaison Antibiotiques et Bactériophages lytiques

	Antibiotiques	Bactériophages lytiques
Production		
Découverte	Lente et couteuse	Relativement aisée
Production	Codifiée et standardisée	Doit s'assurer du retrait des toxines et contaminants bactériens
Stockage	Globalement stable dans le temps	Pas de procédure généralisable S'assurer de la survie des phages
Aspects réglementaires	Méthodes de mise sur le marché définie Usage fréquent	Limités à un usage compassionnel pour le moment
Pharmacodynamie		
Spectre	Très large ou dichotomie Gram + Gram -	Spécifique d'une espèce voire souche
Mécanisme d'action	Attaque d'un processus métabolique	Détournement de toute la machinerie métabolique
Résultat	Bactériostatique ou bactéricide	Bactéricide
Effets sur le microbiote	Parfois importants : risques de dysbiose	Rares
Pharmacocinétique		
Absorption	Variable selon les molécules	Administration préférable par voie parentérale pour un usage systémique
Diffusion	Variable. Diffusion intracellulaire possible	Nombreux organes. Parfois même encéphale
Métabolisme	Principalement au niveau hépatique	Inactivation par SPM, complément et anticorps
Élimination	Excrétion rénale et digestive principalement	Excrétion rénale minoritaire
Clinique		
Identification bactérie	Traitement empirique possible	Identification et test du phage nécessaires
Temps avant traitement	Usuellement court	Quelques jours à semaines selon présence des phages dans les collections
Modalités	Dosage afin de maintenir des concentrations adaptées	Phagothérapie passive ou Phagothérapie active (avec amplification du phage sur site)
Traitement intracellulaire	Possible avec certaines molécules	Impossible tel quel
Effets secondaires et toxicité	Variables, parfois graves (toxicité rénale ...)	Rares
Résistance bactérienne	Inévitable et de plus en plus fréquente, mène à des échecs thérapeutiques	Inévitable. Modification du fitness : retour sensibilité aux antibiotiques ou diminution de la virulence

Ce tableau compare les antibiotiques et les bactériophages selon quatre grands critères : leur production, leur pharmacodynamie, leur pharmacocinétique et leur usage thérapeutique.

Créé à partir de (12) : KORTRIGHT, Kaitlyn E., CHAN, Benjamin K., KOFF, Jonathan L. et TURNER, Paul E. *Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria. Cell Host & Microbe.* 13 2019. Vol. 25, n° 2, pp. 219-232. DOI [10.1016/j.chom.2019.01.014](https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.014).

Points essentiels : La Phagothérapie : Conception et Pharmacologie

- La conception d'une préparation bactériophagique passe par plusieurs étapes dont notamment l'isolement, la purification et la caractérisation (51).
- L'isolement d'un nouveau bactériophage est relativement aisé pour les bactéries les plus fréquentes. Il est plus facile de trouver un phage ciblant une bactérie précise en le cherchant dans un environnement où ladite bactérie est présente (par exemple autour des hôpitaux pour les bactéries responsables d'infections nosocomiales) (51,79).
- La caractérisation du bactériophage permet de déterminer sa famille, son spectre d'hôte, s'il est capable de lysogénie et s'il est porteur de gènes codant des toxines ou des gènes d'antibiorésistance (51,79,81,83).
- Aujourd'hui, cette étape implique un séquençage complet du génome du phage (51,81).
- Le stockage des bactériophages peut être réalisé selon plusieurs modalités : conservation en solution à température ambiante ou réfrigérée, conservation à -80°C, lyophilisation ou conservation par l'intermédiaire de la bactérie hôte. Aucune de ces méthodes n'est universelle et il faut déterminer la bonne méthode pour chaque phage (51,79,86-88).
- Lors du stockage, il faut suivre les titres en phages des produits conservés et les multiplier de nouveau si besoin (51).
- La pharmacologie des bactériophages nécessite encore de nombreuses recherches. Il est difficile de tirer de généraliser les données obtenues à tous les bactériophages.
- La voie parentérale donne les meilleurs résultats en termes de biodisponibilité (91,92). La voie intraréctale donne aussi de très bons résultats (99).
- Les bactériophages peuvent diffuser vers de nombreux tissus mais se concentrent en particulier au niveau du foie et de la rate. La capacité de certains bactériophages à passer la barrière hémato-méningée a été observée (91,92,102,103).
- Pour comprendre le métabolisme des bactériophages, il faut prendre en compte leur auto-amplification parfois réalisée au niveau du site infecté (89,104,105).
- Les bactériophages sont pris en charge par le système des phagocytes mononucléés, le système du complément et la réponse humorale (89,91,92).
- L'excrétion urinaire des bactériophages est un phénomène minoritaire (91,112).
- L'effet le plus intéressant des bactériophages est leur effet bactéricide (89).
- Les bactériophages peuvent pénétrer et détruire les biofilms (118-120).
- Des résistances bactériennes aux bactériophages peuvent émerger. Elles sont toutefois souvent associées à un trade-off qui entraîne, selon le bactériophage choisi, une réapparition de la sensibilité aux antibiotiques ou une diminution de la virulence (12,120-125).
- Les phages peuvent interagir avec le système immunitaire. Des études supplémentaires sur leur effet sont nécessaires (91,92,101,126-133).
- Certains bactériophages semblent orienter les profils cytokiniques vers un effet anti-inflammatoire. Des recherches complémentaires sont là aussi nécessaires (130,134-140).
- Les effets secondaires et toxiques des bactériophages sont rares et de faible gravité clinique. Historiquement, ces effets pouvaient principalement être mis en lien avec la présence de contaminants bactériens dans les préparations bactériophagiques (141-148).
- Les bactériophages et les antibiotiques ne présentent pas les mêmes forces et faiblesses. Si un usage des phages est un jour envisagé, il ne faut pas l'imaginer comme un remplacement de l'antibiothérapie mais comme un complément (12).

PARTIE IV - POSSIBLES UTILISATIONS DES BACTERIOPHAGES EN MEDECINE VETERINAIRE

Avant que l'antibiorésistance ne s'impose comme une véritable problématique, la bibliographie concernant l'usage des bactériophages en médecine vétérinaire demeurait limitée. Toutefois, nous observons aujourd'hui un véritable regain d'intérêt pour ces virus. Cette partie tentera donc de dessiner les potentiels futurs spectres d'application des bactériophages en thérapie ou prophylaxie chez les animaux de compagnie, les bovins, les porcs et les volailles. Un large spectre de l'étude consistera en la maîtrise du portage d'agents pathogènes zoonotiques chez les animaux.

A- LA PHAGOTHERAPIE CHEZ LES ANIMAUX DE COMPAGNIE

Selon le rapport de 2020 de la Fédération des Fabricants d'Aliments pour Chiens, Chats, Oiseaux et autres animaux familiers, le nombre d'animaux domestiques s'élevait en 2018 à 64 millions d'individus. Si la moitié de ces animaux correspond aux poissons d'aquarium, les chiens représentaient alors une population de 7,6 millions d'individus tandis que les chats étaient 14,2 millions. Dans les deux cas, les populations étaient en légère augmentation par rapport à 2016. Enfin les reptiles représentaient 2,2 millions d'individus (150). S'il est possible de trouver des études préliminaires concernant l'usage de phages chez le chien, leur usage chez le chat est beaucoup moins étudié.

Chez le chien, les deux principales indications évoquées sont le traitement des affections liées à *Staphylococcus pseudintermedius* et de celles liées à *Pseudomonas aeruginosa*. L'usage de phages contre les bactéries responsables d'affections du tractus urinaire a aussi été envisagé. Enfin, chez les reptiles « nouveaux animaux de compagnie », l'usage des phages a été évoqué pour réduire le risque zoonotique associé au portage de *Salmonella*.

1- LES INFECTIONS A *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* CHEZ LE CHIEN

Pseudomonas aeruginosa, ou bacille pyocyanique, est un bacille Gram négatif aérobie. Dans l'espèce canine, il est en particulier responsable d'otites, d'infections de plaies, d'infections urinaires et de pyodermites profondes (151). C'est une bactérie intrinsèquement résistante à de nombreux antibiotiques et qui présente aussi beaucoup de résistances acquises. *Pseudomonas* peut en effet exprimer des β -lactamases endogènes et acquises par mutation. Elle présente une perméabilité membranaire inférieure à celle des autres bactéries par altération des porines de la membrane externe et produit des pompes à efflux permettant de rejeter les molécules antibiotiques hors de la cellule bactérienne (152). Enfin, *Pseudomonas* a la capacité de synthétiser un biofilm qui la protège de l'activité des antibiotiques (153). En 2008, une étude caractérisa les profils d'antibiorésistance de 106 souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées à partir de chiens présentant une otite externe, une otite moyenne ou une pyodermite. Malgré l'absence d'information concernant les précédents traitements antimicrobiens réalisés sur les chiens prélevés, les niveaux de

résistance contre les céphalosporines de troisième génération s'échelonnaient entre 20 et 40% tandis que pour les fluoroquinolones les taux observés étaient notamment de 27% pour la marbofloxacin et de 31% pour l'enrofloxacin (154). Ces paramètres expliquent donc l'intérêt pour des thérapies alternatives à l'antibiothérapie pour le traitement des affections à *Pseudomonas* en médecine vétérinaire comme en médecine humaine.

En 2006, Marza *et al* ont présenté dans le *Journal of the International Society for Burn Injuries* deux cas cliniques concernant le traitement d'infections à *Pseudomonas* : un chez l'homme et un chez un Saint-Bernard. Le chien présentait une dermatite atopique compliquée par une otite érythémato-cérumineuse chronique bilatérale à *Pseudomonas aeruginosa*. Les bactériophages étant employés en routine en Géorgie pour le traitement des otites chroniques, ils administrèrent 400 PFU d'une préparation contenant des phages non détaillés dans le canal auriculaire droit tandis qu'ils laissèrent le canal gauche sans traitement. Vingt-sept heures plus tard, l'oreille droite présentait une nette amélioration clinique avec une diminution de l'inflammation et des sécrétions. Ils mirent aussi en évidence une multiplication locale des virus atteignant en 27 heures $1,6 \times 10^8$ PFU. Une administration de phages dans l'oreille gauche améliora aussi l'état clinique de cette dernière. Neuf mois plus tard, le chien était totalement guéri et *Pseudomonas* ne put plus être isolé (155). Il est possible de trouver dans la littérature des exemples d'isolements de phages avec une activité lytique à l'encontre de diverses souches de *P. aeruginosa* (151, 156, 157). En 2011, Santos *et al* parvinrent à isoler deux bactériophages actifs contre des souches de *P. aeruginosa* isolées chez des chiens atteints de kératites bactériennes (158). En 2016, Furusawa *et al* travaillèrent sur deux phages isolés à partir d'eaux usées et sur 39 souches de *P. aeruginosa* isolées à partir de chiens atteints d'une otite externe, d'une pyodermite profonde ou présentant des plaies cutanées. Parmi ces 39 souches, 15% étaient résistantes aux fluoroquinolones. En cumulant les deux phages testés, une activité lytique forte était obtenue sur 71,8% des souches et sur 4 des 6 souches antibiorésistantes (151). En 2019 et en 2020, deux études similaires ont été menées. Des phages à large spectre du genre *Pbunavirus* de la famille des *Myoviridae* ont été isolés. L'inhibition de la croissance bactérienne était très variable selon les souches de *Pseudomonas* considérées (156, 157). Encore une fois les phages sont actifs sur des bactéries antibiorésistantes. L'étude de Fujiki *et al* de 2020 révélait de plus qu'un cocktail formé par quatre phages lysant des souches de *P. aeruginosa* isolées à partir de pyodermite canine permettait de réduire l'apparition d'une résistance bactérienne aux bactériophages (157).

Enfin, Hawkins *et al* réalisèrent en 2010 un essai clinique publié dans *Veterinary Microbiology*. Ils utilisèrent une préparation de phages sur des chiens souffrant d'otites chroniques à *Pseudomonas* (159). Il s'agit du premier essai clinique des bactériophages chez les animaux de compagnie. Pour être retenus, les chiens devaient souffrir d'une otite chronique depuis plus de 3 mois et avoir subi au moins 3 traitements antibiotiques infructueux. Ils ne devaient pas non plus avoir reçu d'antibiotiques dans la semaine précédant l'administration des bactériophages. La préparation de 0,2 mL contenait 6 phages chacun au nombre de 1.10^5 PFU. *In vitro*, cette préparation présentait une forte activité lytique contre

90% des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées à partir d'otites. A partir d'un score clinique basé sur six facteurs (l'occlusion du canal auriculaire, l'érythème, la quantité d'écoulements, leur aspect, la présence de lésions et l'odeur de l'oreille), une nette amélioration fut observée en 48 heures après la première administration de la solution chez les 10 chiens traités. Les comptages bactériens diminuèrent avec une réduction moyenne de 67% en 48 heures. Les comptages des phages étaient tous supérieurs à la quantité de phages administrés ce qui témoignait d'une multiplication *in situ*. Dix-huit mois après le traitement, les résultats présentés étaient globalement positifs. Trois des chiens présentaient une guérison complète tandis que chez trois autres, l'otite ne présentait plus de caractère infectieux à *P. aeruginosa*. Le suivi est pour le reste des animaux incomplet. Si cet essai clinique se limite à un petit nombre de chiens, que le suivi au long terme reste incomplet et qu'il n'est pas réalisé en double aveugle, il faut toutefois noter la diminution des comptages bactériens, l'amélioration du score clinique et la multiplication des phages chez tous les chiens traités. De plus, cette étude ne met en évidence aucune toxicité de l'application de la solution de bactériophages. Elle reste à ce jour une des rares études concernant l'efficacité clinique des bactériophages chez les animaux de compagnie et appelle à la réalisation d'autres études similaires pour définir leur intérêt dans le cadre du traitement d'affections à *Pseudomonas* (159).

2- LES INFECTIONS A *STAPHYLOCOCCUS SPP.* CHEZ LE CHIEN

Le genre *Staphylococcus* regroupe un ensemble de coques Gram positifs capable de former des biofilms bactériens. Ces bactéries sont souvent commensales des mammifères. Ainsi, *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore usuelle de la peau des êtres humains, et peut être isolé chez les poulets, les porcins, les ovins ou encore les bovins (160). De la même manière, *Staphylococcus pseudintermedius* fait partie de la flore commensale de la peau et des muqueuses des chiens en bonne santé (161). Cette bactérie peut donc être retrouvée sur la peau, le pelage, dans les follicules pileux et sur les surfaces muqueuses de la bouche, du nez et de l'anus. Il représente à lui seul 90% des *Staphylococcus* isolés chez le chien (162). Cependant, les *Staphylococcus* et notamment ceux exprimant une enzyme nommée coagulase sont aussi des agents pathogènes opportunistes. *Staphylococcus aureus* est un agent redouté de maladies nosocomiales tandis que *Staphylococcus pseudintermedius* est le principal responsable de pyodermites dans l'espèce canine. Il est aussi impliqué dans des infections des oreilles, des infections urinaires ou, à l'instar de ce que qui est observé chez l'humain, des infections de prothèses (162).

Si les *Staphylococcus* sont des agents pathogènes de grande importance clinique en médecine vétérinaire, ils le sont d'autant plus si nous nous penchons sur le spectre de l'antibiorésistance. En effet, de nombreux *Staphylococcus* résistants à la méthicilline sont recensés. Cette résistance à la méthicilline témoigne d'une perte de sensibilité à toutes les β -lactamines. Chez l'homme, le plus important est le SARM pour *Staphylococcus Aureus* Résistant à la Méthicilline tandis que chez le chien il s'agit du SPRM pour *Staphylococcus*

Pseudintermedius Résistant à la Méthicilline. Une étude réalisée en 2018 au sein d'une clinique vétérinaire à Singapour montrait des taux de SPRM allant jusqu'à 63% chez les chiens malades tandis que 78% des *Staphylococcus pseudintermedius* isolés étaient résistants à au moins trois classes d'antibiotiques (163). Bien que cette étude se restreigne à la patientèle d'une seule clinique vétérinaire, elle permet toutefois de mettre en relief l'importance que peut prendre le phénomène d'antibiorésistance chez les *Staphylococcus*. Ce problème doit aussi être inclus dans une logique de santé globale. En effet, les SPRM peuvent se transmettre à d'autres chiens contacts ou persister dans l'environnement (164, 165). De plus, ces capacités de résistance peuvent aussi se transmettre entre bactéries animales et bactéries humaines par le biais de transferts génétiques, via une interaction entre les populations bactériennes des deux espèces. Ce problème est encore plus important dans la mesure où l'habitat des chiens et celui des humains est aujourd'hui largement partagé (166). Enfin, le traitement de bactéries SPRM peut aussi sélectionner des résistances chez des *Staphylococcus aureus* pouvant eux aussi être présents de manière commensale chez les animaux. L'antibiorésistance est ainsi une véritable problématique concernant les staphylocoques et, depuis 2011, l'Agence Européenne du médicament alerte à ce propos et exprime la nécessité de la recherche d'alternatives thérapeutiques (167).

Comme cela a déjà été évoqué précédemment, les principales infections à *Staphylococcus* chez le chien sont des atteintes cutanées. Concernant les pyodermites, les recommandations sont aujourd'hui l'application de traitements antiseptiques topiques avec potentiellement l'ajout d'une antibiothérapie systémique selon la profondeur de l'infection (168). Les résultats encourageants de traitements par phagothérapie de cas cliniques humains et animaux ont conduit à la recherche de nouveaux phages ciblant *Staphylococcus pseudintermedius* chez le chien (169). Ces bactériophages sont globalement assez peu connus mais l'intérêt porté à cette potentielle alternative thérapeutique est croissant. La « Canine Health Foundation » de l'American Kennel Club propose en 2021 de financer des programmes de recherche concernant les applications de la phagothérapie contre la pyodermite canine (170). Dans une étude réalisée en 2019, 19 bactériophages ayant pour hôte *S. pseudintermedius* ont été recensés (171). Toujours en 2019, Moodley *et al* sont parvenus à caractériser quatre bactériophages isolés à partir de déjections canines. Ils ont alors étudié la capacité de ces phages à lyser préférentiellement des SPRM plutôt que des SPSM (*Staphylococcus pseudintermedius* sensible à la méthicilline). Les quatre phages présentaient une action lytique sur les 17 souches SPRM testées tandis que 16 à 28% des souches SPSM testées étaient lysées. Accessoirement, ces virus parvenaient aussi à lyser deux souches de *Staphylococcus schleiferi* qui peut aussi être impliqué dans des infections dermatologiques chez le chien. L'analyse du génome de ces phages révélait toutefois qu'ils présentent des gènes favorables à la lysogénie. Il s'agissait donc probablement de phages tempérés ce qui n'en fait pas de bons candidats pour la phagothérapie. Il faut noter que ces phages ne contenaient pas de facteurs de virulence connus ni de gènes d'antibiorésistance qu'ils pourraient transmettre à des bactéries mais ils pourraient coder des protéines dont la fonction demeure aujourd'hui inconnue. Cependant, l'infection préférentielle de souches bactériennes résistantes demeure

intéressante puisque cela pourrait permettre de lutter contre l'infection tout en préservant les bactéries commensales de la peau et des muqueuses (172). Azam *et al* sont aussi parvenus à isoler quatre phages de *S. pseudintermedius* dont le phage DP001 à partir de salive de chien. Ces phages se sont révélés capables d'infecter 50 à 95% des 20 souches de *S. pseudintermedius* étudiées. Une des souches est totalement résistante à l'infection grâce à la présence d'un complexe CRISPR-Cas9. Ainsi, trois des phages présentaient un large spectre d'hôte. L'importance de la lyse bactérienne était cependant variable selon le phage et la souche bactérienne considérés. L'étude du génome de trois de ces virus permit de montrer qu'ils ne contenaient pas de gène codant des facteurs de virulence, des toxines ou des gènes responsable d'antibiorésistance. Toutefois, les trois étaient porteurs d'intégrases et de répresseurs ce qui indique qu'ils pourraient être impliqués dans des cycles lysogéniques (173). Ces deux études parvinrent à isoler des phages lysant *S. pseudintermedius* mais dans les deux cas, il s'agissait de phages capables d'entrer en lysogénie et qui sont donc peu indiqués dans le cadre de la phagothérapie. Néanmoins, Moodley rappelle qu'il serait possible de se débarrasser de cette capacité de lysogénie en sélectionnant des mutants de ces phages par le biais de mutations spontanées ou du génie génétique puisque des mutations empêchant l'expression de l'intégrase ou du répresseur peuvent désactiver la capacité d'accomplir un cycle lysogénique (172). Certaines études se sont aussi intéressées à l'usage de phages de *S. aureus* pour lutter contre *S. pseudintermedius*. Les phages SA012 et SA039 de *Staphylococcus aureus* sont par exemple capables d'infecter d'autres espèces de staphylocoques dont *Staphylococcus pseudintermedius* (173). L'activité lytique de ces phages est toutefois limitée en ce qui concerne *S. pseudintermedius*. Ainsi, sur 21 souches étudiées, le phage SA012 ne donne une lyse totale que dans 9.5% des cas (174).

Des études complémentaires demeurent nécessaires pour déterminer si la phagothérapie est une alternative possible et réaliste aux traitements actuels de la pyodermite canine. Ces études devront déterminer en particulier l'existence de phages strictement lytiques ou s'il est possible de réaliser une phagothérapie à partir des phages de *S. pseudintermedius* déjà connus mais possédant une capacité de lysogénie. Il faudra aussi étudier l'intérêt des phages de *S. aureus* à large spectre. Il est cependant nécessaire de noter la présence d'études concernant l'usage des enzymes des phages pour lutter contre la pyodermite canine. Comme nous l'avons déjà évoqué dans la partie I-B-3, les endolysines sont des enzymes sécrétées par le phage à la fin de son cycle de multiplication pour permettre la destruction de la paroi bactérienne (175). La figure 9 illustre l'usage de la phagothérapie et celui des endolysines.

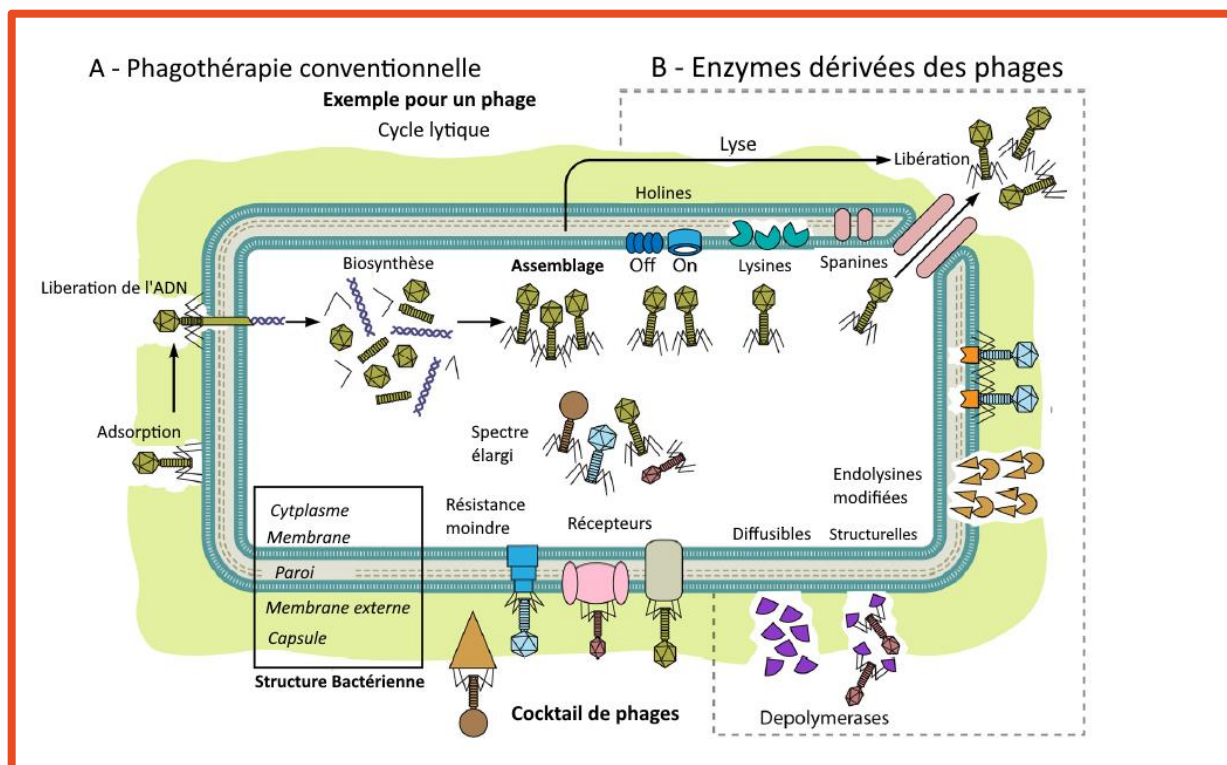


Figure 9 - Comparaison phagothérapie et utilisation des endolysines en tant qu'enzymothérapies - Le cycle lytique est représenté à gauche. A droite de l'image, l'action des enzymes issues de phages est représentée et montre notamment la manière dont elles attaquent la paroi bactérienne.

Adapté de : (173) GORDILLO ALTAMIRANO, Fernando L. et BARR, Jeremy J. *Phage Therapy in the Postantibiotic Era. Clinical Microbiology Reviews.* 2019. Vol. 32, n° 2. DOI 10.1128/CMR.00066-18. – Avec l'autorisation de American Society for Microbiology – Journals - © - 2019

Par exemple, la lysine issue du phage SA012 est capable de lyser les *S. pseudintermedius* (176). Elle est aussi active contre des *S. pseudintermedius* multirésistants aux antibiotiques ou contre *S. schleiferi*. Une étude rapporte une diminution s'échelonnant entre 2 et 5.5 log des CFU de 20 souches de staphylocoques isolées à partir de la peau de chiens. De plus, l'activité lytique de l'endolysine est bien supérieure à celle du phage dont elle est issue (174). D'autres études se sont intéressées à la protéine P128. La protéine P128 est une protéine chimère créée à partir d'une lysine présente sur la queue du phage K ciblant *Staphylococcus aureus* et combinée à un domaine permettant de cibler la paroi bactérienne. Cette protéine présente une capacité lytique contre les SARM et les autres staphylocoques (177). Junjappa *et al* ont utilisé cette protéine pour lutter contre la pyodermite canine. Après une étude *in vitro* réalisée sur 46 souches de *Staphylococcus* isolés à partir de la peau de chiens atteints de pyodermite et révélant une lyse de toutes les souches par P128, la protéine a été intégrée dans un hydrogel. Dix-sept chiens souffrant de pyodermite ont alors intégré une étude clinique pour caractériser l'efficacité de ce gel. Cette étude a été réalisée dans une seule clinique vétérinaire et les chiens intégrés présentaient tous une pyodermite avec des bactéries résistantes aux antibiotiques dont l'enrofloxacin, la marbofloxacin ou la céphalexine. Le gel

était appliqué deux fois par jour pendant huit jours. Dans tous les cas, une amélioration de l'état clinique de l'animal avec diminution de l'érythème, du suintement des lésions et disparition de quasiment toutes les pustules était rapporté. Aucune réaction d'hypersensibilité n'avait été mise en évidence (178). Même si ces études sont limitées à un seul centre d'investigation et ne sont ni randomisées ni comparées à un placebo, ou qu'elles se limitent à une étude *in vitro* de l'effet des enzymes issues des phages, ces résultats sont encourageants et justifient la nécessité d'autres études. Les enzymes issues de phages pourraient donc représenter des éléments thérapeutiques intéressants dans le cadre du traitement des pyodermites canines. Ces considérations sont résumées dans le tableau III.

Tableau III – Avantages et limites des bactériophages dans le traitement des pyodermites canines

	Avantages	Limites
Bactériophages de <i>S.pseudintermedius</i> :	Peuvent être isolés à partir des animaux (déjections, salive ...) Certains ciblent préférentiellement les SPRM Spectre large, parfois étendu à d'autres <i>Staphylococcus</i>	La plupart sont des phages tempérés Gènes codant des protéines d'effet inconnu
Bactériophages de <i>S.aureus</i> :	Certains ont un large spectre pouvant atteindre <i>S.pseudintermedius</i>	Faible activité lytique
Endolysines :	Bonne activité lytique, parfois supérieure à celle du phage dont elles sont issues Destruction de bactéries multirésistantes	Nécessite une plus grande phase de recherche préalable

Enfin, dans un contexte sortant du cadre des infections dermatologiques, des chercheurs tentèrent d'évaluer la capacité lytique *in vitro* de préparations de phages visant à traiter des conjonctivites causées par des staphylocoques (179). Dans ce but, ils réalisèrent des prélèvements chez 120 chiens présentant une conjonctivite marquée par la présence d'hyperhémie conjonctivale, d'œdème ou de châssis purulent. Tous les échantillons étaient collectés avant qu'un quelconque traitement n'ait été mis en place et permirent d'isoler 80 souches de *Staphylococcus spp.* Plusieurs formulations d'une solution contenant un cocktail de cinq phages furent créées. Trois des formulations proposées permettaient de maintenir une activité lytique des phages pendant 14 à 21 jours pendant lesquels toutes les souches étaient détruites lors de l'application de la solution sur les cultures.

3- LES INFECTIONS DU BAS APPAREIL URINAIRE

Outre les infections du chien à *Pseudomonas* et *Staphylococcus*, d'autres potentielles utilisations des bactériophages ont été évoquées chez les animaux de compagnie. Nous évoquerons dans cette partie l'usage des phages dans le traitement des infections urinaires

Les infections du tractus urinaire sont des affections ayant une origine multifactorielle mais caractérisée, la plupart du temps, par la croissance de bactéries dites uropathogènes provenant souvent du système digestif. Les bactéries parviennent à infecter par voie ascendante le bas appareil urinaire. Chez le chien, la bactérie la plus souvent impliquée est *Escherichia coli* qui est isolée chez 45 à 55% des chiens présentant une bactériurie. Chez le chat, *E. coli* est aussi la principale bactérie isolée lors de bactériurie mais sa prévalence est moindre que chez le chien, étant isolée dans seulement 37% des cas. La bactériurie et les infections du tractus urinaire ont une prévalence bien moins importante chez le chat que chez le chien (180). Ainsi, une étude réalisée en 2011 révélait une bactériurie chez 6% seulement des chats prélevés par cystocentèse (181). Les infections du bas appareil urinaire peuvent aussi être associées à des actes thérapeutiques comme la mise en place d'une sonde urinaire ou encore à des comorbidités telles que le diabète sucré. Actuellement, lorsque les signes cliniques semblent indiquer l'existence d'une infection du bas appareil urinaire et après mise en évidence d'une bactériurie, une prescription d'amoxicilline associée à de l'acide clavulanique est souvent réalisée (182). Il est toutefois important de prendre en compte l'augmentation de la prévalence des bactéries multirésistantes en particulier vis-à-vis des fluoroquinolones, des céphalosporines de troisième génération et des β -lactamines (183). De plus, toujours dans un contexte de santé globale, il semblerait que les bactéries multirésistantes présentes chez le chien puissent se transmettre aux humains notamment en cas de contact rapproché. Il y aurait alors portage fécal des bactéries par les êtres humains. Par exemple, une étude réalisée à l'hôpital de l'école vétérinaire de Brisbane en Australie, montre que certains écouillons rectaux des personnels de l'hôpital sont porteurs de *E. coli* multirésistants isolés dans des infections canines. Ceci pourrait témoigner d'un passage bactérien du chien à l'homme (184).

C'est dans ce contexte que des études concernant les bactériophages sont menées en tant que potentiels agents thérapeutiques des infections du bas appareil urinaire canin et félin. Les observations cliniques rapportées des expériences menées en Union Soviétique et en Pologne dans les années 80-90 semblent montrer une efficacité des bactériophages dans le traitement des infections urinaires chez les humains (185). De plus, certains bactériophages ont la propriété de dégrader le biofilm bactérien (118). La principale étude concernant l'intérêt de la phagothérapie dans le traitement des infections urinaires chez le chien et le chat est celle de Freitag *et al* publiée en 2007. Ces derniers isolèrent 31 souches de *E. coli* uropathogènes à partir de chiens et 22 souches de *E. coli* uropathogènes à partir de chats dont les urines furent prélevées par cystocentèse pour diminuer le risque de contamination. Ils obtinrent 40 phages à partir d'eaux usées et les testèrent sur les 53 souches. Les phages parvenaient à lyser entre 17 et 70% des souches avec en moyenne 40% des souches détruites. Seules trois souches bactériennes n'étaient pas détruites pendant l'expérience. Les 10 phages avec le spectre le plus large parvenaient à eux seuls à détruire 92% des souches testées. Cette étude montre qu'il est possible d'isoler des phages capables de détruire des bactéries responsables d'infections urinaires à partir d'eaux usées. Les phages avaient des profils

lytiques distincts et quatre d'entre eux se sont révélés strictement lytiques et pourraient donc être considérés comme de bons candidats pour la phagothérapie (185).

Si cette étude reste *in vitro*, elle reste toutefois intéressante dans la mesure où elle parvient à isoler à partir d'eaux usées des phages qui pourraient avoir un intérêt en phagothérapie. Elle reste en 2021 une des seules études approfondissant l'usage des phages dans le traitement des infections du bas appareil urinaire canin et félin et appelle à de nouvelles études capitalisant sur ses conclusions afin de démontrer si cette thérapie est pertinente dans un tel cadre.

4- UTILISATION DE BACTERIOPHAGES CHEZ LES REPTILES NAC

Nous l'avons évoqué précédemment, le nombre de reptiles « nouveaux animaux de compagnie » en France s'élevait à 2,2 millions d'individus en 2018 (150). Dans cette partie, nous allons étudier l'utilisation potentielle des phages dans cette population animale. Plus particulièrement, nous allons nous intéresser à leur intérêt dans la diminution de l'excrétion de salmonelles par les reptiles. Les bactéries du genre *Salmonella* font partie du microbiote commensal du tube digestif des reptiles. La plupart sont de l'espèce *Salmonella enterica*. Le contact avec les reptiles peut donc être responsable de « salmonelloses associées aux reptiles », en particulier en cas de manque d'hygiène pendant et après la manipulation de ces animaux. Les enfants et les individus immunodéprimés sont des populations particulièrement à risque (186). Une étude menée aux Pays-Bas entre 1985 et 2014 révèle que la proportion de salmonelloses liées aux reptiles a globalement augmenté atteignant jusqu'à 8% des cas de salmonelloses. De plus, il est aussi possible de remarquer que cette affection touche des populations plus âgées qu'auparavant avec une augmentation des cas de 20% par an chez les 45-74 ans que les auteurs mettent en lien avec l'achat d'animaux destinés aux adultes tels que les lézards ou les serpents (186).

A cause du risque sanitaire associé aux reptiles, l'utilisation d'antibiotiques pour diminuer le portage de salmonelles a été évoqué, sans réel succès à long terme. C'est dans ce cadre que des études concernant l'utilisation de bactériophages pour diminuer le portage et surtout l'excrétion de salmonelles par les reptiles ont été menées (187, 188). Ces études, réalisées en 2019 et 2020, s'intéressaient en particulier au phage Felix O1 spécifique des salmonelles et au phage S16 chez des agames barbus (*Pogona vitticeps*). La première étude révélait que le phage Felix O1 est dénaturé à des pH inférieurs à 2,8 ce qui justifie l'utilisation de tampon pour alcaliniser le pH gastrique lors de l'administration de bactériophages. Après administration, le phage était isolé dans les fèces en moyenne pendant 19 jours. Aucun effet secondaire sur la dizaine d'animaux testés n'avait été remarqué (187). La seconde étude s'intéressait à la réplication du phage Felix O1 et du cocktail de phage Felix O1 et S16 au sein de l'intestin, à la période de portage de ces phages et au portage des salmonelles. Les phages étaient capables de passer l'estomac une fois le pH alcalinisé et se multipliaient dans l'intestin.

Ils retrouvèrent des phages dans les fèces jusqu'à vingt jours après la dernière administration. Globalement, l'administration de phages permit une réduction du nombre de serovars hébergés par les agames. Certaines souches de *Salmonella* avaient pu être totalement éliminées tandis que pour d'autres le portage sain persistait. En particulier, un des lézards s'était révélé négatif à la détection de salmonelles pendant 9 mois puis était redevenu positif. Des tests négatifs n'excluent donc pas un potentiel portage avec excrétion intermittente ou une recontamination. Du point de vue des quantités de salmonelles hébergées, les résultats étaient très variables entre les individus et au cours du temps. Toutefois, il semble que les phages aient réduit la quantité intestinale de salmonelles. Il faut aussi prendre en compte le fait que de nombreuses variables influencent la qualité du comptage bactérien comme la qualité des échantillons fécaux ou bien la qualité de la récolte des échantillons (188)

Ces deux études montrent qu'il est possible d'administrer des bactériophages par voie orale à des reptiles sans que des effets secondaires ne soient rapportés. Les bactériophages, s'ils sont administrés avec un tampon, sont capables de persister dans l'intestin et, dans le cadre de ces études, de se répliquer dans les *Salmonella* présentes dans le tube digestif. Il semblerait que l'administration de bactériophages réduise l'excrétion de salmonelles dans l'environnement. Il est toutefois difficile de tirer des conclusions concernant la réduction quantitative de cette excrétion. Ces deux études sont les premières menées sur les reptiles. Il est donc nécessaire de compléter leurs apports pour déterminer si l'utilisation de bactériophages est réellement pertinente pour réduire effectivement le risque de salmonellose associée aux reptiles. Au-delà de la maîtrise de ce risque en particulier, elles ouvrent la porte à l'usage de la phagothérapie chez les agames pour d'autres motifs et à un élargissement à d'autres espèces de reptiles.

Points essentiels : Utilisations de la phagothérapie chez les animaux de compagnie :

- Le nombre d'animaux de compagnie est de plus en plus important en France et dans le monde et les relations entre l'homme et l'animal de compagnie ont fortement évolué (150).
- La phagothérapie en est encore à ses balbutiements chez les animaux de compagnie et les études restent, aujourd'hui, globalement limitées à l'espèce canine.
- La recherche se concentre particulièrement sur des bactéries dont la prévalence de la résistance à de nombreux antibiotiques est de plus en plus préoccupante : *Pseudomonas aeruginosa*, *SARM*, *SPRM*, ... (152-154,163-165)
- La proximité entre animaux de compagnie et propriétaires étant de plus en plus importante, cela implique des problèmes de santé publique avec la potentielle diffusion de phénotypes d'antibiorésistance entre les populations bactériennes (166).
- De multiples indications à la phagothérapie sont envisagées mais les principales sont à ce jour le traitement des otites et des pyodermites.
- De plus en plus de phages sont découverts, isolés et caractérisés (156-158,172-174,185).
- Il n'y a, à ce jour, qu'un seul essai clinique réalisé à propos des otites à *Pseudomonas* mais il reste incomplet et non réalisé en double aveugle (159).
- La caractérisation des bactériophages entraîne aussi l'étude des enzymes qu'ils produisent. Cela ouvre la porte à l'usage de ces molécules, dont les endolysines pour lutter contre les infections bactériennes (176-178).
- Ces enzymes ont parfois de meilleures capacités d'inhibition de la croissance bactérienne que les virus dont elles sont issues (174).
- Deux études se sont intéressées à l'usage des bactériophages chez les reptiles nouveaux animaux de compagnie et ouvrent la voie à un potentiel usage de ces virus chez ces animaux (187,188).
- La phagothérapie chez les animaux de compagnie se concentre donc principalement sur la lutte contre des bactéries multirésistantes pouvant représenter des impasses thérapeutiques avec l'arsenal antibactérien actuel tout en s'intégrant dans une logique « One Health » à cause de l'interrelation des populations bactériennes humaines et animales. Si la plupart des travaux concernent principalement des recherches menées *in vitro* et caractérisent des phages, ils demeurent encourageants et appellent à des études complémentaires et *in vivo* avant que cette thérapie soit mise en place couramment.

B- LA PHAGOTHERAPIE CHEZ LES BOVINS

L'élevage bovin représente une partie non négligeable du paysage agricole français. En 2018, le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation recensait un cheptel national s'élevant à 18,5 millions de têtes (189). En 2020, l'institut de l'élevage recensait 18,1 millions de bovins en France dont 3,8 millions de vaches allaitantes et 3,6 millions de vaches laitières (190). Les principaux bassins laitiers sont la Bretagne, la Normandie et les Pays de la Loire tandis que les principaux bassins allaitants sont la Nouvelle-Aquitaine, Auvergne-Rhône-Alpes, l'Occitanie et Bourgogne-Franche Comté. Les trois races les plus représentées en France sont la Prim'Holstein, la Charolaise et la Limousine. La France compte le plus grand cheptel bovin d'Europe et se classe deuxième derrière l'Allemagne si nous nous limitons au cheptel laitier. L'importance économique de la production bovine en France est significative puisque les exportations de la filière viande représentaient un total de 2,4 milliards d'euros en 2019 tandis que celles de la filière lait s'élevaient à 7,2 milliards d'euros (190).

C'est donc dans ce contexte économique et dans un contexte global d'antibiorésistance que l'usage des bactériophages vient s'inscrire. Nous nous concentrerons principalement sur la prise en charge des mammites bovines, des diarrhées néonatales et du portage d'*Escherichia coli* O157/H7 par les bovins.

1- LES MAMMITES BOVINES

La mammite bovine est définie comme une inflammation de la mamelle. C'est une des affections les plus fréquentes en élevage laitier (191). Elle correspond à une infection de la mamelle par des germes. Les bactéries les plus fréquemment isolées sont *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et des staphylocoques coagulase négatifs. *Trueperella pyogenes* est aussi un agent de mammites (192, 193). Il faut distinguer différents modèles de transmission des mammites. En effet, les mammites à *Staphylococcus aureus* correspondent, par exemple, à un modèle dit de traite avec une contamination entre les vaches associée à un manque d'hygiène lors de la traite ou au contact du trayon avec du lait infecté. *E. coli* est, quant à lui, un germe d'environnement et témoigne souvent d'un manque d'hygiène global. Enfin, il est aussi possible de définir des modèles mixtes tels que ceux associés à *Streptococcus uberis* (194). Toutes les mammites ne sont pas identiques. Il faut distinguer les mammites cliniques et les mammites subcliniques. Les mammites cliniques sont caractérisées par la présence de signes cliniques permettant de la mettre en évidence comme la modification de l'aspect du lait qui peut alors contenir des grumeaux, du pus ou être de couleur altérée, des symptômes locaux comme une mamelle dure et chaude ou encore des symptômes généraux avec la présence d'une hyperthermie, d'une dysorexie allant même parfois jusqu'à un abattement marqué de l'animal pouvant conduire à la mort de ce-dernier. Les mammites subcliniques ne présentent pas de signe clinique évident permettant de les détecter mais ont

une grande importance économique (193, 194). Le traitement usuel de la mammite implique la traite du quartier, l'usage d'antibiotiques et d'anti-inflammatoires. La prévention des mammites passe par l'application prophylactique d'antibiotiques sur les mamelles suspectes et l'usage d'obturateurs permettant de boucher le canal du trayon lors du tarissement ainsi que par l'application de mesures d'hygiène lors de la traite et dans l'environnement pour éviter toute contamination (193).

La mammite est une maladie qui représente un coût non négligeable pour l'éleveur. En effet, l'impact économique des mammites s'exprime non seulement en coûts directs pour l'achat de médicaments et le paiement des frais vétérinaires mais aussi sous la forme de coûts indirects. Ces-derniers sont en fait liés à plusieurs facteurs. Tout d'abord, une vache atteinte de mammite clinique ou subclinique présente toujours une diminution de sa production laitière. De plus, il y a aussi une perte du lait effectivement produit par la vache puisqu'un lait contaminé ou dans lequel sont présents des antibiotiques ne peut pas être valorisé dans la filière et doit être jeté. Il faut aussi prendre en compte la charge de travail associée à la gestion des mammites et la modification de la qualité du lait, par exemple avec des comptages cellulaires somatiques plus élevés, pouvant induire des malus sur la tarification du lait. Enfin, les mammites peuvent mener à la réforme des animaux atteints et induire encore une fois des pertes (191). Un modèle réalisé en 2008 estimait les pertes associées à une mammite clinique dans un élevage néerlandais moyen entre 164€ et 235€ pour une moyenne de 210€. Le coût global des mammites dans un tel élevage s'échelonne alors entre 65€ et 182€ par vache et par an (195). En 2015, une étude estimait le coût d'une mammite lors des 30 premiers jours de lactation à 444\$ pour les producteurs américains (193).

Les mammites sont donc des infections multifactorielles pouvant être liées à divers agents pathogènes et sont des affections ayant un réel impact économique dans le cadre de la filière laitière en France et dans le monde. Concernant les résistances bactériennes aux antibiotiques, une étude publiée en 2018 estimait l'évolution de leur prévalence en France chez *S. uberis*, *E. coli* et les staphylocoques coagulase positifs entre 2006 et 2016. Si pour *Streptococcus uberis*, l'exemple le plus frappant concernait la résistance à la tétracycline qui a augmenté de 15.7% à 20.4% entre 2006 et 2016, il faut toutefois noter que les niveaux de résistances aux autres antibiotiques étaient faibles et souvent inférieurs à 5%. Néanmoins, la résistance à l'enrofloxacin était évaluée à 32.9% des cas. Concernant *E. coli* et les staphylocoques, la plus haute prévalence concernait la résistance aux β -lactamines avec 28.1% des souches de *E. coli* résistantes à l'amoxicilline et 33.9% des staphylocoques coagulase positifs résistants à la pénicilline. Les pourcentages de bactéries multirésistantes, c'est-à-dire résistantes à au moins 3 antibiotiques ont été mesurés à 2.4% pour les staphylocoques et à 9.9% pour *S. uberis*. Cette étude montre que, pour le moment, la tendance globale des agents pathogènes responsables de mammites n'est pas à l'évolution vers une multi-antibiorésistance marquée pouvant conduire à des échecs thérapeutiques (196). Toutefois, des alternatives aux antibiotiques sont recherchées dans le milieu des productions animales et l'application de la phagothérapie aux mammites est un des axes de

recherche quant à l'usage de ces virus en médecine bovine. Du fait de la spécificité caractérisant les bactériophages, il n'est pas possible de considérer les mammites bovines comme une seule entité pathologique mais il faut distinguer les applications de la phagothérapie selon l'agent étiologique responsable.

Une des premières indications étudiées concerne les mammites causées par *Staphylococcus aureus*. Dès les années 1980, le phage K, un phage connu depuis les années 1930 (197) et capable de lyser *S. aureus*, fut employé pour traiter les mammites avec des résultats décevants (198). *In vitro*, il montre pourtant une bonne activité lytique contre les staphylocoques dont des *S. aureus* isolés à partir de mammites bovines (197). Une étude publiée en 2006 par Gill *et al* s'intéressait malgré tout au traitement des mammites subcliniques à *S. aureus* avec ce phage (199). Les recherches étaient menées sur 24 Prim'Holstein sur sept sites différents et les vaches sélectionnées selon leurs comptages cellulaires somatiques et la présence d'un historique de mammites à *S. aureus*. Chaque vache subissait deux prélèvements de lait respectivement à quatorze et cinq jours avant le traitement pour vérifier la présence de *S. aureus*. L'attribution des 24 animaux à un groupe placebo ou au groupe traité par les phages était randomisée. Chaque vache du groupe phagothérapie recevait une administration intramammaire d'une suspension de phage à 1.25×10^{10} PFU/ml par jour pendant cinq jours. Les vaches du groupe placebo recevaient quant à elles une solution saline. L'administration du traitement était menée en aveugle. Les chercheurs évaluèrent l'efficacité du traitement en se basant sur la guérison bactériologique ou sur la réduction du nombre de *S. aureus*. Sur les 18 quartiers traités par des phages, seuls trois présentaient une guérison bactériologique soit 16.7%. Il n'y avait pas de différence significative avec le groupe placebo. De la même manière, les comptages bactériens n'étaient pas significativement différents entre les deux groupes (199). De plus, l'administration de la solution de phage K à une mamelle saine faisait fortement augmenter les comptages cellulaires somatiques en les multipliant jusqu'à un facteur 1000. Même après traitement, les chercheurs ne rapportaient pas de bactéries résistantes au phage K. Lors de cette étude, la phagothérapie s'est donc montrée inefficace dans le traitement des mammites à *S. aureus*. Elle entraîne aussi une réponse inflammatoire de la mamelle (199). Cet échec peut trouver son origine dans le fait que les protéines du lactosérum empêchent les interactions entre le phage K et son hôte bactérien. Des protéines du petit lait adhèrent à la surface de la cellule bactérienne ou la modifient ce qui empêche le processus d'adhésion du bactériophage (200). La multiplication de ce phage est inhibée dans le lait cru alors que le phage K parvient à détruire les populations de *S. aureus* dans du lait ayant subi des traitements thermiques. En particulier, dans du lactosérum traité thermiquement, les populations de staphylocoques deviennent indétectables deux heures après l'ajout de phage K (201). Les résultats décevants de cette étude ne signèrent pas la fin des recherches concernant l'usage de la phagothérapie contre les mammites à staphylocoques. De nombreux phages potentiellement utiles dans la lutte contre ces infections ont depuis été isolés (193). Par exemple, en 2013, 10 phages lytiques capables d'infecter des *S. aureus* responsables de mammites furent isolés à partir d'eaux usées au Brésil (202). En 2018, deux phages lytiques furent isolés en Inde à partir d'eaux

usées et à partir de lait produit par une mamelle atteinte de mammite (203). Ces études ne considéraient cependant pas l'activité lytique des phages isolés dans le lait cru. Finalement, une étude publiée en 2020 s'intéressa aux capacités de phages strictement lytiques à l'encontre de souches de *S. aureus* isolées à partir de lait et à l'activité de ces phages dans le lait entier non traité (204). Les trois phages étudiés sont les virus STA1.ST29, EB1.ST11, et EB1.ST27. Sur 92 souches bactériennes testées, 34.8% ne pouvaient pas être lysées par au moins un de ces trois phages. Ces phages présentant toutefois un spectre d'hôte assez large, les auteurs en tirèrent une préparation à utiliser dans le lait. Dans le lait pasteurisé, 1mL d'une préparation concentrée à 1.20×10^9 PFU/ml permettait une réduction de 95.5% à 99.9% des populations bactériennes après 8 heures. En comparaison des cultures non traitées, les populations étaient 99.8% et 100% inférieures. Dans le lait cru, le même protocole permettait une réduction allant de 80.5% à 86.6% après huit heures (204). Cette étude est donc encourageante dans la recherche de phages potentiellement utilisables pour traiter des mammites à Staphylocoques. Les principales études concernant les phages de *Staphylococcus aureus* et leur implication dans le traitement des mammites bovines est résumé dans le tableau IV.

Tableau IV – Principales études menées concernant la phagothérapie des mammites bovines à *Staphylococcus aureus*

Phagothérapie des mammites bovines							
Référence	O'Flaherty <i>et al</i> (197) - 2004	Gill <i>et al</i> (199) - 2006	Gill <i>et al</i> (200) - 2006	O'Flaherty <i>et al</i> (201) - 2005	Dias <i>et al</i> (202) - 2013	Ganaie <i>et al</i> (203) - 2018	Titze <i>et al</i> (204) - 2020
Type d'étude	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i> + placebo	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>
Bactérie(s) ciblée(s)	<i>S. aureus</i> <i>S. spp</i> Coag-bovins	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
Phage(s) utilisé(s)	Phage K (<i>Myoviridae</i>)	Phage K (<i>Myoviridae</i>)	Phage K (<i>Myoviridae</i>)	Phage K (<i>Myoviridae</i>)	10 phages (<i>Myoviridae</i>)	SAJK- IND (<i>Myoviridae</i>) MSP (<i>Podoviridae</i>)	STA1.ST29 (<i>Myoviridae</i>) EB1.ST11 (<i>Podoviridae</i>) EB1.ST27 (<i>Podoviridae</i>)
Caractérisation	Lytique	Lytique	Lytique	Lytique	Lytiques	Lytiques	Lytiques
Animaux et groupes formés		24 vaches de race Prim'holstein souffrant de mammite					
Protocole expérimental	44 souches de <i>S. aureus</i> dont 4 issues de mammites bovines et 8 <i>Staphylococcus</i> CN bovines	Intramammaire de 1.25×10^{11} PFU ou 10mL de NaCl SID pdt 5 jours	Etude de la liaison phage-bactérie dans le lait cru	Comparaison de la liaison phage-bactérie dans le lait chauffé et dans le lait cru	Isolement de <i>S. aureus</i> depuis du lait de vaches à mammites Isolement de phages depuis des eaux usées	Phages exposés à 120 souches de <i>S. aureus</i> responsables de mammites	Exposition à 92 souches de <i>S. aureus</i> isolés de mammites puis étude de l'activité dans le lait thermisé puis le lait cru
Résultats	Lyse de toutes les bactéries d'origine bovine. Lyse de la plupart des MRSA humains	Guérison non significative Inflammation de la mamelle	Inhibition de la liaison phage-bactérie	Le lait cru inhibe la liaison phage K-bactérie. Absence d'inhibition si le lait est traité thermiquement	10 nouveaux phages lysant <i>S. aureus</i> isolés	Activité lytique de 100% de SAJK-IND et de 40% pour MPS	65,2% des souches lysées par au moins un phage. Réduction des populations bactériennes dans le lait cru de 80 à 86% par rapport au témoin

Ce tableau résume les principales données issues de l'étude de la bibliographie concernant l'usage de la phagothérapie dans la lutte contre les mammites à *Staphylococcus aureus*. Les phages utilisés, le protocole et les résultats sont exposés. Si l'inhibition de l'action du phage K par le lait cru est un élément justifiant la nécessité d'une bonne caractérisation des phages, de nouveaux phages découverts plus récemment sont aujourd'hui caractérisés et utilisables dans le lait cru.

Concernant les autres agents pathogènes impliqués dans la genèse des mammites infectieuses, il est notamment possible de citer la caractérisation d'un phage actif contre *Streptococcus agalactiae* (205). Ce phage, isolé à partir de lait de mammité était capable de lyser 65% des 43 souches de *Streptococcus agalactiae* étudiées. Concernant *E. coli*, une étude de 2013 parvint à montrer que des phages sont capable d'agir sur ces bactéries dans le lait entier non traité (206). En 2016, Porter *et al* fabriquèrent un cocktail de phages sélectionnés pour leur activité sur 36 souches d'*Escherichia coli* responsables de mammites. Ce cocktail parvint à arrêter ou limiter le développement de 21 des 36 souches considérées. Il permit aussi de limiter la croissance des bactéries dans le lait cru. Les bactériophages étaient capables de se fixer, de pénétrer et de lyser les bactéries. Cette étude prouve donc que l'environnement n'influence pas de la même manière les interactions entre les bactériophages et *Escherichia coli* et celles entre bactériophages et *Staphylococcus aureus*. Les chercheurs créèrent aussi un obturateur du canal du trayon à partir de bismuth et de bactériophages qui parvint lui aussi à inhiber la croissance des bactéries. Avant une utilisation sur le terrain, il conviendrait toutefois de vérifier si l'activité des bactériophages peut persister pendant toute la période du tarissement et si les bactériophages n'induisent pas de réponse inflammatoire dans la mamelle (207). Les points positifs et les limites des bactériophages dans le traitement des mammites à *S. aureus*, à *Streptococcus spp.* et à *E. coli* sont compilés dans le tableau V.

Tableau V – Points positifs et limites des bactériophages dans le traitement des mammites bovines

	Points positifs	Limites
Phages de <i>S. aureus</i>	Nombreux virus isolés Bonne activité <i>in vitro</i> Spectre large	Inhibition par les protéines du lait possible d'où la nécessité d'une caractérisation poussée Réponse inflammatoire possible
Phages de <i>Streptococcus</i>	Spectre relativement large	Nécessité d'isoler plus de phages
Phages de <i>E. coli</i>	Plusieurs phages isolés Phages actifs dans le lait cru Peuvent être intégrés dans des obturateurs	Caractérisation insuffisante à l'heure actuelle Statut inflammatoire de la mamelle après utilisation inconnu

A partir de la caractérisation des bactériophages se sont aussi développées les recherches concernant l'usage des enzymes des bactériophages dans la lutte contre les mammites. L'enzyme phi11 produite par des bactériophages spécifiques de *S.aureus* est ainsi active contre cette bactérie et les staphylocoques à coagulase négative. L'activité lytique persiste au pH de 6.7 du lait et sur une large échelle de concentration en calcium (208). En 2012, Schmelcher *et al* évaluèrent l'efficacité de deux endolysines chimériques construites à partir d'un domaine endopeptidase issu du phage SA12. Ce domaine était couplé à un domaine de liaison à la paroi cellulaire choisi parmi celui de deux endolysines différentes. Ces deux protéines furent testées sur 16 souches de *S.aureus* dont 15 isolées à partir de mammites bovines. Toutes les souches étaient sensibles à l'action des endolysines. Les deux enzymes étaient aussi actives dans le lait de vache. Une des deux enzymes permettait ainsi une

réduction des comptages bactériens d'un facteur 1000 tandis que l'autre ne les diminuait que d'un facteur 10 après trois heures d'incubation (209). Une étude de 2017 montrait que l'endolysine LysK Δ amidase lysait 137 souches de *S.aureus* impliquées dans des infections humaines ou dans des mammites bovines (210). Concernant *Streptococcus uberis*, un des principaux agents de mammites, plusieurs études rapportent la caractérisation et l'usage d'endolysines. Ainsi, les endolysines des phages SA2 et B30 peuvent lyser *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* et *Streptococcus dysgalactiae* dans du lait entier. Elles présentent de plus une action synergique lorsqu'elles sont utilisées de concert (211). Une autre étude porta sur les enzymes PlySs2 et PlySs9. Ces deux endolysines sont dérivées de prophages localisés dans le génome de *Streptococcus suis*. PlySs2 présente un large spectre anti-streptocoques tandis que PlySs9 possède une composition très proche d'endolysines capables de lyser *Streptococcus dysgalactiae*. Ces deux enzymes se sont révélées capables de lyser plusieurs souches de *Streptococcus uberis* isolées à partir de lait infecté collecté dans des fermes laitières belges (212). Toutes ces recherches sur les endolysines nécessitent d'être complétées par des études *in vivo* mais semblent indiquer que les endolysines pourraient être utilisées un jour comme antibactérien dans le cadre des mammites bovines.

2- LES DIARRHEES NEONATALES A *E. COLI*

Les diarrhées néonatales sont des infections d'importance majeure en médecine vétérinaire bovine puisqu'elles sont les maladies les plus rencontrées chez les veaux de moins de trente jours (213, 214). Aux Etats-Unis d'Amérique, les diarrhées sont impliquées dans 57% des décès de veaux non sevrés (215). Elles représentent de grandes pertes économiques pour les éleveurs à travers la prise en charge médicale de l'animal mais aussi à travers le travail nécessaire pour les soins et une diminution de la vitesse de croissance (215). A ceci s'ajoute aussi la mortalité des animaux dont les conséquences sont encore plus graves économiquement, en particulier lorsqu'il s'agit d'un individu destiné au renouvellement du troupeau. Aux Etats-Unis, l'université du Wisconsin estime ainsi le coût d'élevage d'une génisse de renouvellement entre 1200 et 1600\$. Ce dernier est toutefois inférieur à celui lié à l'achat d'un tel animal (214). Les diarrhées du veau ont plusieurs agents étiologiques possibles s'exprimant à différents âges et pouvant agir en co-infection. Les principaux agents sont les *Escherichia coli*, les rotavirus, les coronavirus et les cryptosporidies (215).

Dans la suite de cette étude nous nous intéresserons plus particulièrement aux *Escherichia coli*. Plusieurs souches de cette bactérie peuvent entraîner des diarrhées chez les veaux. Les souches entérotoxigènes ou ETEC sont ainsi le principal groupe d'agents étiologiques responsables des diarrhées chez les veaux de moins de quatre jours. Ces bactéries possèdent la capacité de produire une toxine thermostable responsable des signes cliniques et ont des fimbriae leur permettant de s'attacher à l'épithélium intestinal. Parmi les principaux antigènes permettant de caractériser ces souches, nous pouvons citer l'antigène K99 (ou F5) et l'antigène F41 (213). Une fois arrivées au contact de l'épithélium, les ETEC le colonisent et

sécrètent la toxine thermostable qui est responsable d'une diarrhée sécrétoire. Le traitement de ces affections passe principalement par une réhydratation de l'animal et la compensation des pertes en électrolytes par voie orale ou intra-veineuse, du nursing et par l'administration d'antibiotiques permettant de détruire l'agent étiologique (213). Le potentiel intérêt de la phagothérapie réside dans ce dernier point.

Dans les années 1980, Smith et Huggins furent les premiers à s'intéresser à l'usage de la phagothérapie pour lutter contre les ETEC chez les veaux mais aussi chez les porcelets et les agneaux (216). Ils avaient, dans une première étude, démontré que des phages pouvaient protéger des souris plus efficacement que la plupart des antibiotiques dans un modèle de méningite et cherchaient donc à élargir leur travail. Ils étudièrent alors les propriétés des phages dans le tube digestif pour voir s'ils peuvent protéger diverses espèces animales d'infections par des ETEC. Chez les veaux, ils examinèrent en particulier deux souches bactériennes portant les antigènes K99. Une inoculation de ces souches par voie orale chez des veaux de moins de 24 heures générait une diarrhée mortelle la plupart du temps. Ils parvinrent à isoler trois phages, B44/1, B44/2 et B44/3 à partir d'eaux usées. Les phages B44/2 et B44/3 se révélèrent capables de lyser des souches de *E.coli* résistantes au phage B44/1. B44/3 présentait de meilleures capacités lytiques que B44/2 *in vitro*. Les chercheurs utilisèrent alors un cocktail formé de 10^{11} particules de B44/1 et de B44/2. Ils inoculèrent les animaux avec 3.10^9 CFU de *E.coli* par voie orale. Parmi les 22 animaux n'ayant pas reçu de bactériophages après l'inoculation, 21 présentèrent une diarrhée conduisant à leur mort, qu'ils aient reçu du colostrum ou non. Le cocktail formé par les phages B44/1 et B44/2 parvint à protéger des animaux privés de colostrum lorsqu'il était administré 1h après l'inoculation des bactéries. Chez des animaux ayant reçu du colostrum, il était efficace lorsqu'administré jusqu'à 8h après le challenge bactérien (216). Lorsque le cocktail était administré au début des symptômes, 66% des veaux décédaient. Les chercheurs modifièrent alors leur cocktail pour intégrer le virus B44/3 à la place de B44/2 et cette fois, la préparation diminuait drastiquement le nombre d'animaux mourant, passant de 66% des veaux à 15%. De plus, l'administration de phages réduisait le nombre de bactéries B44 présentes dans le tube digestif des animaux traités, parfois d'un facteur 1000 (216, 217).

En 1987, Smith *et al* poursuivirent leurs investigations et isolèrent sept phages actifs contre six sérotypes de *E. coli* entérotoxigènes (218). Ils souhaitaient démontrer l'intérêt des bactériophages dans la prophylaxie des diarrhées néonatales chez le veau. Lors d'infection par ces souches bactériennes, les veaux développaient une diarrhée dans les 12 à 24 heures suivant l'inoculation. Les auteurs parvinrent à protéger des veaux en administrant des doses de 10^5 PFU par voie orale au moment du début des symptômes. L'administration de phages simultanément avec l'alimentation lactée ne posait pas de problèmes. Dans cette étude, ils placèrent aussi des veaux dans des parcs ayant contenu des animaux infectés par *E. coli* B41 puis traités avec le phage B41/1. Les nouveaux veaux étaient placés trois heures dans le parc non nettoyé puis recevaient une inoculation de *E. coli* B41. Sur 8 veaux, dont le dernier fut placé dans le parc 71 jours après le dernier animal traité par des phages, seul 1, soit 12,5%,

présenta une diarrhée modérée. Dans le groupe témoin, les animaux non traités mourraient dans 90% des cas. Des phages B41/1 furent mis en évidence dans les fèces des 8 veaux. Ceci montre une protection des veaux par des phages présents dans l'environnement direct de ces derniers et une infection par les phages environnementaux. A l'instar de ceci, l'aspersion de phages sur la litière des veaux les protégeait aussi des infections. Des bactéries mutantes apparurent au cours de l'étude. Lorsque les infections étaient dues à une seule souche de *E. coli* ces mutants présentaient tous une perte de virulence par rapport à la souche sauvage. Pour les auteurs, ces souches n'étaient pas susceptibles de générer des atteintes graves chez des veaux ayant bien reçu leur colostrum. Lors d'infections à plusieurs souches d'*E. coli*, les mutants obtenus étaient aussi virulents que la souche sauvage dont ils dérivait. Une hypothèse qui pourrait permettre d'expliquer la conservation des facteurs de virulences serait l'existence d'échanges de matériel génétique entre les différentes souches. Toutefois, les auteurs parvinrent à obtenir des mutants des phages testés et estimèrent que si ce cas posait un véritable problème, une parade serait facilement trouvée (217, 218). Smith *et al* caractérisèrent aussi les facteurs influençant la survie et la multiplication des phages chez les veaux. La survie des phages est notamment impactée négativement par un pH gastrique trop faible. L'administration des phages avec le lait ou avec du carbonate de calcium permet d'améliorer leur survie et de rejoindre le reste du tube digestif (219).

Le principal problème des études de Smith réside dans l'absence de données précises permettant d'identifier les virus utilisés. En 2011, Bicalho tenta de montrer que des phages administrés par voie orale réduisent les comptages bactériens de *E. coli* fécaux chez des veaux dans une étude randomisée, en double aveugle avec placebo. Les veaux étaient âgés d'une semaine. Des veaux reçurent une solution de 10^6 pfu de quatre bactériophages ou un placebo matin et soir dans le lait pendant onze jours. Les quatre phages furent isolés à partir de fosses à lisier de fermes bovines et multipliés sur des souches de *E. coli* impliquées dans des métrites. Ce protocole permit une réduction non significative du nombre de CFU chez les veaux. Les auteurs expliquèrent ces résultats par une faible puissance statistique de leur étude limitée à 10 veaux et par le fait que les phages aient été propagés sur des souches bactériennes provenant de métrites. Cette étude permet toutefois de mettre en évidence la survie des bactériophages à travers les différents compartiments digestifs et l'absence d'effet secondaire (220). Le traitement des diarrhées néonatales nécessite donc des études complémentaires et la caractérisation précise des virus pouvant être utilisés. Par exemple, en 2015, une équipe indienne parvint à isoler un bactériophage de la famille des *Myoviridae* à partir d'échantillons de sol provenant d'une ferme et à le multiplier sur une souche *E. coli*. Le phage présenta une activité lytique sur 47,3% des 121 souches de *Escherichia coli* testées parmi lesquelles 3 ETEC. L'intérêt thérapeutique de ce phage à large spectre reste toutefois à être démontré dans des expériences *in vivo* (221).

L'intérêt des bactériophages dans le traitement des diarrhées néonatales a aussi été étudié en Pologne. Une étude de 2018 s'intéressa à des veaux âgés de 1 à 14 jours présentant de la diarrhée. Les veaux reçurent par voie intra rectale un mélange de lactobacilles et de

bactériophages spécifiques de *E. coli* formulé en tant que suppositoires pendant 5 jours et leur état clinique était évalué sur 11 jours. Les auteurs rapportèrent une amélioration de l'état clinique et une résolution des diarrhées dans les 24 à 48 heures après le début du traitement. Toutefois, il faut modérer les résultats de cette étude par l'absence de groupe témoin traité par placebo et à cause du panel d'âge étudié qui, à l'échelle des diarrhées du veau, reste relativement large. De plus, les virus utilisés ne sont que succinctement caractérisés. Il est donc difficile de conclure si l'amélioration clinique est liée aux phages ou plus trivialement à l'évolution « naturelle » de la maladie (222).

Si les études de Smith *et al* suggèrent que les bactériophages puissent être des outils utiles pour la prophylaxie ou le traitement des diarrhées néonatales chez les veaux, il est encore nécessaire d'isoler, caractériser et stocker plus de souches virales permettant de lutter contre ces infections et de réaliser des études randomisées en double-aveugle afin d'évaluer leur réel intérêt thérapeutique et de déterminer les conditions de leur usage. De plus, les travaux de Smith laissent aussi imaginer des méthodes prophylactiques par aspersion de solutions de bactériophages dans l'environnement direct des veaux afin de réduire la contamination environnementale.

3- LES *E. COLI* O157/H7

Nous l'avons évoqué dans le paragraphe précédent, les bactériophages ont été envisagés comme traitement étiologique des diarrhées néonatales causées par *Escherichia coli*. Toutefois, l'importance de cette espèce bactérienne ne se limite pas aux bovins. En effet, certaines souches sont zoonotiques et représentent un danger sanitaire pour les populations humaines. En particulier, l'OMS a estimé en 2014 que les *E. coli* productrices de Shigatoxine, dites STEC, sont à l'origine de 2,8 millions de cas cliniques humains chaque année (223). Les STEC sont responsables d'affections pouvant s'exprimer sous la forme de diarrhées ou de colites hémorragiques mais aussi sous la forme d'un syndrome urémique hémolytique et parfois conduire à la mort de l'individu (223). Les ruminants domestiques sont des réservoirs de STEC et notamment du sérotype O157/H7. Certains bovins sont même considérés comme des « super-réservoirs » ayant un impact considérable sur l'épidémiologie associée à cette bactérie (224, 225). Les animaux porteurs ne présentent aucun signe clinique et la bactérie peut persister pendant plusieurs mois. L'infection des humains se fait alors par l'intermédiaire d'aliments contaminés (226).

Le biocontrôle de ces bactéries relève donc d'un objectif de sécurité sanitaire. Cette notion s'applique à tous les pays, même aux pays développés avec d'importantes mesures de contrôle sanitaire tels que les USA, le Royaume-Uni ou la France (227) . Certaines solutions ont imaginé l'usage des bactériophages pour le contrôle des contaminations des populations bactériennes dans les aliments en transformation ou après le passage de l'animal à l'abattoir. D'autres méthodes consisteraient en la limitation, voire l'élimination, du portage et de

l'excrétion de ces bactéries pathogènes directement chez l'animal. Les bactériophages rejoindraient donc l'arsenal de maîtrise sanitaire en tant qu'outils biologiques. Nous étudierons cette seconde option appliquée aux bovins.

Plusieurs études ont considéré l'administration directe de bactériophages à des bovins en ciblant les populations de *E. coli* O157/H7. Avant tout, il est important de noter que la présence de bactériophages ciblant O157/H7 est rapportée naturellement au sein de troupeaux bovins et qu'elle tend à réduire la prévalence du portage de *E. coli* O157/H7. De plus, la matrice permettant d'isoler le plus facilement ces virus est le lisier (228). *In fine*, il existe une véritable dynamique écologique entre *E. coli* O157/H7 et ses bactériophages (227). Plusieurs études *in vitro* ont déjà rapporté de bonnes capacités lytiques des bactériophages isolés à partir de purin (229, 230). En 2006, Sheng *et al* explorèrent la capacité de deux bactériophages spécifiques de O157/H7 à réduire le portage de cette bactérie. Après des résultats décevants sur l'usage de la phagothérapie par voie orale chez des moutons mais la réussite d'une expérience visant à éliminer O157/H7 chez des souris infectées expérimentalement, ils se concentrèrent sur des bovins. Pour ce faire, ils infectaient 10 jeunes bovins avec 4 souches de O157/H7 par voie rectale puis, sept jours plus tard, 5 des animaux recevaient un cocktail de phages par voie intra-rectale pendant 4 jours. De plus, pendant toute la période de traitement, des phages à la concentration de 10^6 PFU/ml étaient ajoutés à l'eau de boisson de ces animaux. Cette méthode parvint à réduire significativement les comptages bactériens de *E. coli* O157/H7 par rapport au groupe témoin. Si les animaux témoins demeurèrent porteurs de ces bactéries pendant toute la durée de l'étude, seul un des animaux traités n'avait plus de O157/H7 détectable dans ces fèces (226). En 2008, Callaway *et al* isolèrent un phage lysant O157/H7 chez des bovins et étudièrent son intérêt chez des moutons servant de modèle de tube digestif bovin (231). Les moutons étaient gavés avec des solutions de phages 48 et 72 heures après une inoculation bactérienne. Les chercheurs montrèrent une réduction significative des comptages bactériens dans les fèces, au niveau du caecum et du rectum tandis qu'au niveau du rumen, la différence entre le groupe traité et le groupe témoin n'était pas significative. De plus, ils mirent en évidence que la réduction la plus importante se fait pour un ratio de PFU/CFU de 1/1 tandis qu'elle est moindre pour des ratios plus élevés tels que 10/1 ou 100/1. L'explication d'une telle observation réside probablement dans le phénomène de « lysis from without », entraînant la lyse de la bactérie sans que la multiplication des phages n'ait lieu (231). Toujours en 2008, une étude de Niu *et al* mit en évidence une diminution des comptages bactériens chez 113 animaux traités avec des bactériophages par rapport à un groupe témoin (232). Une fois de plus, il n'y avait pas élimination complète du portage. Dans le but de comparer la pertinence des traitements par voie orale ou voie rectale, Rozema *et al* suivirent l'excrétion fécale de *E. coli* O157/H7 sur 83 jours chez des groupes de bovins recevant une phagothérapie par voie orale, par voie rectale, cumulant les deux modalités ou n'en recevant pas (233). Malheureusement, la phagothérapie ne permit pas l'élimination du portage des bactéries et aucune différence significative ne fut mise en évidence, ni entre les différents groupes de traitement ni avec le groupe contrôle. Il faut cependant noter que les animaux du groupe contrôle émirent des phages dans leurs fèces

à partir du troisième jour après l'inoculation de *E.coli* indiquant une transmission des virus par l'environnement. Les niveaux de phages émis par le contrôle ont ensuite augmenté jusqu'à atteindre des niveaux similaires à ceux du groupe traité par voie rectale (233). En 2010, Rivas *et al* tentèrent d'utiliser des phages précédemment isolés pour réduire l'excrétion de *E.coli*. Si les essais *in vitro* donnèrent des résultats satisfaisants avec des virus réduisant rapidement et significativement les comptages bactériens, les essais *in vivo* le furent beaucoup moins. En effet, une fois de plus, aucune différence n'était visible entre le groupe témoin et le groupe des animaux traités par des bactériophages après inoculation expérimentale de *E. coli* (230).

Si plusieurs études montrent un effet de réduction de l'excrétion de *E. coli* O157/H7 grâce à la phagothérapie (226, 231, 232), d'autres ne permettent pas de mettre en évidence de différence significative avec les groupes témoins. Des études complémentaires sont nécessaires caractérisant les éléments essentiels intervenant dans la relation entre les bactériophages, les bactéries et l'animal hôte avant de statuer définitivement sur l'intérêt de la phagothérapie dans le biocontrôle des STEC chez l'animal vivant. De plus, il faut demeurer conscient des limites des études aux résultats les plus prometteurs. En effet, il semble difficilement envisageable d'appliquer en pratique des mesures telles que celles décrites par Sheng *et al* consistant en l'instillation intra-rectale, par l'intermédiaire d'une éponge et pendant plusieurs jours de suite, d'une solution de bactériophages (226). Sheng *et al* sont eux même assez sceptiques quant à la capacité de la phagothérapie d'éliminer totalement le portage de STEC car ce sont des bactéries commensales des ruminants et, de ce fait, la réponse immunitaire à leur encontre est très limitée. De plus, il faut déterminer si l'élément décisif dans leur étude est l'instillation intra rectale de virus ou leur administration dans l'eau de boisson. *In fine*, la recherche d'une réduction temporaire de l'excrétion juste avant le passage à l'abattoir serait potentiellement plus pertinente que la recherche d'un arrêt total du portage asymptomatique. Enfin, il faudra déterminer l'intérêt de la phagothérapie comparativement ou en combinaison avec d'autres mesures prophylactiques déjà évoquées comme la vaccination.

Points essentiels : La phagothérapie chez les bovins

- L'élevage des ruminants, et en particulier celui des bovins, représente une filière majeure du paysage agricole français. Contrairement à ce que nous pouvons observer chez les animaux de compagnie, la phagothérapie doit dans ce cas s'inscrire dans un contexte économique.
- Les principales affections dont un potentiel traitement par l'usage de bactériophages a été évalué sont des affections fréquentes et d'importance économique majeure : les mammites et les diarrhées néonatales.
- Les résultats décevants des premières études concernant le traitement intra-mammaire des mammites à *Staphylococcus aureus* lié à l'interaction entre le bactériophage et les protéines du lactosérum illustre parfaitement la nécessité d'une bonne caractérisation du virus considéré et de son activité dans un milieu proche de celui où il sera utilisé en traitement.
- Les études les plus récentes ont permis d'isoler de nombreux phages ciblant *S. aureus* et l'étude de *Titze et al* de 2020 présente des résultats *in vitro* prometteurs dans le lait cru (204). Cette dernière appelle ainsi à de nouvelles études *in vivo*.
- Des bactériophages actifs contre *S. agalactiae* et *E. coli* ont aussi été isolés (205,206). Des chercheurs ont mis au point un obturateur de trayon contenant des phages ciblant *E. coli*. Son intérêt *in vivo* reste toutefois à être étudié (207).
- Plusieurs endolysines d'intérêt ont été identifiées mais les recherches menées nécessitent d'être complétées par des études *in vivo*.
- Les études de *Smith et al* sont fondamentales quant à l'usage de la phagothérapie pour lutter contre les ETEC. Si les résultats sont encourageants, l'absence de caractérisation des phages utilisés demeure une limite (216,218,219).
- La modalité d'administration du traitement par voie orale est importante, le pH gastrique pouvant altérer les virus. L'administration conjointe avec du lait semble permettre un passage des virus dans le reste du tube digestif (219).
- Ces études suggèrent aussi une possibilité de protection des veaux par le traitement prophylactique de l'environnement et des litières (218).
- D'autres études sont difficilement exploitables à cause du large panel d'âge des veaux, l'absence de caractérisation des phages ou l'absence de groupe témoin ce qui rend l'interprétation hasardeuse en ce qui concerne ces affections (222).
- *E. coli* O157/H7 est un agent zoonotique important responsable d'infections graves chez l'être humain et commensal des ruminants. Il semble que la réduction de la quantité de bactéries O157/H7 excrétées par les animaux vivants soit possible grâce à la phagothérapie. Toutefois, si certaines études présentent des résultats prometteurs, il est nécessaire de considérer l'applicabilité des mesures employées en pratique agricole courante et les comparer à d'autres mesures prophylactiques envisagées telles que la vaccination (226-230).

L'usage de la phagothérapie chez les ruminants, et en particulier les bovins, reste actuellement pour sa majeure partie au stade expérimental. Si des résultats prometteurs sont obtenus, l'ensemble de ces études met en avant l'importance d'une bonne caractérisation du bactériophage employé ainsi que de la compréhension de la relation Bactériophage – Bactérie – Animal. Outre les utilisations citées ci-dessus, un emploi dans le traitement des métrites post-partum a aussi été envisagé mais les résultats des premières expériences *in vivo* sont décevants. Une administration prophylactique pré-partum d'un cocktail ciblant *E. coli* augmente significativement les risques de métrite et de rétention placentaire (234).

C- LA PHAGOTHERAPIE CHEZ LES PORCINS

La viande porcine est la viande la plus consommée en France avec 33 kg consommés par an et par habitant. En 2018, l'élevage porcin français représente 13,7 millions de têtes principalement concentrées dans les régions Bretagne et Pays-de-la-Loire (189). Au sein de l'Union Européenne, la France est le troisième pays producteur de viande porcine derrière l'Allemagne et l'Espagne. Toutefois, les exploitants français subissent la concurrence de grands centres de production tels que la Chine, les Etats-Unis, le Brésil ou le Vietnam. Le prix du porc connaît une variation cyclique dépendant de facteurs saisonniers mais aussi de la quantité de porcs produits. Des facteurs exceptionnels, tels que l'épidémie de peste porcine africaine ayant affecté la Chine, influent aussi sur le marché (235). La place de la médecine vétérinaire s'inscrit donc dans un contexte économique particulièrement concurrentiel et s'articule autour de la maîtrise de pathologies de troupeau.

Pendant de nombreuses années, les antibiotiques ont été utilisés en routine dans l'élevage porcin. Le but de leur utilisation en tant que promoteurs de croissance, et souvent à des doses sub-thérapeutiques, était d'obtenir un meilleur gain moyen quotidien, une meilleure valorisation de l'alimentation associée à un meilleur indice de consommation ainsi qu'une réduction de la mortalité (236). En 1998, un rapport de la commission interministérielle et interprofessionnelle sur l'alimentation animale révélait que 98% des porcelets et 70% des porcs à l'engraissement recevaient un aliment complété en antibiotiques (237). La plus grande sensibilisation des consommateurs à la présence de résidus d'antibiotiques dans la viande et la perspective de multiplication et surtout de diffusion des phénomènes d'antibiorésistance à partir des élevages a conduit l'Union Européenne à légiférer. Ainsi, en 1999, le nombre d'antibiotiques autorisés pour un usage prophylactique chez les porcins a été réduit à quatre et en 2006, une interdiction totale a été prononcée (236). La Chine a aussi banni l'usage des antibiotiques dans l'alimentation des porcs depuis 2020 (238). Depuis ces interdictions et les plans EcoAntibio, la consommation d'antibiotiques par la filière porcine n'a fait que diminuer. En France, en 2020, les ventes d'antibiotiques destinés aux porcs sont estimées à 133,06 tonnes. Rapporté à la biomasse totale des porcs, cela représente 47,10 milligrammes d'antibiotique par kilogramme de porc. A titre de comparaison, la masse vendue d'antibiotiques rapportée à la biomasse est estimée à 13,42 mg/kg chez les bovins, 114,15 mg/kg chez les chiens et chats et 390,02 mg/kg chez les lapins. D'après un rapport de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), l'exposition des porcs aux antibiotiques a diminué de 55,5% depuis 2011 (239). Dès lors, et en association avec une volonté globale de recherches d'alternative aux antibiotiques, de nouveaux outils ont été étudiés parmi lesquels se trouvent les peptides antimicrobiens, des composés minéraux, des probiotiques et prébiotiques ou la phagothérapie.

Parmi les bactéries contre lesquelles l'usage de la phagothérapie a été évoqué, nous étudierons notamment les *Salmonella*, *Escherichia coli* et les bactéries responsables du complexe de la rhinite atrophique du porc. Nous étudierons aussi l'usage des bactériophages en tant que promoteurs de croissance.

1- INFECTIONS DES PORCS PAR *E. COLI*

Escherichia coli est une bactérie d'une grande importance en pathologie porcine en particulier comme agent étiologique de diarrhées post-sevrage chez les porcelets. Il s'agit, à l'image des diarrhées néonatales du veau, le plus souvent de bactéries ETEC qui s'attachent aux entérocytes et synthétisent une toxine responsable des signes cliniques. Des diarrhées de différents degrés de sévérité et pouvant parfois conduire à la mort de l'animal sont rapportées (240). Des morts subites peuvent aussi être observées. Plusieurs facteurs favorisent l'apparition de cette maladie comme le stress associé au sevrage ou le changement alimentaire. Les antigènes les plus fréquemment rencontrés lors d'infection par les ETEC sont portés par les *fimbriae* F18 et F4 qui permettent l'adhésion de la bactérie à l'entérocyte. Les conséquences de ces affections sont économiquement importantes puisqu'elles induisent de la mortalité et une diminution du gain moyen quotidien, ou GMQ, chez les porcelets. L'usage prophylactique des antibiotiques visait en partie à lutter contre ces affections (240). Or, l'antibioprophylaxie favorise l'augmentation de la prévalence des résistances. Ainsi, en 2003, une étude menée en Europe de l'Est montra une augmentation significative de la résistance au ceftiofur dans les élevages où une antibioprophylaxie était réalisée (241). D'autres méthodes de prévention sont donc utilisées, comme l'emploi d'oxyde de zinc dans la ration, ou bien envisagées, comme la phagothérapie.

A l'instar de la médecine bovine, le renouveau de l'intérêt pour la phagothérapie chez les porcs est incarné par les études de Smith et Huggins publiées en 1983 (216). Dans la même publication que celle dédiée aux veaux et aux agneaux, les deux chercheurs se consacrèrent aussi aux porcelets. Pour cela, ils étudièrent l'effet de deux bactériophages, P433/1 et P433/2, sur des porcelets infectés par la souche P433 de *E. coli*. Des études *in vitro* révélèrent que, tandis que le phage P433/1 lysait la souche P433, le phage P433/2 était inactif sur cette dernière mais pouvait lyser des souches mutées et résistantes au premier phage. Les expériences *in vivo* étaient réalisées sur une population de 14 porcelets n'ayant pas de reçu de colostrum. Les porcelets étaient infectés 6 heures après leur naissance avec 3.10^8 CFU de *E. coli* P433 puis recevaient 10^{10} PFU de chaque bactériophage dès les premiers symptômes de diarrhée. Sur les 7 porcelets non traités, 4 moururent et les 3 autres présentèrent de sévères signes généraux. Les morts présentaient tous des signes de sévère déshydratation tandis que les survivants montraient surtout de l'ataxie et une altération du statut mental. D'après les auteurs, ils seraient tous morts si une réhydratation par voie orale via un sondage gastrique n'avait pas été mise en place. Au contraire, les 7 porcelets traités survécurent et ne présentèrent qu'une diarrhée rapidement maîtrisée sans aucun autre symptôme ni

aggravation. Les comptages bactériens dans les fèces diminuaient rapidement et fortement chez les porcelets traités. Des souches mutées, résistantes à P433/1, furent trouvées dans les fèces à partir de 8h après le traitement mais leur nombre resta bas. Les auteurs essayèrent aussi de n'employer que le phage P433/1 pour traiter la diarrhée. Les 2 porcelets traités survécurent (216). Ces travaux sont encourageants puisqu'ils semblent montrer la capacité de la phagothérapie à juguler les diarrhées néonatales mais présentent des limites, notamment à cause de l'absence de caractérisation des phages utilisés. De plus, l'intérêt de la phagothérapie face aux infections néonatales à ETEC est aujourd'hui moindre grâce au développement de vaccins à administrer aux truies gestantes (242). Si ces travaux font office de précurseurs et ouvrent la voie à d'autres travaux, les résultats nécessitent un approfondissement pour déterminer si des protocoles similaires seraient applicables aux diarrhées du sevrage chez des porcelets plus âgés.

En 2007, des chercheurs canadiens isolèrent et caractérisèrent neuf bactériophages capables de lyser 10 souches de *E. coli* O149, bactérie impliquée dans la majorité des diarrhées du post-sevrage chez les porcelets dans de nombreux pays. Ces bactériophages furent isolés à partir des eaux usées d'élevages porcins et considérés comme des candidats potentiels pour la prophylaxie et le traitement des diarrhées du post-sevrage dues aux ETEC O149 (243). L'année suivante, la même équipe tenta de déterminer l'efficacité de ces phages, de manière individuelle et en cocktail, pour traiter des diarrhées induites expérimentalement par la souche O149 : H10 : F4 de *E. coli* (244). Sept des phages caractérisés dans la précédente étude furent employés. Plusieurs expériences furent réalisées sur un échantillon de 101 porcs sevrés à trois semaines d'âge. Les premiers travaux étudièrent un effet « prophylactique » en administrant des bactériophages 15 minutes après inoculation par voie per os de 10^{10} CFU de *E. coli*. Lorsqu'utilisés individuellement, à la dose de 10^{10} PFU, six des sept phages donnèrent des résultats significativement différents des témoins infectés mais non traités. La sévérité de la diarrhée était moindre, et la variation de masse corporelle plus favorable chez les porcs ayant reçu ces bactériophages. De plus, les phages 1, 2 et 5 permirent une réduction de la durée de la diarrhée. L'efficacité d'un cocktail formé par les phages 1, 2 et 7, à la dose de 10^9 PFU chacun, fut aussi évaluée. Il permit une réduction de la durée et de la sévérité de la diarrhée. Dans un second temps, les chercheurs étudièrent l'efficacité thérapeutique de tels bactériophages en traitant les animaux 24 heures après l'inoculation ce qui correspond au début de la diarrhée. Avant traitement, les diarrhées étaient équivalentes entre le groupe témoin et le groupe devant recevoir un traitement. Certains animaux recevaient alors un cocktail des phages 1 et 6 à 10^8 PFU chacun, trois fois à six heures d'intervalle. Ce protocole permit une amélioration du gain moyen de masse, une durée de la diarrhée significativement moindre et une moindre sévérité de la diarrhée. Les populations de *E. coli* commensales n'étaient pas affectées par le traitement. Les résultats de cette étude montrent donc une réduction de la durée et de la sévérité des diarrhées grâce aux bactériophages tout en limitant la perte de poids associée aux épisodes diarrhéiques. Ceci permet d'entrevoir un usage prophylactique ou thérapeutique de certains bactériophages pour lutter contre une des souches de *E. coli* les plus souvent impliquées dans les diarrhées du sevrage (244).

En 2012, une étude montra que l'administration d'un phage lytique pulvérisé sur l'aliment permet aux porcs une meilleure résistance à l'infection à la suite d'une inoculation par voie orale. Les épisodes diarrhéiques se révélèrent moins sévères et moins longs. L'usage des bactériophages par pulvérisation sur l'alimentation apparaîtrait donc comme un moyen permettant une administration à grande échelle du traitement (245). Les recherches sur les phages sont aujourd'hui complétées par le séquençage complet du génome de virus infectant des ETEC afin de caractériser leur potentiel lytique ou bien leur capacité de lysogénie (246).

2- INFECTIONS PAR *SALMONELLA SPP.*

L'importance et l'expression clinique des *Salmonella* au sein de l'élevage porcin a considérablement changé au cours des 60 dernières années. Dans les années 1960, les épidémies causées par *Salmonella enterica* Cholerasuis présentaient une forte mortalité et morbidité à tel point que la maladie pouvait être confondue avec la peste porcine classique. L'évolution des méthodes et des conditions d'élevage ont rendu ces épisodes très rares et aujourd'hui l'infection par les différents serovars de *S. enterica* est majoritairement subclinique. Toutefois, les *Salmonella* peuvent être responsables de septicémies chez les porcelets de moins de 4 mois, d'entérites aiguës chez les adultes ou d'entérites chroniques. L'expression aiguë de l'affection représente un coût non négligeable pour l'éleveur du fait des soins vétérinaires et de la mortalité induite mais une infection subclinique présente aussi une importance économique. En effet, en cas d'infection subclinique, les paramètres zootechniques tels que le gain moyen quotidien et l'indice de consommation sont moins bons. De plus, les *Salmonella* sont des bactéries zoonotiques d'importance majeure puisqu'elles sont responsables de toxi-infections alimentaires. Les animaux en sont réservoirs et les porcs infectés à la ferme sont une source de contamination de la chaîne et des autres carcasses dans les abattoirs (247). La maîtrise des *Salmonella* présente donc le double objectif de protéger les animaux et de réduire le risque zoonotique. Il faut souligner l'existence de résistances aux antibiotiques chez les salmonelles et notamment aux sulfamides, au chloramphénicol ou aux aminopénicillines (248).

Plusieurs études ont considéré l'usage de la phagothérapie pour empêcher l'infection des porcs par les salmonelles ou pour réduire leur contamination. En 2000, Harris *et al* utilisèrent un cocktail composé de 26 phages spécifiques des *Salmonella* pour empêcher la dissémination de *S. Typhimurium*. Des porcelets de trois semaines étaient infectés expérimentalement avec la bactérie par voie intranasale. Ils mesurèrent les quantités de salmonelles trois heures après infection dans les tonsilles, le foie, la rate les nœuds lymphatiques et le caecum. Cette étude montra que les salmonelles peuvent diffuser rapidement chez les porcelets et être retrouvées dans la plupart des organes quelques heures après pénétration dans l'organisme. Dans ce cas, l'utilisation du cocktail de phage ne permit pas une réduction significative de la contamination des porcelets. Toutefois, les auteurs

caractérisèrent un phage, le phage Felix O1, qu'ils estimèrent pouvoir être utile pour lutter contre les salmonelles du porc. Ils répétèrent donc leur protocole avec ce phage et parvinrent à réduire significativement les comptages bactériens des échantillons prélevés sur les amygdales et dans le caecum sans toutefois éliminer totalement les bactéries (249). L'année suivante, l'étude du phage Felix O1 fut poursuivie. De nouveau, des porcelets de 3 semaines étaient infectés avec *S. Typhimurium* par voie intranasale. Trois heures après, les porcelets subissaient une injection intramusculaire de 2.10^{10} PFU.mL⁻¹ de Félix O1 associée à une prise *per os*. Les porcelets étaient sacrifiés et les salmonelles, présentes dans les différents tissus, quantifiées. Une fois encore, *Salmonella* Typhimurium se propageait en quelques heures aux divers tissus de l'organisme des porcelets. Ce phénomène peut être responsable d'une contamination massive de la carcasse, notamment avant le passage à l'abattoir, justifiant la recherche de mesures de contrôle. L'administration de la solution de virus permit une réduction significative du nombre de *Salmonella* au niveau des principaux sites de portage, dont le caecum et les amygdales, sans élimination totale du portage bactérien (250). Les travaux de Harris *et al* montrent donc que la contamination massive des porcs par *Salmonella* peut être rapide, les bactéries disséminant dans les organes en quelques heures. Ils illustrent aussi que l'action des produits à base de bactériophages est variable selon leur composition. L'utilisation du phage Felix O1 pour maîtriser la contamination des porcs avant leur passage à l'abattoir pourrait être un moyen de réduire les risques de zoonose d'origine alimentaire.

En 2010, Wall *et al* évaluèrent l'utilité de la phagothérapie pour limiter la contamination des porcs par les *Salmonella* avant leur passage à l'abattoir. Ils créèrent un cocktail à partir de 14 phages isolés dans des eaux usées et de Félix O1. Des porcelets de trois semaines étaient inoculés avec *Salmonella* Typhimurium et recevaient simultanément le cocktail ou un placebo. Six heures après l'inoculation, les porcs étaient euthanasiés. Le comptage bactérien des *Salmonella* trouvées au niveau de l'iléon et au niveau des amygdales était inférieur chez les porcs traités. La réduction du nombre de *Salmonella* s'élevait à 99 % au niveau de l'iléon et à 99.9% au niveau des amygdales. Toutefois, aucune comparaison statistique de ces résultats n'a été réalisée. Après les premiers résultats encourageants de ce premier essai, Wall *et al* infectèrent expérimentalement quatre porcs adultes qu'ils laissèrent 48h dans un enclos. Ils placèrent alors 16 autres porcs dans cet enclos sans qu'il n'ait été nettoyé entre temps. Parmi ces porcs, la moitié reçut trois fois le cocktail, toutes les deux heures pendant six heures, tandis que les autres reçurent un placebo. Le but était ici de déterminer si le traitement pouvait protéger les porcs d'une contamination environnementale similaire à celle qui peut arriver lors du transport des porcs vers l'abattoir ou lors de leur attente en porcherie avant l'abattage. Les prélèvements réalisés dans le lisier présent avant introduction des 16 porcs naïfs montrèrent l'excrétion des salmonelles dans le milieu. La phagothérapie permit une réduction significative du nombre de salmonelles dans le caecum de 95%. Au niveau de l'iléon, la différence n'est pas significative. Cette étude est la première menée sur des porcs prêts à être abattus. La phagothérapie apparaît ici comme un moyen de réduire la contamination des porcs par *Salmonella* même si les résultats sont moins satisfaisants chez les porcs que chez les porcelets. Les auteurs s'orientent vers une différence

de la flore et de la physiologie des tubes digestifs pour expliquer ce phénomène. Cette étude laisse toutefois plusieurs points à élucider comme la possibilité d'utiliser un tel cocktail par l'intermédiaire de l'alimentation ou de l'eau de boisson ou la conservation de son activité sur une période de traitement plus longue (251). Répondant partiellement à ces interrogations, une équipe étudia l'administration de cocktails de phages par l'alimentation. Pour ce faire, un groupe de porc était nourri avec une alimentation contenant des phages à la dose de $5 \cdot 10^{11}$ PFU par jour pendant 5 jours. Le 5^{ème} jour de l'étude tous les porcs inclus furent inoculés avec $5 \cdot 10^9$ CFU de *Salmonella* Typhimurium. Un second groupe de porcs recevait alors le cocktail de phage par voie orale en trois administrations espacées de 2 heures chacune. Le troisième groupe de porcs ne recevait que des placebo tout au long de l'étude. Les numérations de salmonelles au niveau de l'iléon étaient significativement plus faibles dans les deux groupes traités avec des phages que dans le groupe témoin. De plus, un pourcentage plus important des porcs ne présentait pas de salmonelles détectables au niveau de l'iléon dans ces deux groupes. Les porcs ayant reçu les phages par l'alimentation avaient aussi une quantité significativement moins importante de salmonelles au niveau du caecum. Cette étude montre qu'administrer les phages à travers l'alimentation est aussi efficace que par gavage et qu'elle permet une réduction du portage de *Salmonella* lorsque les porcs s'infectent dans un système mimant une contamination lors du transport des animaux. Une fois encore, aucun traitement n'a permis une élimination complète de l'excrétion des *Salmonella*. Ces résultats demeurent encourageants et montrent qu'une administration de la phagothérapie avec l'aliment semble possible (252). Un autre groupe de travail parvint à obtenir une réduction significative du portage de *Salmonella* au niveau du rectum par l'administration d'un cocktail de deux bactériophages, isolés à partir de fèces de porcs, à raison de deux gavages à 24h et 48h post-inoculation par des salmonelles (253). En 2014, Albino *et al* isolèrent six bactériophages à partir de fèces et en évaluèrent la spécificité contre plusieurs sérovars de *Salmonella enterica subsp enterica*, dont Typhimurium et Choleraesuis. Ils créèrent un cocktail à partir de ces phages qu'ils administrèrent à différentes concentrations à 5 groupes de porcs ayant préalablement été infectés par *Salmonella* Typhimurium. Le premier des groupes ne recevait pas de phages tandis que le dernier les recevait à la concentration de 10^9 PFU/mL. Les porcs étaient mis à jeun pendant 18 heures pour simuler les conditions pré-abattage puis étaient euthanasiés. Si les auteurs observèrent une réduction moyenne des comptages de *Salmonella* au niveau du réservoir iléal et du réservoir caecal, les résultats n'étaient pas significatifs. Ils notèrent cependant qu'après la mise en place du traitement par phagothérapie, seuls 17 porcs, sur les 30 ayant été inoculés, présentaient des *Salmonella* détectables alors qu'avant la mise en place du traitement ils étaient 28 à en excréter. D'après les chercheurs, la plupart des échantillons sans salmonelles détectables étaient issus des porcs traités avec les plus fortes concentrations de phages soit 10^7 et 10^9 PFU/mL. L'analyse statistique de cette observation n'est toutefois pas significative (254). Enfin en 2018, Seo *et al* évaluèrent l'effet de quatre cocktails de bactériophages lytiques à large spectre chez des porcs sevrés. Les cocktails étaient élaborés à partir de 13 virus isolés dans des fermes coréennes et furent d'abord testés sur 141 souches de *Salmonella*. Deux de ces cocktails parvenaient à lyser toutes les souches de

références et 99 des 107 souches bactériennes isolées à partir des fermes, soit 92,5%. Ils utilisèrent donc un de ces cocktails et l'administrèrent, à raison de 5.10^9 PFU, à 10 porcelets de 4 semaines chaque jour du début de l'étude jusqu'à sa fin. Une semaine après le début de ce traitement, 5 de ces porcelets et 5 porcelets témoins reçurent 10.10^8 CFU de *Salmonella* Typhimurium. L'expérience comprenait donc trois groupes de 5 porcelets : un groupe témoin infecté par *Salmonella*, un groupe témoin traité par les phages mais non infecté par *Salmonella* et un groupe recevant des bactériophages et ayant été inoculé avec *Salmonella*. A partir de trois jours post infection, le groupe inoculé et traité par les bactériophages montrait une décroissance du portage de *Salmonella* et aucun portage n'était détecté à partir de 7 jours. Dans le groupe n'ayant pas été traité mais seulement inoculé, une décroissance était aussi observée mais à partir du jour 6, la quantité de *Salmonella* excrétée augmentait. Pour les auteurs, le cocktail de bactériophages créé avait donc une action protectrice (255). Les principaux éléments de ces études sont résumés dans le tableau VI.

Tableau VI – Principales études à propos de la phagothérapie ciblant *Salmonella spp* chez les porcs

Phagothérapie et <i>Salmonella spp</i> chez les porcins								
Référence	Harris et al (249) - 2000	Harris et al (250) - 2001	Wall et al (251) - 2010	Saez et al (252) - 2011	Callaway et al (253) - 2011	Albino et al (254) - 2014	Seo et al (255) - 2018	Desiree et al (256) - 2021
Type d'étude	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i> et <i>in vivo</i>	<i>In vitro</i> et <i>in vivo</i>	Méta-analyse
Bactérie(s) ciblée(s)	<i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Salmonella</i> Typhimurium	141 souches de <i>Salmonella spp</i>	<i>Salmonella spp</i>
Phage(s) utilisé(s)	Cocktail de 26 phages puis phage Félix O1 (<i>Myoviridae</i>)	phage Félix O1 (<i>Myoviridae</i>)	Cocktails de 15 phages dont Félix O1	Cocktail de 14 phages microencapsulés	Cocktail de deux bactériophages	Cocktail de six bactériophages	Quatre cocktails créés à partir de 13 phages	
Caractérisation	Lytiques	Lytique	Lytiques	Lytiques	Lytiques	Lytiques	Lytiques	
Animaux et groupes formés	Porcelets de quatre semaines. Groupes de trois animaux dans la première expérience, puis de 5 animaux	Porcelets de quatre semaines.	Porcelets de trois à quatre semaines puis porcs adultes	63 porcelets divisés en trois groupes sur trois essais	48 porcs sevrés répartis en un groupe traité et un groupe témoin	30 porcs de 100kg répartis en 5 groupes de 6 porcs	Trois groupes de cinq porcelets de quatre semaines	576 observations
Protocole expérimental	Challenge intranasal par <i>Salmonella</i> Typhimurium. Comparaison de l'infection des tissus par la bactérie selon voie d'administration d'un cocktail de phages ou du phage Félix O1	Challenge intranasal par <i>Salmonella</i> Typhimurium. Puis trois heures après challenge, administration orale et IM du phage Félix O1 ou d'un témoin. Six heures plus tard, sacrifice des porcelets.	Infection expérimentale des porcelets et administration cocktail ou placebo. Infection de porcs laissés 48h dans un enclos. Ensuite, des porcs naïfs sont introduits et reçoivent le cocktail ou un placebo	Administration du cocktail à travers l'alimentation sur cinq jours avant challenge bactérien ou gavage trois fois à deux heures d'intervalle après challenge bactérien. Troisième groupe ne recevant que des placebos	Inoculation de <i>Salmonella</i> Typhimurium par gavage. Administration du cocktail de phages à 24h et 48h. Sacrifice des porcs et comptages bactériens du contenu caecal et rectal.	Analyse <i>in vitro</i> du spectre des phages. <i>In vivo</i> , inoculation par gavage de <i>Salmonella</i> Typhimurium pendant 2 jours. Au troisième jour : administration des phages <i>per os</i> puis mise à jeun pour 18h.	Etude du spectre d'hôte des cocktails. Puis administration d'un des cocktails à un groupe test et à un groupe témoin. Une semaine après début de l'expérience, inoculation d'un groupe témoin et du groupe test	Analyse systématique et méta-analyse des expériences précédentes concernant <i>Salmonella</i> et la phagothérapie chez les porcins
Résultats	Contamination rapide des tissus. Pas de réduction de significative de la contamination avec le cocktail. Réduction significative des comptages bactériens au niveau des amygdales et du caecum avec le phage Félix O1	Contamination rapide des tissus par <i>Salmonella</i> Typhimurium. Réduction significative de la contamination des tonsilles et du caecum.	Réduction de 99% de la contamination de l'iléon et des amygdales des porcelets. Réduction de la contamination d'origine environnementale des porcs traités, significative dans le caecum, non significative dans l'iléon	Nuérations iléales de salmonelles significativement plus faibles dans les groupes traités. Salmonelles caecales significativement moins nombreuses pour le groupe ayant reçu les phages dans l'aliment	Diminution significative du nombre de bactéries au niveau du rectum. Autres résultats non significatifs.	Réduction quantitative du nombre de porcs porteurs dans les groupes traités aux plus fortes concentrations mais absence de résultats significatifs statistiquement	Lyse de 92,5% des souches de salmonella isolées depuis des fermes. A partir de trois jours post-infection, le groupe traité présentait une décroissance du portage de salmonelles	Porcs traités statistiquement porteurs de plus faibles concentrations en <i>Salmonella</i> que les porcs témoins. Réductions les plus importantes deux à quatre jours après le traitement

A partir de l'ensemble de ces travaux, la phagothérapie semble apparaître comme un moyen alternatif à l'usage des antibiotiques pour maîtriser le portage de salmonelles en élevage porcin. Plus particulièrement, ces études se sont principalement intéressées à la contamination rapide des porcs au moment du transport et de l'attente avant l'abattage. Quelques heures suffisent pour que les salmonelles diffusent dans la plupart des organes de l'animal (249, 250). Plusieurs de ces études semblent montrer une réduction du portage des salmonelles dans divers compartiments gastriques ou au niveau des amygdales mais les résultats ne sont pas toujours significatifs (250–255). Les principaux traits que nous pouvons tirer de ces études sont résumés dans le tableau VII.

Tableau VII – Bactériophages et portage de *Salmonella* chez les porcs

Caractère étudié	
Réduction du portage bactérien chez les porcelets	Possible, peut atteindre une réduction supérieur à 90%
Réduction du portage chez les porcs adultes	Possible mais moindre que chez les porcelets
Réduction la plus intense	48 après administration des phages
Persistance de la réduction	Temporaire
Élimination du portage	Très rarement atteinte
Réduction de la contamination par l'environnement	Permise par administration des phages lors de l'exposition
Administration par l'aliment	Possible (mais doit être vérifiée expérimentalement au préalable)

Finalement, une méta-analyse publiée en 2021 compile les données de la plupart des études citées ci-dessus et tente de déterminer si les phages sont une option potentiellement viable. Préalablement, les chercheurs ont analysé les données compilées afin de déterminer si des biais de publication pourraient fausser leur méta-analyse. Cinq-cent-soixante-seize observations ont finalement été retenues. Les porcs traités avec les phages sont statistiquement porteurs de plus faibles concentrations de bactéries que les porcs non traités. Ces résultats sont valables que les échantillons soient collectés 24 heures ou entre 48 et 96 heures après la première administration de phages. Les chercheurs notent toutefois une certaine variabilité dans la réduction. Il apparaît alors que les réductions les plus importantes sont observées dans les deux à quatre jours après le traitement. De plus, ce traitement apparaît aussi plus efficace chez les porcelets plutôt que chez des porcs plus âgés. Cette étude, qui est une des rares méta-analyses centrée sur la phagothérapie, qui plus est chez les animaux, affirme que l'utilisation de bactériophages pourrait être une alternative à l'usage des antibiotiques chez les porcs. Elle met en avant le fait que la réduction du portage bactérien est plus marquée à partir de 48 heures après le traitement et que de multiples applications de virus semblent avoir une meilleure efficacité. Ces données pourraient être utilisées afin de déterminer le moment d'utilisation optimal de la phagothérapie pour diminuer les risques associés aux salmonelles (256).

3- COMPLEXE DE LA RHINITE ATROPHIQUE PORCINE

La rhinite atrophique porcine est une atteinte des voies respiratoires supérieures touchant particulièrement les élevages de jeunes porcs. Elle est causée par l'association de deux bactéries : *Bordetella bronchiseptica* et *Pasteurella multocida*. Cette maladie est caractérisée par une atrophie des cornets nasaux entraînant une déformation caractéristique du groin. Les porcelets atteints souffrent aussi de retards de croissance et sont plus à risques de développer une pneumonie enzootique ce qui induit des pertes économiques parfois importantes. La pathogénie de cette maladie est complexe mais implique, la plupart du temps, une première infection par *B. bronchiseptica* qui adhère à l'épithélium respiratoire. La bactérie libère une toxine créant alors des lésions modérées des cornets nasaux. La rhinite atrophique est, à ce stade, qualifiée comme « non-progressive ». L'altération de l'épithélium respiratoire favorise les surinfections par *Pasteurella multocida*. Si ces souches de *P. multocida* sont toxigènes, ces-dernières sécrètent une toxine dite dermonécrotique qui aggrave les lésions des cornets. La rhinite est alors qualifiée comme « rhinite atrophique progressive ». Les toxines augmentent la résorption ostéoclastique et diminuent la synthèse ostéoblastique. Des lésions irréversibles se mettent alors en place en quelques jours (257–259). Ces lésions sont présentées sur les figures 10a et 10b. Certains auteurs ont donc considéré l'usage de la phagothérapie pour lutter contre ces bactéries et principalement contre *Bordetella bronchiseptica*. L'importance de *B. bronchiseptica* ne se limite pas à la médecine porcine car cette bactérie est aussi impliquée dans des affections telles que le complexe de la toux de chenil du chien ou le syndrome coryza du chat. De son côté, *Pasteurella multocida* est une bactérie pouvant être en cause dans de multiples infections chez les animaux de compagnie, les animaux de rente ou l'homme (260).

En 2017, les 29 premiers bactériophages lysant *Bordetella bronchiseptica* ont été isolés à partir d'échantillons d'eau. Les échantillons provenaient de plusieurs régions du monde incluant la Serbie, la Hongrie, la Suisse et l'Égypte. Sur 12 souches de *Bordetella* testées, seules 5 étaient lysées par les phages. De plus, tous les phages avaient des spectres étroits se limitant à quelques souches précises. Les chercheurs caractérisèrent aussi l'endolysine produite par ces phages pour potentiellement s'en servir comme « enzybiotique ». Toutefois, un potentiel phénomène lysogénique ne put être exclu (260). Il faut retenir de cette étude la présence de phages ciblant *Bordetella* dans l'environnement. En 2019, une autre équipe parvint à isoler et caractériser un bactériophage lytique de la famille des *Caudoviridae* à partir d'eaux usées de porcherie. Sur 19 souches de *B. bronchiseptica*, ce virus pouvait en lyser 7. L'étude des colonies devenues résistantes au phage ne montra pas la présence de gènes pouvant être associés à un phénomène de lysogénie mais aussi de nombreuses protéines au rôle inconnu (261). Enfin en 2020, une équipe isola et caractérisa un phage lytique spécifique de *Bordetella bronchiseptica*. Le séquençage complet du génome ne révéla pas la présence de gènes codant des toxines ou impliqués dans des phénomènes de lysogénie. Les chercheurs tentèrent d'évaluer son intérêt dans un cadre de phagothérapie. Pour ce faire, ils l'appliquèrent *in vitro* sur des biofilms et *in vivo* contre des infections à *Bordetella bronchiseptica* chez des larves de

fausse teigne de la cire (*Galleria mellonella*). Le virus permit une réduction significative des biofilms en 4 heures, allant jusqu'à une réduction de 75% de la masse et jusqu'à 92% de la viabilité du biofilm. Une diminution du nombre de cellules bactériennes fut observée au microscope électronique à balayage. Les cellules restantes présentaient, pour la plupart, une altération de leur morphologie. Chez les larves, un traitement avec le bactériophage 20 minutes après l'inoculation de bactéries réduisait la mortalité. Si, en l'absence de traitement, 70% des larves mouraient en 24 heures, une survie de plus de 90% des larves était observée à 96h après inoculation lorsque le phage était utilisé. Cette étude est donc parvenue à isoler un phage lytique capable d'attaquer des bactéries comprises dans des biofilms. Les résultats de l'expérience *in vivo* menée sur des larves de *Galleria mellonella* sont encourageants et font remarquer une forte réduction de la mortalité. Ils appellent donc à des études complémentaires avant un potentiel usage chez les animaux et en particulier les porcins (262).

En plus du bénéfice purement antibactérien des bactériophages, certaines études suggèrent que ces derniers réduisent aussi l'inflammation, souvent très marquée lors de rhinite atrophique progressive. Ainsi, une étude de 2018 mit en évidence le fait que l'infection par *Bordetella bronchiseptica* entraîne la production d'interleukines pro-inflammatoires par les cellules des cornets nasaux. Des cytokines IL-1 β et IL-6 sont sécrétées dès que les cellules sont en contact avec la bactérie. Or, l'administration de phage modifiait les profils d'expression des cytokines. La présence du virus inhibe la production des cytokines pro-inflammatoires citées précédemment par la destruction des bactéries. Le bactériophage participe donc au retour à un profil cytokinique basal et évite des phénomènes inflammatoires trop importants (263). L'examen des profils d'expression des ARN montrait que la présence du bactériophage avant l'infection tendait à réduire l'expression de gènes pro-inflammatoires lorsqu'il y a inoculation de la bactérie. Au contraire, l'infection par *Bordetella* seule tendait à augmenter l'expression de ces gènes. La présence du virus altère donc les profils d'expression des ARN, d'où une modification des cytokines produites ce qui participe à limiter l'inflammation lorsqu'il y a infection. Le mécanisme intracellulaire menant à de tels résultats reste néanmoins à élucider (264). Des observations similaires furent réalisées lorsque l'expérience était effectuée avec *Pasteurella multocida* et un phage associé. La présence du virus réduisait significativement, dans ce cas aussi, l'expression des IL-1 et IL-6 et altérait les profils d'expression des microARN (265).

4- USAGE DES BACTERIOPHAGES EN TANT QUE PROMOTEURS DE CROISSANCE

Nous avons précédemment évoqué le fait que les antibiotiques étaient, jusqu'à récemment, utilisés en routine dans l'alimentation des porcs à des doses sub-thérapeutiques pour agir en tant que facteurs de croissance. Cet usage à faibles doses, les molécules étant ajoutées à l'alimentation, permettait d'améliorer la vitesse de croissance en améliorant le gain moyen quotidien et d'améliorer la valorisation de l'aliment. De plus, une réduction de la morbidité, de la mortalité et une amélioration des performances de reproduction étaient aussi

rapportées. Par exemple, l'usage d'antibiotiques peut augmenter de 16,4%, en moyenne, la vitesse de croissance de porcelets de 7 à 25kg (266).

Depuis l'interdiction totale de l'usage prophylactique des antibiotiques en Union Européenne effective depuis 2006, d'autres options ont été recherchées comme alternatives. Nous pouvons évoquer les peptides antimicrobiens, l'usage d'argiles, les huiles essentielles ou l'oxyde de zinc. Ce-dernier est notamment utilisé pendant les semaines suivant le sevrage afin de réduire l'incidence des affections digestives et pour augmenter le gain moyen quotidien. En effet, *in vitro*, les produits à base de zinc réduisent la croissance des pathogènes intestinaux mais, en cas de surcharge en zinc, les porcelets peuvent aussi présenter des retards de croissance (267). Néanmoins, des études récentes remettent en question l'utilisation du zinc dans l'alimentation des porcs car son effet serait hautement variable et car de fortes concentrations de zinc peuvent être libérées dans l'environnement par la valorisation du lisier en agriculture. De plus, certaines études affirment qu'un apport alimentaire très riche en zinc favorise le portage de bactéries multirésistantes aux antibiotiques (268). Les autres alternatives restent moins développées mais plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'usage de cocktails de bactériophages.

En 2010, Gebru *et al* comparèrent les croissances de 6 groupes de porcelets recevant chacun un traitement différent. Parmi ces groupes, un recevait un aliment contenant des bactériophages anti-*Salmonella* Typhimurium à raison de 3.10^9 PFU/kg d'aliment. D'autres groupes recevaient de la chlortétracycline ou des probiotiques. Deux semaines après le début de l'étude les porcs étaient inoculés avec *Salmonella* Typhimurium et leur état suivi pendant deux semaines supplémentaires. Après l'inoculation, la prise alimentaire se révéla significativement plus élevée dans le groupe traité par les phages que dans le groupe contrôle non traité. Avant l'ajout des bactéries, le groupe « phage » ne présentait pas de différence de GMQ avec le groupe contrôle tandis que le groupe « tétracycline » présentait un GMQ significativement plus élevé. Toutefois, à partir de l'inoculation, le GMQ du groupe « phage » devint significativement plus important que celui du groupe témoin. La valorisation alimentaire était aussi meilleure dans le groupe traité par les phages à partir de l'inoculation tout en étant le groupe le moins porteur de bactéries. Cette étude met donc en avant le fait que, dès lors qu'un inoculât bactérien est présent, les performances d'un groupe de porcelets traités par des bactériophages ne sont pas significativement différentes de celles d'un groupe traité par une tétracycline. En l'absence de bactéries ciblées par le phage, ses performances sont toutefois comparables à celles d'un groupe non traité (268). En 2012, Yan *et al* comparèrent l'administration de bactériophages ciblant *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* et *S. Gallinarum* à deux dosages différents et celle d'un antibiotique, l'apramycine. Dans le cadre de cette étude, menées sur 4 groupes de porcs suivis sur 6 semaines, l'usage de l'antibiotique ou des phages n'avait pas d'impact sur le GMQ, la prise alimentaire et la valorisation de l'aliment car aucune différence significative ne put être observée avec le groupe témoin. Dans les groupes traités, une meilleure digestibilité de la matière sèche et de l'azote était observée. Aucune différence statistique entre l'antibiotique et les phages ne fut mise en évidence.

Les auteurs expliquèrent cette absence d'effet des antibiotiques et des phages sur les performances des animaux grâce aux bonnes conditions sanitaires dans lesquelles les porcelets étaient placés pendant l'étude. Devant l'amélioration de la digestibilité des nutriments par la phagothérapie, ils n'excluaient pas un usage des phages en tant qu'alternative aux antibiotiques (269). En 2014, une équipe coréenne compara les probiotiques et les bactériophages. Le cocktail de bactériophages utilisé était composé par des virus lysant plusieurs serovars de *Salmonella*, *S. aureus*, *E. coli* et *Clostridium perfringens*. Plus la quantité de phages administrés par l'aliment était importante, plus une augmentation du GMQ et de la prise alimentaire moyenne quotidienne était notable. Si nous comparons les groupes traités avec des bactériophages à ceux recevant uniquement des probiotiques, les premiers avaient un GMQ, une prise alimentaire et une valorisation de l'aliment significativement meilleurs que les seconds (270). En 2021, les performances de croissance de porcelets sevrés recevant quotidiennement des phages ont été comparées à celles d'un groupe témoin recevant des antibiotiques. Trois concentrations de phages étaient étudiées : 200mg/kg, 400mg/kg et 600mg/kg. Le cocktail utilisé comprenait des phages ciblant les *Salmonella*, *E. coli*, *Clostridium perfringens* et *S. aureus*. Ainsi, sur 21 jours de suivi, les chercheurs n'observaient pas de différence significative entre le groupe témoin traité par antibiotiques et le groupe traité avec 200 mg/kg de bactériophages. En revanche, les groupes traités avec 400mg/kg et 600 mg/kg présentaient de meilleurs résultats zootechniques avec une masse corporelle finale plus importante, un GMQ plus élevé, une meilleure prise alimentaire, une meilleure valorisation de l'aliment et une incidence des diarrhées moindre. Entre ces deux groupes, aucune différence significative ne put être observée. Ainsi, les auteurs en venaient à la conclusion que leur cocktail pourrait être utilisé comme promoteur de croissance dont la posologie optimale serait de 400 mg/kg. Les résultats obtenus et leur comparaison à un traitement antibiotique « classique » soulignent ici le fait que la phagothérapie peut, dans ce contexte, être une alternative (271).

En compilant toutes ces études, il faut noter que les résultats sont globalement variables. L'amélioration des paramètres zootechniques est absente dans certaines études, marquée dans d'autres et parfois conditionnée par la réalisation d'une inoculation de bactéries (268–271). La variabilité de ces résultats peut, probablement, s'expliquer par les différences entre les protocoles utilisés, la différence des spectres d'action des cocktails de virus considérés ou encore l'état sanitaire des élevages dont les porcs sont originaires. Ces éléments conditionnent l'action du cocktail et, par conséquent, ses retombées zootechniques (272). Les auteurs de l'étude aux résultats les plus « décevants » considèrent eux-mêmes la phagothérapie comme une alternative viable même si de telles affirmations nécessitent d'être confirmées par des preuves scientifiques. De plus, dans le cadre de leur étude, même l'antibiothérapie n'a pas présenté pas de différence significative avec un régime alimentaire témoin (269). Des deux dernières études citées, il semble qu'un cocktail de bactériophages à très large spectre soit nécessaire pour obtenir les résultats les plus marqués quant aux performances zootechniques des animaux (270, 271). Plusieurs questions demeurent, notamment l'effet de la phagothérapie sur les performances de reproduction ou si elle

conserve son efficacité sur le long terme. Enfin, il faut aussi déterminer si un usage des bactériophages pour un tel motif est souhaitable, en particulier si un usage prophylactique des phages ne risque pas d'entraîner une évolution des populations bactériennes vers une phagorésistance qui pourrait, à terme, compromettre l'usage thérapeutique des bactériophages.

Points essentiels : La phagothérapie en médecine porcine

- La viande de porc compte parmi celles les plus consommées en France et dans le monde. La filière porcine est particulièrement concurrentielle. Le rôle du vétérinaire s'inscrit donc dans la maîtrise des pathologies de troupeau au sein d'un contexte économique complexe (235).
- A partir des années 50-60, l'usage systématique des antibiotiques s'est imposé en élevage porcine pour réduire la prévalence de maladies, notamment néonatales et au moment du sevrage, et pour améliorer les performances zootechniques des animaux. Cet usage favorise l'augmentation de la prévalence des résistances (237-241).
- Depuis 2006, l'usage des antibiotiques en tant que promoteurs de croissance est interdit en Union Européenne. Ces restrictions s'étendent avec, par exemple, une interdiction similaire adoptée en 2020 en Chine. Cela motive la recherche d'alternatives aux antibiotiques (236-238).
- Les principales recherches citées ci-dessus se sont concentrées sur la maîtrise de certains pathogènes d'intérêt tels que : *Escherichia coli*, les bactéries du genre *Salmonella* et *Bordetella bronchiseptica*. A cela s'ajoute les études quant à un effet de promoteur de croissance.
- *Escherichia coli* est un agent majeur de diarrhées chez les porcelets, notamment au sevrage (240). Comme concernant l'usage de la phagothérapie chez les bovins, les études de Smith et Huggins sont fondamentales et montrent une protection des porcelets par les phages (216). Leurs limites résident dans l'absence de caractérisation des phages et dans leur application à des nouveau-nés dont la protection est aujourd'hui surtout assurée par la vaccination (242).
- Plusieurs bactériophages ciblant les *Escherichia coli* du porc ont été caractérisés et isolés. Leur application de manière prophylactique ou thérapeutique semble permettre une réduction de la durée et de la sévérité des diarrhées tout en limitant les conséquences sur la croissance des porcelets (243-246).
- L'importance du genre *Salmonella* a considérablement changé mais ces bactéries peuvent toujours être responsables d'affections graves chez les jeunes et sont associées à des zoonoses d'origine alimentaire (247).
- Quelques heures après le début de l'infection suffisent pour que les *Salmonella* contaminent la plupart des tissus de l'animal ce qui représente un risque, en particulier avant l'abattage (249).
- Une méta-analyse publiée en 2021 compile la plupart des résultats concernant le traitement des *Salmonella* chez le porc et conclut que la phagothérapie est une alternative possible aux antibiotiques. La diminution du portage est la plus marquée deux à quatre jours après l'administration des virus. La thérapie serait plus efficace chez les porcelets (256). Il convient de noter qu'il s'agit d'une des très rares méta-analyses concernant la phagothérapie animale.
- L'administration des phages par l'alimentation des porcs est possible (245,252).
- Les résultats concernant un usage en tant que promoteur de croissance sont variables mais la plupart s'accordent pour dire que les phages seraient une alternative aux antibiotiques. Néanmoins, il semble que l'usage d'un cocktail à large spectre soit nécessaire pour obtenir les meilleurs résultats (261-263)
- L'usage massif et sur le long terme de ces cocktails n'est pas étudié. Les questions concernant le maintien de l'efficacité et de l'apparition ou non de résistances demeurent non élucidées.
- L'association de *Bordetella bronchiseptica* et *Pasteurella multocida* peut entraîner des atrophies des cornets nasaux (264-266). Récemment plusieurs phages ciblant *Bordetella bronchiseptica* ont été isolés et caractérisés. Des études de laboratoire semblent montrer un potentiel thérapeutique à certains d'entre eux (267-269).
- Les phages ciblant *Bordetella bronchiseptica* ou *Pasteurella multocida* induisent une modification du profil d'expression des microARNs ce qui réduit la sécrétion de facteurs de l'inflammation. Les mécanismes précis et intracellulaires sont encore à découvrir (270-272).

D- LA PHAGOTHERAPIE CHEZ LES VOLAILLES

L'aviculture concerne plusieurs espèces animales regroupant principalement des gallinacés et des anatidés. Parmi eux, il est notamment possible de citer le poulet *Gallus gallus*, la dinde *Meleagris gallopavo* ou la pintade *Numida meleagris*. Les produits finaux de ces filières sont nombreux, les animaux pouvant être élevés pour leur chair, leurs œufs, leurs plumes ou encore pour leur intérêt cynégétique. En France, d'après le ministère de l'agriculture, plus de 155 millions de volailles de chair et de 48 millions de poules pondeuses sont recensées (189). Les modalités d'élevage sont, elles aussi, très diverses pouvant être en plein air ou en claustration.

Comme l'élevage porcin, l'aviculture reposait massivement sur l'emploi des antibiotiques de manière prophylactique ou en tant que promoteurs de croissance. Ainsi, le rapport de la commission interministérielle et interprofessionnelle sur l'alimentation animale de 1999 estimait que 96% des dindons, 68% des poulets de chair, 81% des pintades et 20% des poules pondeuses recevaient une alimentation supplémentée en antibiotiques. Il faut aussi noter que parmi les poulets de chair, tous les aliments pour poulets dit « standards » étaient supplémentés alors que ce n'est pas le cas pour ceux associés à un label (237). Encore une fois, l'augmentation de la prévalence des phénotypes antibiorésistants impose la recherche de solutions alternatives, et ce d'autant plus depuis que l'Union Européenne, les Etats-Unis ou la Chine ont légiféré afin de restreindre la quantité d'antibiotiques utilisés dans cette filière (238).

Parmi les bactéries problématiques en élevage avicole, nous pouvons notamment citer les *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* ou encore les clostridies (273). Tous ces pathogènes sont responsables d'affections cliniques ou sub-cliniques chez les volailles mais sont aussi des menaces pour la santé publique. Le rapport publié en 2021 par l'*European Food Safety Authority* (EFSA) met en évidence que la campylobactériose et la salmonellose sont, respectivement, la première et la deuxième zoonose les plus signalées dans les 36 pays d'Europe concernés par l'étude. Ces bactéries sont notamment retrouvées sur les carcasses de poulet prêt à cuire et présentent, pour certaines, des hauts niveaux de prévalence d'antibiorésistance (274, 275).

L'idée d'utiliser la phagothérapie chez les volailles n'est pas récente. En effet, dès sa découverte des bactériophages, Felix d'Hérelle les utilisa chez des poulets pour tenter de les guérir de la typhose (273). Nous étudierons donc dans cette partie l'usage des bactériophages pour lutter contre les *Campylobacter*, *E. coli*, *Salmonella spp* et les autres bactéries d'intérêt en élevage avicole. Nous évoquerons aussi leur potentiel usage afin d'améliorer les performances des animaux.

1- INFECTIONS PAR *SALMONELLA SPP.*

Les volailles peuvent être infectées par différents biovars et serovars de *Salmonella* résultants en différentes pathologies aux conséquences parfois importantes pour l'économie agricole et pour la santé publique. Cet état de fait a donc été traduit réglementairement, avant l'instauration de la loi « Santé Animale », à travers l'arrêté du 29 juillet 2013 « relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales » catégorisant la salmonellose aviaire à *Salmonella* Typhimurium, Enteritidis et Kentucky chez *Gallus gallus* et *Meleagris gallopavo* comme danger sanitaire de première catégorie. La typhose et la pullorose, respectivement causées par le biovar Gallinarum de *Salmonella* Gallinarum et par le biovar Pullorum de *Salmonella* Gallinarum, sont catégorisées comme dangers sanitaires de deuxième catégorie (276). Les infections par *Salmonella* Gallinarum sont très spécifiques de leur hôte. La pullorose est une maladie septicémique touchant les poussins et dindonneaux pouvant conduire à la mort dans l'œuf ou après éclosion. Elle est souvent associée à une diarrhée blanchâtre et une très haute mortalité. Sa gravité est moindre chez les animaux plus âgés mais peut entraîner une baisse des performances. La typhose ou « fowl typhoid » est une maladie septicémique affectant des volailles adultes. L'importance de ces deux maladies est principalement économique puisqu'elles n'ont pas de conséquence sur la santé publique (277, 278). Au contraire de la pullorose et de la typhose, la maîtrise des infections des volailles par les autres serovar est principalement associée à un objectif de sécurité sanitaire des aliments. Ces serovars ne sont pas spécifiques d'une espèce animale et peuvent donc être transmis à l'homme. Ces infections sont fréquentes mais ne causent que rarement des symptômes chez les animaux, à l'exception des jeunes poussins. Chez les adultes, il s'agit le plus souvent d'une infection asymptomatique avec un portage permanent au niveau des organes et du tube digestif avec, à terme, une contamination des carcasses et/ou des œufs (277, 278). Or, comme nous l'avons évoqué précédemment, la salmonellose est la deuxième maladie zoonotique la plus signalée en Europe ce qui justifie l'élimination des troupeaux reconnus infectés (274). De plus, la prévalence de l'antibiorésistance chez ces bactéries est importante. Le rapport publié en 2021 par l'EFSA révèle que 57.3% des salmonelles isolées sur des carcasses de dindes et 35.5% des salmonelles isolées sur des carcasses de poulets sont résistantes à la tétracycline. De même, la prévalence des résistances à l'ampicilline et au sulfaméthoxazole s'échelonnent de « modérée à élevée » (275). Eviter l'introduction de salmonelles au sein d'une population aviaire nécessite un haut niveau de biosécurité associé à une maîtrise des nuisibles, tels que les rongeurs ou les pigeons, et de l'alimentation et passe par de bonnes pratiques d'élevage.

L'usage de la phagothérapie contre les infections par les salmonelles chez les volailles pourrait donc tenter de concilier un objectif économique et un double objectif de santé publique avec la maîtrise du risque zoonotique et du risque associé à l'antibiorésistance.

Après les premiers travaux précurseurs de d'Hérelle, Pyle tenta en 1926 d'évaluer l'intérêt des bactériophages dans la lutte contre la pullorose aviaire. En appliquant les méthodes de d'Hérelle, il parvint à isoler 5 souches de bactériophages à partir des fientes de

poulets. Chaque virus fut capable de lyser la souche de *Salmonella Pullorum* étudiée mais seuls deux avaient une activité lytique considérée comme suffisante pour être employés en thérapie. *In vitro*, les résultats de ces deux phages étaient encourageants. *In vivo*, les résultats se révélèrent décevants, les virus ne permettant pas de diminuer significativement la mortalité ni l'importance des signes cliniques. Des résultats similaires furent obtenus que la solution ait été administrée par voie orale ou par voie sous-cutanée (279).

Dans les années 1950, Taylor et Silliker s'intéressèrent à l'usage des bactériophages pour augmenter la quantité d'œufs arrivant à éclore en limitant l'effet de l'infection par les salmonelles. Pour instiller leur bactériophage au sein de l'œuf, ils envisagèrent deux méthodes distinctes : l'emploi d'une seringue hypodermique ou permettre la pénétration du virus dans l'œuf grâce à une chambre à pression permettant au virus de passer à travers les pores de la coquille. Grâce à leur méthode, ils obtinrent des pourcentages d'éclosion supérieurs à 70% lorsque les œufs étaient infectés par *Salmonella* et traités avec des virus. Ces pourcentages n'étaient pas significativement différents de ceux des œufs témoins. En revanche, les œufs infectés mais non traités présentaient un pourcentage de fertilité inférieur à 45% (280). Leur étude laisse aujourd'hui encore en suspens la question de l'applicabilité de telles mesures en pratique agricole courante. Malgré ces résultats encourageants pré-éclosion, l'immense majorité des études parues dans les années suivantes s'est consacrée à l'application des bactériophages sur des poussins ou des animaux adultes.

Le principal axe des études est donc, outre la maîtrise de la mortalité associée à l'infection, la réduction du portage de *Salmonella* au niveau des intestins et des organes afin de réduire le risque zoonotique. En 1991, Berchieri *et al* parvinrent à montrer que certains des phages qu'ils avaient sélectionnés étaient capables de réduire significativement la mortalité associée à l'inoculation de *Salmonella Typhimurium* chez des poussins fraîchement éclos. Pour obtenir des réductions de mortalité, les préparations devaient toutefois présenter une concentration suffisamment élevée en particules virales, ici supérieure à 10^{10} PFU/mL. De plus, des poussins non inoculés avec des phages pouvaient eux-aussi en excréter, montrant une « contamination » par les phages via l'environnement. Toutefois, s'ils réussirent à obtenir une réduction des comptages bactériens dans le tube digestif avec l'administration de phage, elle ne se révéla que de courte durée, les différences disparaissant dans les 24 heures suivant l'inoculation (281). Se basant sur l'étude de Berchieri *et al*, Sklar *et al* tentèrent de réduire le portage caecal de *Salmonella Enteritidis* grâce aux bactériophages. Ils isolèrent pour cela plusieurs phages à partir de litière de poulailler, d'eaux usées et des effluents de ferme et firent ensuite cinq essais cliniques sur des poussins venant d'éclore. Au cours de ces cinq essais, les animaux furent divisés en trois groupes avec un groupe témoin ne recevant ni bactérie ni phage, un groupe témoin recevant l'inoculât bactérien et un groupe étant inoculé puis traité. Peu de différences significatives furent mises en évidence au cours de cette étude. Une diminution significative des comptages caeaux en salmonelles était observée dans le quatrième essai durant lequel les animaux recevaient des phages pendant les 14 jours de l'étude. Toutefois, la réduction quantitative du nombre de bactéries demeura faible. Les

auteurs estimèrent que ceci pourrait être lié aux conditions présentes dans le tube digestif des oiseaux qui ne seraient pas nécessairement favorables aux rencontres entre les phages et les bactéries (282). Quatre ans plus tard, Fiorentin *et al* eurent des résultats plus encourageants. A partir de phages isolés chez des poulets, ils construisirent un cocktail de trois virus qu'ils administraient à une dose de 10^{11} PFU de chaque phage à des poussins de 7 jours ayant préalablement été inoculés avec *Salmonella* Enteritidis. Cinq jours après le traitement, les comptages caecaux des poulets traités présentaient une diminution de 3.5 unité logarithmique. Les auteurs, en se référant aux travaux de Sklar *et al*, conclurent donc qu'une administration unique d'une forte concentration de phage serait plus efficace pour réduire le portage qu'une administration d'une concentration moins élevée sur un plus long terme. Toutefois, au bout des 25 jours d'étude tous les animaux étaient encore porteurs de salmonelles (283). Après avoir isolés 232 bactériophages, une équipe britannique en sélectionna 3 ayant chacun un spectre large pour des souches de *Salmonella* Typhimurium, Enteritidis et Hadar. Les auteurs parvinrent à obtenir une réduction significative du portage caecal de *S. Typhimurium* et *S. Enteritidis* dans les 24h suivant l'administration des phages correspondants à la dose de 10^{11} PFU/mL. La réduction atteignait au maximum 4.2 unités logarithmiques pour le serovar Enteritidis et 2.2 unités logarithmiques pour le serovar Typhimurium. Cette étude suggère donc un usage possible de la phagothérapie juste avant le passage des volailles à l'abattoir en utilisant donc des solutions de bactériophages à haute doses (284). Les résultats sont similaires à ceux de l'étude de Fiorentin *et al* où une administration unique de virus à forte concentration permet de réduire significativement et transitoirement le portage des salmonelles. Il faut toutefois noter que malgré des résultats *in vitro* intéressants, le phage ciblant *Salmonella* Hadar n'a pas montré d'efficacité *in vivo*, probablement en lien avec une moins bonne capacité à se répliquer *in situ*.

De ces quatre études, il apparaît donc que la maîtrise du portage sain est, à l'instar de ce que nous avons pu voir chez le porc ou chez les bovins, un axe plus complexe que la prise en charge d'une pathologie en phase aiguë. De plus, il semblerait que, dans le but de réduire le portage bactérien, une application unique d'un phage à haute concentration soit plus intéressante qu'une administration sur le long terme mais que cette réduction soit essentiellement transitoire. Enfin, ces travaux illustrent la nécessité de la caractérisation des bactériophages dont l'activité *in vitro* n'est pas toujours le reflet de celle *in vivo*.

Il est aussi nécessaire de comparer la phagothérapie avec d'autres techniques envisagées pour la maîtrise du risque infectieux. Ces autres techniques sont notamment l'emploi de prébiotiques, probiotiques ou de la vaccination. Les probiotiques consistent en l'usage de bactéries non-pathogènes afin de coloniser le tube digestif, diminuant par compétition la niche écologique où pourraient se développer les salmonelles (285). Une étude de 2009 compara les bactériophages et les probiotiques pour réduire le portage de salmonelles. Divisés en cinq groupes différents, des poussins pouvaient recevoir soit des probiotiques à un jour d'âge, soit un mélange de trois bactériophages à six jours, soit les deux traitements, soit aucun traitement. A sept jours, quatre des cinq groupes étaient inoculés avec

des *Salmonella* Enteritidis dans le but de déterminer si l'infection pouvait être maîtrisée par les deux types de contre-mesures envisagées. Les résultats des prélèvements révélèrent une différence significative entre le groupe recevant les deux produits et celui sans traitement. Dans le premier cas, 38.7% des poussins étaient infectés tandis que dans le second l'entièreté de l'effectif était atteinte. Aucune différence statistique ne put être mise en évidence entre les deux groupes n'ayant reçu qu'un seul des deux traitements mais ils étaient significativement moins infectés que le groupe témoin tout en demeurant plus atteints que le groupe ayant reçu les deux traitements. Au niveau des comptages bactériens, une numération de *Salmonella* Enteritidis significativement moindre au niveau du caecum des animaux ayant reçu les deux traitements par rapport aux animaux non traités était observée. Ainsi, il semblerait qu'une action synergique existe entre les deux modalités de contrôle puisque cette étude rapporte de meilleurs résultats lorsque le probiotique et les phages sont employés de concert (285).

Pour mesurer l'intérêt de la phagothérapie dans la réduction de l'infection des poussins à la suite d'une introduction accidentelle de salmonelles, Lim *et al* utilisèrent trois concentrations d'une solution de bactériophages administrée à des poussins à travers l'alimentation pour déterminer si cette supplémentation réduit la contamination horizontale des animaux. Ils créèrent des groupes de 60 poussins dont 30 étaient inoculés avec *Salmonella* Enteritidis et les autres considérés comme poussins contacts. Ces poussins recevaient ensuite pendant 21 jours des phages à différentes concentrations dans l'aliment ou aucun traitement. Concernant les comptages bactériens caeaux, les poussins ayant reçu un dosage de phages à 10^7 et 10^9 PFU/g présentaient des résultats significativement inférieurs à ceux du groupe contrôle. La contamination horizontale a bien eu lieu puisque les poussins contacts excrétaient des *Salmonella*. Cette fois, seuls les poussins contacts du groupe ayant reçu des phages à 10^9 PFU/g présentaient des comptages significativement inférieurs au groupe contrôle et 70% des poussins contacts n'avaient pas de salmonelles détectables. Enfin, toujours dans ce groupe, la contamination environnementale était significativement moindre. L'usage de bactériophages à travers l'alimentation apparaît donc comme une mesure prophylactique participant à réduire en partie les contaminations horizontales à partir d'une introduction d'animaux atteints. Il faut toutefois noter ici que seules les concentrations les plus importantes ont permis une différence significative avec le groupe témoin (286). En 2016, Ahmadi *et al* comparèrent l'usage thérapeutique et l'usage prophylactique d'une solution de bactériophages pour limiter la colonisation du tube digestif par *Salmonella* Enteritidis. Tandis qu'un usage thérapeutique conduisait à 100% des jeunes cailles étudiées excrétaient des salmonelles 7 jours après l'inoculation bactérienne, seules 20% en excrétaient après avoir reçu une prophylaxie à base de virus. Les résultats les plus satisfaisant étaient obtenus lors d'administration par voie orale (287). Les données concernant les études citées jusqu'ici dans cette partie sont résumées dans le tableau VIII.

Tableau VIII – Principales études concernant l’usage de la phagothérapie dans la lutte contre *Salmonella spp* en médecine aviaire

Référence	Berchieri <i>et al</i> (281) - 1991	Sklar <i>et al</i> (282) - 2001	Fiorentin <i>et al</i> (283) - 2005	Atterbury <i>et al</i> (284) - 2007	Borie <i>et al</i> (285) - 2009	Lim <i>et al</i> (286) - 2012	Ahmadi <i>et al</i> (287) - 2016
Type d'étude	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>in vivo</i>	<i>in vivo</i>
Bactérie(s) ciblée(s)	<i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Salmonella</i> Enteritidis	<i>Salmonella</i> Enteritidis	<i>Salmonella</i> Typhimurium, Hadar et Enteritidis	<i>Salmonella</i> Enteritidis	<i>Salmonella</i> Enteritidis	<i>Salmonella</i> Enteritidis
Phage(s) utilisé(s)	Phages ϕ AB2 et ϕ 2.2	Phages Felix O, P22 hc-2, cP11, cl-7 et isolés depuis l'environnement	Cocktail de trois virus	3 phages sélectionnés à partir de 232 isolés	cocktail de trois bactériophages	Bactériophage ϕ CJ07	Phage PSE (<i>Siphoviridae</i>)
Caractérisation	Lytiques	Lytiques	Lytiques	Lytiques	Lytiques	Lytique	Lytique
Animaux et groupes formés	Groupes de poussins âgés de un à deux jours	Groupes de poussins venant d'éclore	Trois groupes de 35 poussins d'un jour	324 poulets de chair divisés en 3 groupes	5 groupes de 33 oiseaux nouvellement éclos	Groupes de 60 poussins de un jour d'âge	Cailles
Protocole expérimental	Etude de la réduction du portage bactérien et de la mortalité. Inoculation de <i>Salmonella</i> Typhimurium suivie de l'inoculation du phage dans les 10 minutes.	5 essais cliniques : chacun contenant un témoin positif, un témoin négatif et un groupe traité par les phages. Différentes concentrations et voies d'administration sont testées.	Infection de 5 poussins à un jour d'âge dans chaque groupe. Contamination des autres par contact. Traitement par le cocktail de phages au septième jour de vie. Sacrifice de 5 oiseaux tous les 5 jours post-traitement	3 groupes de poulets infectés par un sérotype : Hadar, Enteritidis ou Typhimurium. Le phage correspondant est administré par gavage deux jours après l'inoculation bactérienne.	Comparaison entre les bactériophages et les probiotiques. 1 groupe témoin positif, un groupe témoin négatif, trois groupes infectés et traités par les phages, le probiotique ou la combinaison des deux	30 poussins de un jour inoculés avec <i>S. Enteritidis</i> puis mis en contact avec 30 autres poussins. Administration du phage ϕ CJ07 par l'alimentation à différentes concentrations selon le groupe pendant 21 jours. Un groupe n'est pas traité.	Comparaison de l'usage prophylactique et thérapeutique du bactériophage. Un usage prophylactique était ici assimilée à une administration SID pendant trois jours avant le challenge bactérien. Le groupe "thérapeutique" recevait le traitement après le challenge
Résultats	Transmission du bactériophage à des poussins contacts. Diminution significative de la mortalité lorsque le phage ϕ 2.2 est administré à la concentration de 10^{12} PFU/ml, Réduction des comptages bactériens de courte durée (moins de 24h).	Diminution significative des comptages caeucaux en salmonelles lorsque les animaux reçoivent les phages pendant toute la durée de l'étude (14 jours). Autres résultats non significatifs.	Diminution de 3,5 unités logarithmiques des comptages cinq jours après traitement. Toutefois, pas de différence significative au niveau de la contamination des organes et persistance du portage	Réduction significative des comptages en <i>S. Enteritidis</i> et Typhimurium dans les 3 jours suivant le traitement lorsque le phage est administré forte concentration : 10^{12} PFU/ml Dans les autres cas, absence de différence significative.	100% de poussins infectés sans traitement. Nombre de poussins infectés significativement plus faible lors de l'usage des deux modalités : 37,8%. Pas de différence significatives entre le groupe bactériophages et le groupe probiotique mais significativement moins infectés que le témoin.	Comptages caeucaux significativement plus faibles que le groupe témoin lorsque le phage est administré à ses plus fortes concentrations : 10^9 PFU/g ou 10^7 PFU/g. A la plus forte concentration, moindre contamination des poussins contacts	Lors d'usage thérapeutique 100% des cailles excrètent des salmonelles 7 jours après le challenge. Lors d'usage prophylactique seules 20% en excrètent.

Plusieurs préparations à base de bactériophages sont aujourd’hui en attente d’approbations par les instances réglementaires pour un usage en filière avicole. Nous pouvons notamment citer BAFASAL[®], produit en Pologne, ou SalmoFree[®] produit en Colombie (278, 288). SalmoFree[®] est un cocktail de 6 bactériophages et est le premier produit à vocation commerciale pour lequel une étude a été publiée. Il s’agit de la première étude à large échelle, puisqu’elle comprenait, au total, près de 35 000 poulets. Les auteurs travaillaient au sein d’un élevage avicole ayant, dans les 2 cycles de production précédents, présentés des détections de salmonelles. Les poulets traités recevaient SalmoFree[®] à travers l’eau de boisson à 18 jours, à 27 jours et à 35 jours, la veille du passage à l’abattoir. Un premier essai clinique n’était pas

exploitable puisqu'un épisode de mortalité a justifié l'administration d'antibiotiques dans deux des poulaillers. Au début du second essai clinique, tous les poulaillers présentaient une forte prévalence de *Salmonella*. Cette prévalence a fortement réduit jusqu'à la fin de l'étude mais il est impossible d'attribuer ce mérite uniquement aux phages car les poulaillers témoins ont eux aussi présenté une réduction significative (289). Concernant BAFASAL[®], il s'agit d'un cocktail de 4 phages anti-*Salmonella*. Les études réalisées par le laboratoire fabricant BAFASAL[®] n'ont pas révélé de toxicité aiguë, subaiguë, ou de génotoxicité tandis que les animaux tolèrent bien la solution même à une concentration 100 fois supérieure à celle recommandée. Les essais *in vitro* supposés mimer l'application du produit sur de l'aliment ont permis une diminution significative du nombre de salmonelles. *In vivo* le produit a permis une réduction significative de la quantité de salmonelles hébergées au niveau du caecum ainsi qu'une amélioration des paramètres zootechniques (290).

De ces études, il ressort donc que plusieurs modalités d'usage différentes des bactériophages seraient envisageables dans la lutte contre les salmonelles. Si la première se résume à la thérapie telle qu'envisagée par d'Hérelle, et à laquelle peu de travaux se sont consacrés, les études ci-dessus permettent d'entrevoir un usage des bactériophages pour tenter de maîtriser le portage chronique ou en tant que prophylaxie. Pour une population déjà contaminée par les salmonelles, il apparaît difficile de « stériliser » le tube digestif des oiseaux. La réduction du portage la plus efficace est alors réalisée avec des phages à haute concentration et s'applique transitoirement pendant 24 à 48 heures. L'intérêt de cette méthode serait ainsi de réduire la contamination des animaux juste avant leur passage à l'abattoir. La prophylaxie avec les bactériophages permettrait de réduire les risques d'installation de salmonelles dans une population lors d'introduction accidentelle en limitant la possibilité de colonisation du tube digestif et la transmission horizontale entre animaux. Cette prophylaxie peut être associée à d'autres méthodes comme la vaccination ou les probiotiques, avec lesquels une véritable synergie a été mise en évidence. Plusieurs préparations sont en cours de développement à destination des marchés européen et américain. Si l'innocuité de ces préparations ne semble pas remise en question, leur efficacité reste, pour certaines, à être démontrée. Des études complémentaires demeurent, dans tous les cas, nécessaires afin de déterminer comment, à quel moment et chez quels animaux l'administration des bactériophages serait la plus optimale. Les principales conclusions que nous pouvons tirer de ces études sont résumées dans le tableau IX.

Tableau IX – Caractéristiques principales de la phagothérapie ciblant *Salmonella spp.* chez les volailles

Caractère étudié	
Isolement des phages	Isolement facile à partir de l'environnement : eaux usées, fientes, poulaillers
Facteur de réduction du portage	Variable selon le protocole utilisé mais peut atteindre un facteur 100 à 1000
Durée de la réduction	Courte durée si population bactérienne déjà installée : réduction maximale atteinte en 24 à 48h
Arrêt du portage	Rare
Administration unique ou à long terme	Administration unique semble plus efficace pour réduire le portage
Concentration des phages	Haute concentration préférable
Spectre des phages	Large spectre préférable
Voie d'administration	Préférentiellement par voie orale. Possible par l'alimentation
Intérêt comparativement à d'autres méthodes de maîtrise	Semble être synergique avec les probiotiques. A déterminer pour les autres méthodes.
Réduction de la contamination environnementale et des animaux contacts	Réduction de la contamination environnementale lors d'administration à haute concentration

2- INFECTIONS PAR *CAMPYLOBACTER SPP.*

Les *Campylobacter* sont des bactéries Gram négatives et micro aérophiles. Elles sont thermophiles et leur optimum thermique se situe entre 37 et 42°C. *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* ont longtemps été considérées comme commensales du tube digestif des oiseaux, avec des contaminations plus importantes chez les oiseaux d'élevage du fait de leur plus grande densité. Dans les élevages, la prévalence est maximale au moment de l'abattage et la transmission horizontale serait la principale modalité de dissémination de cette bactérie. La plupart du temps, les *Campylobacter* ne causent pas de signes cliniques chez les oiseaux (291). Toutefois, des études récentes semblent convenir du fait que les *Campylobacter* pourraient être responsables d'entérites, de perte de poids ou de mortalité chez des jeunes poulets (292). Enfin, *Campylobacter hepaticus* serait responsable d'atteintes hépatiques graves dans les élevages en plein air australiens (291).

Le genre *Campylobacter* est la première cause de zoonose rapportée dans les 36 pays européens concernés par le rapport de l'*European Food Safety Authority*. En 2019, 60 cas pour 100 000 habitants ont été recensés. Le produit le plus souvent incriminé dans les cas de campylobactériose alimentaire est la viande de poulet (274). *Campylobacter jejuni* est retrouvée dans près de 90% des cas de campylobactériose confirmés mais *Campylobacter coli* peut aussi être impliquée. Chez l'homme, l'infection par *Campylobacter* est, la plupart du temps, auto-limitante en cinq à sept jours et s'exprime surtout par des signes digestifs tels que des crampes abdominales, de la diarrhée ou des vomissements, parfois en association avec de la fièvre. Toutefois, chez les personnes immunodéprimées, enceintes ou âgées,

l'infection peut être extradigestive et entraîner des méningites voire parfois être associée à des complications telles que le syndrome de Guillain-Barré ou des arthrites (293). Concernant l'antibiorésistance, il semblerait que *Campylobacter coli* ait une plus haute prévalence des phénotypes d'antibiorésistance que *Campylobacter jejuni*. Toutefois, les deux espèces bactériennes pourraient échanger des gènes d'où un risque d'augmentation de l'antibiorésistance. Les principaux antibiotiques concernés sont la ciprofloxacine et la tétracycline (275).

Le genre *Campylobacter* a principalement une importance en santé publique. La phagothérapie aurait donc pour but de maîtriser les populations bactériennes hébergées par la volaille pour en réduire le niveau de contamination au moment de l'abattage afin de diminuer les risques pour la suite de la chaîne de production. Certaines études estiment qu'une réduction de la contamination des carcasses d'un facteur 100 réduirait l'incidence de la campylobactériose humaine d'un facteur 30 (294). En plus de la phagothérapie, d'autres stratégies telles que l'antibioprévention, l'administration de probiotiques ou la vaccination ont été envisagées mais sont souvent coûteuses et rarement totalement efficaces (295).

A l'heure actuelle, plus de 170 phages spécifiques de *C. jejuni* ont pu être isolés (295). Une étude britannique menée sur 90 élevages avicoles a démontré que la présence de bactériophages ciblant *Campylobacter* peut entraîner une réduction significative du portage bactérien au niveau du caecum, pouvant parfois atteindre un facteur 100, par rapport à des populations non porteuses de bactériophages (296).

Une des premières études concernant l'usage des bactériophages contre *Campylobacter* en médecine aviaire a été réalisée en 2005 par Wagenaar *et al.* Dans leurs travaux, ils comparèrent l'utilisation thérapeutique à l'utilisation prophylactique de la phagothérapie pour diminuer les populations bactériennes chez de jeunes poulets. Dans le premier cas, les poulets recevaient un traitement avec des phages pour une durée de six jours une fois qu'une colonisation par la bactérie avait été établie. Dans le second cas, les poulets étaient traités pendant 10 jours avec une solution de phages puis étaient inoculés avec *Campylobacter jejuni* au 4^{ème} jour de ce traitement. Les résultats obtenus montraient que le traitement prophylactique n'a pas empêché l'installation de la bactérie mais qu'il maintenait des comptages bactériens en moyenne dix fois moins important que dans le groupe contrôle. Lors d'une utilisation thérapeutique, l'application des bactériophages entraînait une réduction des comptages bactériens d'un facteur 1000 qui se stabilisait ensuite à une valeur 10 fois inférieure à celle du groupe témoin. Appliquée chez des animaux en âge de passer à l'abattoir, la même méthode entraînait une diminution d'un facteur 30 qui se stabilisait encore une fois à une valeur 10 fois inférieure à celle du groupe témoin (297). La même année, Loc-Carillo *et al* tentèrent de réduire la contamination par deux souches de *C. jejuni* grâce à deux bactériophages différents administrés par voie orale avec une solution tampon. L'emploi de cette solution s'explique par la caractérisation préalable des deux virus qui étaient inactivés à un pH de 2,2 pouvant être rencontré au niveau du proventricule. *In vitro*, les deux souches

bactériennes étaient lysées par les deux phages choisis. *In vivo*, le phage CP8 ne s'est révélé efficace que contre une des deux souches. Toutefois, il avait alors permis une réduction des comptages bactériens d'un facteur 10^5 durant 24 heures. Le second phage s'était révélé efficace sur les deux souches bactériennes. Si un déclin initial était observé, les populations de bactéries recommençaient à croître après 72 heures. Enfin, des *Campylobacter* résistantes à l'infection par les virus furent isolées à une fréquence inférieure à 4%. Il faut noter que ces bactéries se révélaient moins capables de coloniser les tubes digestifs de poulets et qu'elles tendaient à retourner à un phénotype sensible aux phages (298). La capacité du phage CP220 à réduire la colonisation du tube digestif par *C. coli* et *C. jejuni* a été évaluée dans une étude de 2008. L'administration du phage à un titre de 10^7 ou 10^9 PFU permettait une réduction significative du nombre de *C. jejuni* entre $10^{1.9}$ et $10^{2.3}$ CFU/g. Trois jours après le traitement, les populations bactériennes recommençaient à croître. Concernant *Campylobacter coli*, l'administration de bactériophages à un titre de 10^9 PFU avait permis une réduction, 48 heures plus tard, s'échelonnant entre $10^{1.9}$ et $10^{3.7}$ CFU/g. La fréquence de résistance au phage de la souche de *C. jejuni* avait été évaluée à 2% (299). Toutes les expériences précédemment citées ont été réalisées en gavant les oiseaux. Si cette pratique permet de s'assurer que les animaux ont bien pris le produit à tester, il apparaît difficile de l'employer en pratique avicole courante. En 2010, Carvalho *et al* évaluèrent donc l'efficacité d'un cocktail de trois bactériophages administré à travers l'alimentation. Ils parvinrent à mettre en évidence une réduction significative du portage de *Campylobacter* en lien avec l'administration des bactériophages. Si la réduction était de $10^{1.7}$ CFU/g pour le groupe traité par gavage, celle du groupe traité par l'alimentation était de 10^2 CFU/g jusqu'à sept jours après l'administration. Ils rapportaient toutefois 13% de colonies résistantes aux bactériophages. Il semblerait que ces colonies puissent, *in vivo*, retourner à un phénotype sensible aux virus (300). Enfin, en 2013, Kitter *et al* ont appliqué pour la première fois des bactériophages au contexte d'un élevage. Ils réalisèrent trois essais cliniques en créant un groupe témoin et un groupe traité par un cocktail de quatre bactériophages dans des fermes. Dans le premier essai clinique, ils obtenaient une réduction significative des *Campylobacter* entre les deux groupes dès le lendemain de l'application des bactériophages où les bactéries étaient sous le seuil de détection pour le groupe traité. Jusqu'au passage à l'abattoir 6 jours plus tard, une réduction significative des *Campylobacter* caecaux d'environ un facteur 1000 pouvait être observée. Les autres groupes n'avaient pas permis de mettre en évidence des différences significatives. Ces différences d'efficacité pourraient s'expliquer en partie par une sensibilité différente des bactéries aux phages du cocktail. Les auteurs concluaient leur étude en affirmant que, lorsque le cocktail est efficace dans une population, le délai optimal d'application serait de 2 à 4 jours avant le passage à l'abattoir (301).

L'ensemble de ces études illustre donc le fait qu'obtenir une disparition totale du portage de *Campylobacter* est un objectif complexe à mettre en lien avec la grande adaptation de ces bactéries au tube digestif des volailles. Toutefois, la réduction du nombre de bactéries hébergées, et donc potentiellement contaminantes, permet d'espérer une diminution de l'incidence des cas humains (294). Si une « prophylaxie » semble complexe à mettre en place

du fait de l'imprévisibilité de l'introduction de *Campylobacter* au sein d'une population, un usage thérapeutique des bactériophages à un titre élevé avant le passage à l'abattoir pourrait être envisageable. Plusieurs études parviennent à diviser les populations bactériennes, parfois d'un facteur supérieur à 100, mais cette diminution n'est, souvent, que temporaire. La caractérisation d'un cocktail de bactériophages doit donc passer par des études permettant de déterminer quel est le moment le plus optimal pour l'administrer (295–301). Il convient de prendre en compte le fait que l'efficacité *in vitro* des bactériophages ne sera pas nécessairement la même *in vivo* (298). De plus, les cocktails nécessitent d'être étudiés *in vivo* car l'association de certains phages, qui ont des cinétiques différentes, peut entraîner une absence d'effet là où des phages seuls permettent une réduction (302). Il faut aussi noter que l'administration de bactériophages peut être réalisée par l'intermédiaire de l'aliment ou de l'eau de boisson mais que ces phages doivent avoir été sélectionnés pour leur stabilité (300, 301). Enfin, il apparaît que les bactériophages ne présentent pas d'effets secondaires chez les poulets et n'altèrent pas le reste de leur microbiote (303).

Plusieurs études soulignent l'apparition de résistances aux bactériophages s'échelonnant entre 2% et 13%. Si une prolifération d'un phénotype de résistance pourrait être à craindre, il convient de noter que, la plupart du temps, ces populations restent minoritaires à l'échelle des études et que, dans certains cas, les bactéries résistantes aux phages sont moins efficaces pour coloniser le tube digestif. De plus, une réversion vers un phénotype sensible aux virus est mise en évidence. Enfin, l'emploi des phages juste avant le passage à l'abattoir couplé à des mesures de biosécurité limite le risque de sélection et de propagation de ces phénotypes (298–300).

In fine, les chercheurs considèrent globalement aujourd'hui que la phagothérapie peut avoir un effet dans la réduction des *Campylobacter* lorsqu'elle est employée dans les 24 à 48 heures avant le passage des animaux à l'abattoir et lorsque les bactériophages sont administrés à de fortes concentrations. Toutefois, des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les interactions entre les phages et leurs hôtes et pour trouver la « recette » des cocktails les plus efficaces. Il semblerait que les meilleurs résultats puissent être obtenus lorsque les phages et leur hôte sont isolés à partir de l'environnement où la phagothérapie doit être utilisée (304, 305). Les données concernant la phagothérapie contre *Campylobacter* chez les volailles sont résumées dans le tableau X.

Tableau X – Bilan des principaux des apports de l'étude de la phagothérapie contre *Campylobacter* chez les volailles

Caractère étudié	
Isolement des phages	Plus de 170 phages déjà isolés. Préféablement à partir de l'environnement où la phagothérapie doit être appliquée
Réduction du portage	Possible, peut atteindre un facteur supérieur à 1000
Durée de la réduction	Réduction maximale 24 à 48h après administration. Persiste parfois jusqu'à sept jours mais recroissance bactérienne fréquente
Arrêt du portage	Rare
Concentration des phages	Préféablement haute
Voie d'administration	Possible par l'aliment ou l'eau de boisson mais les phages doivent être stables
Traitement prophylactique	N'empêche pas le portage
Apparition de résistances aux phages	Entre 2 à 13% des cas

3- INFECTIONS PAR *E. COLI*

Nous l'avons vu précédemment, l'importance médicale de *Escherichia coli* s'exprime principalement chez le porcelet et le veau par des diarrhées. En médecine aviaire en revanche, cette espèce bactérienne, essentiellement à travers les « avian pathogenic *Escherichia coli* » ou APEC, est responsable de diverses maladies telles que des septicémies, des aérosacculites, des péritonites ou encore des salpingites. Si autrefois les APEC n'étaient considérées que comme des agents pathogènes opportunistes, ces bactéries sont aujourd'hui incluses parmi les agents étiologiques primaires de ces affections. Etant une affection commune parmi les oiseaux d'élevage, la colibacillose est responsable de pertes économiques, tant liées à la mort des animaux qu'à une baisse des rendements. Ainsi, les animaux présentant une aérosacculite sont en moyenne moins lourds que les autres. La vaccination existe mais ne prend en charge qu'un nombre limité de souches. Concernant la sécurité sanitaire, la viande de volaille n'est pas considérée comme un des principaux réservoirs à STEC. Toutefois, les *Escherichia coli* hébergées par ces animaux pourraient être responsables d'affections extradigestives chez l'homme à l'instar de méningites ou d'infections urinaires (306).

Dès 1998, Barrow *et al*, se basant sur les travaux menés par Smith *et al* sur les veaux (216), utilisèrent des bactériophages ciblant les *Escherichia coli* afin de traiter des modèles de septicémie et de méningite chez des poulets. Ils inoculèrent des poussins nouvellement éclos et des poulets de trois semaines avec 10^6 CFU de *Escherichia coli* par voie intramusculaire pour le modèle de septicémie ou 10^3 CFU par voie intracrânienne pour le modèle de méningite. Les animaux recevaient simultanément une préparation de phage R par voie intramusculaire, dans un autre muscle. Sans traitement avec des bactériophages, les oiseaux se dégradèrent rapidement et présentaient les premiers symptômes après 12 heures dans le cas du modèle

de septicémie et après 8 heures pour la méningite. Tous les animaux non traités furent euthanasiés du fait de leur état clinique. En revanche, les chercheurs observaient des différences significatives dans les groupes traités, en particulier lorsque les plus fortes concentrations de bactériophages étaient utilisées. Avec des phages administrés à 10^6 et 10^4 PFU, aucun oiseau de trois semaines ne mourait dans le modèle de septicémie. Dans le cas du modèle méningite, chez les oiseaux de trois semaines, une dose de 10^8 PFU permettait une absence de mortalité tandis qu'on observait une différence significative avec le groupe témoin pour une dose de 10^8 et 10^6 PFU chez les poussins avec, malgré tout, une persistance de la mortalité au niveau de l'effectif. Cette première étude encourageante permet de mettre en lumière la capacité des phages à diffuser dans l'organisme, et en particulier dans ce cas appliqué au phage R, une potentielle capacité de passage à travers la barrière hémato-méningée. Si nous observons ici une protection des poulets par les phages, il convient de mettre en avant le fait que la bactérie et le virus ont été appliqués en même temps. Des études supplémentaires sont donc nécessaires pour déterminer si un usage similaire est réalisable sur des animaux présentant déjà des signes cliniques (307).

Après ces premiers travaux, Huff *et al* réalisèrent un travail conséquent sur l'usage des bactériophages comme thérapie face à la colibacillose, en explorant leur efficacité, les moyens d'administration, mais aussi l'interaction du système immunitaire avec les bactériophages (308–312). La première étude, réalisée en 2002, s'intéressait à la protection de poulets entre l'éclosion et trois semaines d'âge par les bactériophages face à des inoculations de *E. coli* dans les sacs aériens. Au cours de cette étude, l'administration des bactériophages à travers l'eau de boisson était évaluée. Les chercheurs commencèrent par isoler le bactériophage SPRO2 à partir d'eaux usées. Dans la première expérience, ils administrèrent une solution de ce bactériophage mélangée avec les bactéries devant inoculer les sacs aériens thoraciques. Dans ce cas, l'usage des bactériophages avait permis une réduction significative de la mortalité. En effet, lorsque les animaux témoins étaient inoculés avec 10^3 CFU, une mortalité de 80% était observée. En revanche, lorsque cet inoculât était mélangé avec 10^3 ou 10^6 PFU de SPRO2, la mortalité chutait à, respectivement, 25% et 5%. Lorsque les animaux témoins étaient inoculés avec 10^4 CFU, la mortalité atteignait 85%, cette valeur chutant à 35% et 0% lorsqu'un mélange était réalisé avec 10^4 ou 10^8 PFU. Toutefois, l'administration des bactériophages par l'intermédiaire de l'eau de boisson n'avait pas permis de protection (308). Si les auteurs voient dans cette étude un indice quant à la capacité de protection des phages, elle demeure très artificielle dans sa réalisation. En effet, l'administration du mélange des bactéries et des phages diminue l'importance de l'inoculât bactérien réalisé, le phage pouvant déjà infecter la bactérie avant même qu'elle n'ait pu s'installer. L'inefficacité des phages dans l'eau de boisson n'est que peu évoquée et l'origine d'un tel défaut n'est pas étudiée. Cela pourrait être causé par un manque de stabilité du virus dans les conditions dans lesquelles il se trouve, soit dans l'eau de boisson, soit lors du passage dans le tube digestif, ou alors par une incapacité de ce dernier à migrer vers les sacs aériens. La même année, ils développèrent un aérosol à partir de deux phages : SPRO2 ET DAF6. L'usage du spray permettait une réduction significative de la mortalité, d'autant plus marquée que le titre en phage utilisé était important. Ainsi pour un

titre en phages de 2.6×10^8 PFU/mL pour SPR02 et 2.35×10^9 PFU/mL pour DAF6, la mortalité était réduite significativement de 63% à 7%. Une différence significative était aussi observée lorsque les animaux étaient inoculés trois jours après l'usage de l'aérosol mais pas lorsqu'un intervalle de 24h est respecté, sans qu'aucune explication n'ait pu être mise en évidence (309). Cette étude permettait alors d'envisager une utilisation des bactériophages sous forme d'un aérosol, modalité bien plus intéressante qu'un usage parentéral en production avicole. Dans cette optique, la même équipe compara l'application de ces deux bactériophages par aérosol et par injection intramusculaire en 2003. Encore une fois, 10^4 CFU de *E.coli* étaient injectées dans un sac aérien thoracique. L'utilisation du spray ou l'injection intramusculaire était réalisée 2, 24 ou 48 heures après l'injection des bactéries. Le spray induisait une réduction significative de la mortalité de 50% à 20% lorsqu'il était utilisé le même jour que l'inoculation mais aucune différence significative n'était observée au-delà. En revanche, lorsque les phages étaient injectés par voie intramusculaire, une diminution significative de la mortalité était observée dans tous les cas (310). Ceci souligne donc toute l'importance des études *in vivo* et de comparer les modalités d'administration lorsque l'emploi de la phagothérapie est envisagé. En effet, si le spray permet certes une protection, celle-ci n'est observée que lorsque les animaux sont traités le jour même de l'inoculation bactérienne. Comparativement, une administration parentérale permet une protection significative s'étalant sur au moins 48 heures. Ce phénomène trouve probablement son origine dans le fait que la colibacillose conduisait ici à une infection systémique, la plupart des animaux morts présentant des signes de péricardite et d'hépatite, et que l'administration par l'intermédiaire du spray ne permettait pas d'atteindre des quantités de phages dans le sang suffisantes pour maîtriser l'infection. L'injection parentérale reste toutefois beaucoup plus compliquée à utiliser en élevage avicole. La poursuite de leurs études les mena à comparer les bactériophages à l'enrofloxacin, aujourd'hui classée parmi les antibiotiques d'importance critique. Les auteurs utilisaient, après challenge, soit de l'enrofloxacin distribuée pendant sept jours dans l'eau de boisson, soit une solution de bactériophages injectée par voie intramusculaire ou bien les deux traitements. La diminution de la mortalité était significative dans les deux cas où un traitement était utilisé. Sans traitement, 68% des animaux mourraient, avec des phages cette valeur chutait à 15% et avec de l'enrofloxacin, elle chutait à 3%. L'administration des deux spécialités conduisait à une absence de mortalité. L'antibiotique s'était ainsi révélé significativement plus protecteur que les bactériophages (311). L'auteur suggère après cette étude une potentielle synergie entre l'enrofloxacin et les phages. Il semble difficile de valider une telle assertion sans réaliser d'autres expériences du fait de l'absence de différence significative entre le groupe traité par l'enrofloxacin seule et le groupe traité avec les deux produits. Toutefois, dans une logique de réduction de l'utilisation des antibiotiques, nous pouvons voir ici les bactériophages comme une première modalité de traitement avant l'emploi des antibiotiques. Enfin, en 2010, Huff *et al* montrèrent qu'un traitement antérieur avec des bactériophages réduit l'efficacité des traitements ultérieurs. Ainsi, des poulets traités à 10 jours d'âge avec des phages et subissant une inoculation suivie d'un traitement une semaine plus tard ne présentaient pas de différence significative de mortalité avec un groupe

témoin infecté par *E. coli*. Les sérums de ces animaux contenaient de plus grande quantité d'immunoglobulines G anti-phages et *in vitro*, ce sérum inhibait l'activité des phages (312).

Huff *et al* ont donc mis en avant les capacités, mais aussi les limites des bactériophages. Si les bactériophages qu'ils ont isolés se sont bien révélés capables de protéger des animaux en réduisant la mortalité et la gravité de la colibacillose, leurs phages ne sont pas protecteurs lorsqu'ils sont administrés par l'eau de boisson et une injection intramusculaire assure une protection plus longue que l'usage d'un aérosol (308–310). Ces deux faits sont limitants dans la filière agricole puisqu'une administration parentérale est beaucoup plus contraignante à réaliser lors d'affections à l'échelle de troupeaux pouvant compter plusieurs milliers d'individus. De plus, le système immunitaire inhibe l'activité des bactériophages présentés (312). Malheureusement, cette étude ne nous permet pas d'estimer si cette inhibition est spécifique aux phages utilisés ni la durée de la persistance des anticorps. L'injection de virus s'est aussi révélée moins efficace que l'usage d'enrofloxacin (311). Toutefois, il conviendrait aujourd'hui de comparer les bactériophages avec un antibiotique non critique utilisé pour le traitement de la colibacillose. De plus, l'affirmation selon laquelle l'enrofloxacin et les phages auraient une activité synergique nécessite des études complémentaires pour pouvoir être validée. Cela n'exclue pas une utilisation des bactériophages en tant que premier outil thérapeutique dans une logique de réduction globale de l'antibiothérapie.

Si les travaux de Huff *et al* représentent un pan conséquent de la recherche autour de la colibacillose, d'autres recherches menées depuis permettent aujourd'hui de les compléter. Ainsi, en 2010, Oliveira *et al* utilisèrent un cocktail de 3 bactériophages isolés depuis des poulaillers qu'ils administraient soit directement par voie orale, soit par l'intermédiaire d'un spray. Ils parvenaient ainsi à obtenir une réduction significative de la mortalité et de la morbidité. Par la suite, en utilisant ce même cocktail dans des exploitations naturellement infectées, la plupart des troupeaux de 10 000 poulets voyaient leur nombre de morts associés à de la colibacillose diminuer sous la barre des 0.5%. Toutefois, en l'absence de groupe témoin, il est difficile d'estimer si cette régression est le fait des bactériophages ou de l'évolution naturelle de la maladie dans un troupeau (313). Au contraire, malgré des bactériophages actifs contre *E. coli in vitro*, Tsonos *et al* ne parvinrent pas à obtenir un effet protecteur de ces derniers *in vivo* (314). Enfin, El-Gohary *et al* parvinrent à réduire la mortalité liée à la colibacillose grâce à un spray de bactériophage appliqué sur une litière contaminée par *E. coli*. Lorsqu'au sein de l'effectif étaient présents des oiseaux déjà infectés et excrétaient des bactéries, la solution de bactériophage permettait une réduction numérique de la mortalité mais sans que cela puisse être démontré statistiquement (315). Les travaux cités ci-dessus sont résumés dans le tableau XI.

Tableau XI – Principales études menées sur l’usage de phagothérapie contre la colibacillose aviaire

Référence	Barrow <i>et al</i> (307) - 1998	Huff <i>et al</i> (308) - 2002	Huff <i>et al</i> (309) - 2002	Huff <i>et al</i> (310) - 2003	Huff <i>et al</i> (311) - 2004	Oliveira <i>et al</i> (313) - 2010	Tsonos <i>et al</i> (314) - 2014	El-Gohary <i>et al</i> (315) - 2014
Type d'étude	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i> et <i>in vivo</i>	<i>in vivo</i>	
Bactérie(s) ciblée(s)	<i>E. coli</i> O18:K1:H7	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O78	<i>E. coli</i>
Phage(s) utilisé(s)	Phage R	Phage SPR02	Phages SPR02 et DAF6	Phages SPR02 et DAF7	Phages SPR02 et DAF8	ΦF78E (<i>Myoviridae</i>) ΦF258E (<i>Siphoviridae</i>) et ΦF61E (<i>Myoviridae</i>)	ΦAPEC2, ΦAPEC5, ΦAPEC7 et ΦAPEC9	Phage SPR02
Caractérisation	Lytique	Lytique	Lytique	Lytique	Lytiques	Lytiques	Lytiques	Lytique
Animaux et groupes formés	30 poulets âgés de trois semaines et 50 poussins nouvellement éclos	780 poulets âgés de quelques heures à 3 semaines	810 poussins	630 poussins	320 poussins	28 poulets de 10 semaines et 11 bandes de poulets avec des historiques d'infection par <i>E. coli</i>	59 poulets répartis en 6 groupes	620 poussins
Protocole expérimental	Inoculation IM des poulets avec <i>E. coli</i> dans le gastrocnémien gauche ou injection intracrânienne. Simultanément : injection de la préparation de phages dans le gastrocnémien droit	Injection de préparations de <i>E. coli</i> et de bactériophages (ou non) au niveau des sacs aériens des poulets. Puis tentative d'administration du phage dans l'eau de boisson	Administration des bactériophages à travers un aérosol à 7 jours d'âge. Inoculation de <i>E. coli</i> au septième, huitième ou 10 ^{ème} jours de vie.	Comparaison de l'usage de l'aérosol et de l'injection intramusculaire des bactériophages. Inoculation des <i>E. coli</i> dans un sac aérien thoracique puis usage de l'aérosol ou de la solution de phages IM 2, 24 ou 48 heures plus tard	Comparaison des bactériophages et de l'enrofloxacin. Inoculation des <i>E. coli</i> dans un sac aérien thoracique au septième jour de vie. Le même jour, administration des phages, d'enrofloxacin ou de la combinaison des deux par voie IM.	Test de l'efficacité du phage ΦF78E pour réduire la mortalité de poulets de 10 semaines suite à inoculation de <i>E. coli</i> dans un sac aérien. Test du cocktail à large échelle dans des élevages avicoles.	Inoculation intratrachéale par <i>E. coli</i> à 4 semaines d'âge. Deux heures après infection, inoculation du cocktail de phage par voie intratrachéale, intraoesophagienne ou par l'eau de boisson	Etude de l'effet des bactériophages appliqués en spray sur une litère contaminée par <i>E. coli</i> .
Résultats	Lorsque les plus fortes concentrations de phages étaient utilisées, diminution significative de la mortalité. Diffusion supposée du phage R à travers la barrière hémato-encéphalique. Toutefois, effectifs petits (groupes de 5 à 10 animaux)	Diminution significative de la mortalité lorsque les préparations de bactériophages sont mélangées à celles de <i>E. coli</i> . Absence de protection lors de l'administration des phages par l'eau de boisson. Etude "artificielle" dans sa réalisation car pré-mélange des phages et des bactéries avant inoculation	Diminution significative de la mortalité lorsque les concentrations en phage dans l'aérosol sont les plus fortes et lorsque l'inoculation à lieu trois jours après l'usage de l'aérosol.	Réduction significative de la mortalité par le spray lorsqu'utilisé le jour même (mortalité passant de 50% à 20%). Absence de différence significative au-delà. Diminution significative dans tous les cas lors d'usage des phages par voie IM	Diminution significative de la mortalité (60% sans traitement) lors de l'usage des phages (15% de mortalité), de l'enrofloxacin (3% de mortalité) ou du cumul des deux (0%). Enrofloxacin significativement plus protectrice que les phages. Les auteurs suggèrent une synergie mais non prouvée par des résultats significatifs.	Réduction significative de la mortalité des poulets inoculés. Réduction de la mortalité dans les bandes infectées (plusieurs troupeaux de 10 000 poulets). Conclusion difficile car absence de groupe témoin.	Absence d'effet protecteur et d'amélioration du GMQ	Réduction significative de la mortalité associée à la contamination par la litère. Toutefois, si présence de poussins excréteurs dans le lot, réduction numérique de la mortalité mais non significative statistiquement

Plusieurs études semblent montrer une potentielle utilité des bactériophages dans la lutte contre la colibacillose aviaire, tant en tant que traitement des animaux qu'en application dans l'environnement. Toutefois, certains points doivent encore être élucidés. Les études *in vivo* restent nécessaires afin de déterminer si un ou des virus capables de lysier les souches considérées *in vitro* auront un intérêt thérapeutique (314). Si certains virus peuvent être utilisés uniquement par voie parentérale, il semble que d'autres soient efficaces lorsqu'ils sont administrés dans l'eau de boisson (308, 313). Pour espérer un usage en routine dans les élevages comptant plusieurs milliers d'individus, cette dernière condition paraît nécessaire. Enfin, il reste à déterminer dans quelle mesure un traitement de l'environnement par les phages serait intéressant (313, 315).

4- LUTTE CONTRE LES CLOSTRIDIOSES

Le genre *Clostridium* englobe un large de groupe de bactéries Gram positives. Ce sont toutes des bactéries anaérobies capables de sporuler lorsqu'elles sont placées en condition de stress. Certaines espèces du genre *Clostridium* revêtent un important caractère pathogène, notamment à cause de la production de toxines. Les plus représentatives sont notamment *Clostridium botulinum* ou *Clostridium tetani*. En médecine aviaire, les principales clostridies d'intérêt sont *C. perfringens*, *C. colinum*, *C. botulinum* et *C. septicum* responsables respectivement d'entérites nécrotiques, d'entérites ulcératives, du botulisme et de dermatites. Dans la suite de cette étude, nous évoquerons principalement le cas de *Clostridium perfringens* contre laquelle l'usage de la phagothérapie a été la plus étudiée. *Clostridium perfringens* peut aussi entraîner des affections chez l'être humain par la libération d'entérotoxines au moment de la sporulation et a donc une importance sanitaire (316).

Des bactériophages ayant une activité lytique contre *C. perfringens* ont été isolés à partir d'échantillons de sol, de litière et d'eaux usées provenant d'exploitations avicoles mais aussi à partir de contenu intestinal de poulets. La recherche se concentre aussi sur la recherche d'endolysines (317).

L'utilisation d'un cocktail de cinq bactériophages à large spectre a déjà réussi à montrer un effet protecteur contre une infection expérimentale par *C. perfringens*. Le cocktail administré par gavage permettait une réduction significative de la mortalité de 92%. Un deuxième protocole expérimental mettait en avant la possibilité de l'administration du cocktail de bactériophages par l'intermédiaire de l'eau de boisson ou l'aliment. La mortalité était là aussi significativement inférieure et les paramètres zootechniques meilleurs que dans les groupes témoins (318). En 2018, deux bactériophages ont été utilisés seuls ou en combinaison avec une bactériocine pour évaluer leur intérêt dans la lutte contre *C. perfringens*. Utilisés seuls, les phages permettaient une réduction des comptages bactériens d'un facteur $10^{4.41}$ pour le phage A3 et $10^{1.36}$ pour le phage P4 tandis que la bactériocine permettait une réduction d'un facteur $10^{3.80}$. La combinaison des trois entités permettait une diminution de la population bactérienne d'un facteur 10^6 . Ainsi, l'utilisation des phages et de la bactériocine permettait une meilleure action sur *C. perfringens*, ouvrant la voie à la recherche d'autres associations de moyens de contrôle de cette bactérie (319).

Concernant les endolysines, plusieurs études réussirent à isoler ces molécules produites par les phages et permettant la destruction des bactéries. Par exemple, l'enzyme Ply3626 issue du phage 3626 a été caractérisée comme une hydrolase du peptidoglycane et a pu être exprimée par des *E. coli*. Cette enzyme est spécifique des paroi cellulaires de *C. perfringens* et avait permis la lyse de 48 souches de *C. perfringens* (320). D'autres endolysines ont été caractérisées et exprimées. Si certaines sont spécifiques de *Clostridium perfringens*, d'autres présentent un spectre plus large pouvant affecter d'autres espèces du genre *Clostridium* voire s'attaquer à d'autres bactéries Gram positives. La cinétique d'action des endolysines n'est aussi pas la même selon les souches concernées (321, 322). L'endolysine

CP25L a, par ailleurs, été intégrée à des souches de *Lactobacillus johnsonii* afin de permettre une sécrétion spontanée et d'utiliser ces souches pour contrôler les populations de *C. perfringens* dans le tube digestif (322).

5- USAGE DES BACTERIOPHAGES EN TANT QUE PROMOTEURS DE CROISSANCE

Les antibiotiques étaient utilisés en routine dans l'aviculture pour éviter l'apparition de certaines maladies mais aussi en tant que promoteurs de croissance puisqu'ils permettaient d'améliorer les paramètres zootechniques des élevages. En particulier, l'usage des antibiotiques à doses sub-thérapeutiques permet une augmentation du gain moyen quotidien et de la valorisation de l'aliment, tout en limitant l'incidence de certaines pathologies. Cela permet donc une augmentation de la rentabilité de l'élevage. Toutefois, l'utilisation de ces antibiotiques sur de longues périodes et à de petites doses a aussi favorisé la sélection de phénotypes d'antibiorésistance au sein des populations bactériennes (323). Devant cet état de fait menaçant tant l'efficacité des antibiotiques en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine, l'utilisation des antibiotiques en tant que promoteurs de croissance a été interdite en Europe en 2006 (236). Cette interdiction tend aujourd'hui à s'étendre à la plupart des pays du globe (238).

Plusieurs alternatives aux antibiotiques ont donc été recherchées comme les probiotiques, les prébiotiques, l'usage d'acidifiants dans l'aliment ou encore l'usage des bactériophages (323). Si plusieurs études ayant été évoquées dans les paragraphes précédents contrôlaient les paramètres zootechniques pour montrer une absence d'effet négatif de l'administration de bactériophages sur ces-derniers, les études cherchant à montrer un effet positif sont moins nombreuses.

En 2013, une étude suivit les performances de croissance de 720 poulets d'un jour pendant 32 jours. Les poulets des groupes traités recevaient soit de la bacitracine à 0.5g/kg d'aliment, soit un cocktail de bactériophages ciblant *S. Gallinarum*, *S. Typhimurium* et *S. Enteritidis* à la dose de 0,25 g/kg d'aliment ou à celle de 0.5 g/kg d'aliment. Au cours de cette étude, ni les antibiotiques ni les phages ne permettaient une différence significative de la prise de masse corporelle ni de la fraction ingérée. Toutefois, la plus haute concentration en bactériophages permettait une légère amélioration de la valorisation de l'aliment pendant les 15 premiers jours de l'étude (324). Un effet faible mais demeurant significatif avait donc pu être mis en avant lors de cette étude avec la concentration de phages la plus importante. La moindre sensibilité des animaux plus âgés aux bactéries peut potentiellement expliquer le fait que cet effet s'estompe au fil de l'expérience. En 2021, une autre étude utilisa un protocole très similaire mais avec un cocktail ciblant, en plus des salmonelles précédemment citées, *E. coli* et *C. perfringens*. *In fine*, après 35 jours d'étude, les groupes traités avec des phages n'ont pas présenté de différence statistique significative avec le groupe témoin même si les paramètres semblaient légèrement meilleurs, en particulier lorsque les phages étaient utilisés

à la plus forte concentration (325). Ces deux expériences ne permettent pas de mettre en avant d'effet significatif de la phagothérapie lorsque les bactériophages sont utilisés comme promoteurs de croissance chez les poulets de chair. Une légère tendance à l'amélioration des paramètres zootechniques a été observée dans l'étude de 2021 mais d'autres études sont nécessaires afin de déterminer s'il s'agit de quelque chose de significatif ou non.

Enfin, les bactériophages ont aussi été expérimentés chez les poules pondeuses. L'utilisation de trois différentes concentrations d'un cocktail de bactériophages a été comparée à un groupe témoin chez des poules pondeuses de 36 semaines. Le cocktail ciblait spécifiquement *S. Gallinarum*, *S. Typhimurium* et *S. Enteritidis*. Les paramètres évalués étaient la production d'œufs et leur qualité définie par leur couleur, la résistance de leur coquille ou leur poids. Globalement, la supplémentation alimentaire avec des phages a permis une petite augmentation significative du nombre d'œufs produits par poule au cours des 6 semaines de l'étude. En revanche, aucune différence sur le poids des œufs n'a été mise en évidence. Le reste des autres paramètres ne présentaient pas non plus de différence significative (326). Il semble donc qu'une supplémentation alimentaire avec des bactériophages puisse, par certains aspects, améliorer la production des poules pondeuses. Toutefois, de nombreuses questions restent en suspens, notamment quels sont les mécanismes impliqués et surtout si une telle utilisation est, à terme, rentable. Tant pour les poules pondeuses que pour les volailles de chair, des études complémentaires sont nécessaires avant de pouvoir affirmer avec certitude si les phages présentent dans ce contexte un intérêt ou non.

Points essentiels : La phagothérapie en médecine aviaire

- L'élevage avicole présente une diversité importante des espèces concernées et des méthodes d'élevage employées (189). Le rôle du vétérinaire s'inscrit ici aussi dans la maitrise des affections à l'échelle du troupeau.
- Comme en élevage porcin, l'usage en routine des antibiotiques s'est imposé en élevage aviaire dans les années 1950-1960 (237) mais l'augmentation du risque associé à l'antibiorésistance a conduit les pays européens à limiter leur usage en 2006. Ces restrictions s'étendent au reste du monde (238).
- Plusieurs agents pathogènes associés aux volailles présentent un caractère zoonotique. C'est en particulier le cas des *Campylobacter* et des *Salmonella*, les deux principales zoonoses recensées en Europe. La viande de poulet est considérée comme le principal moyen de contamination par *Campylobacter* (274,275).
- Plusieurs serovars de *Salmonella* peuvent infecter les poules. Si certains ont une importance médicale chez les volailles, la plupart représentent un risque pour l'homme à travers la contamination des œufs ou de la viande (274,277). Cette importance sanitaire et médicale se transcrit à travers la réglementation qui classe certaines salmonelles en dangers sanitaires de première catégorie ou en dangers sanitaires de deuxième catégorie (276).
- La réduction du portage asymptomatique de *Salmonella* au niveau du tube digestif des volailles semble être possible grâce à l'usage de préparations de bactériophages avec une forte concentration. La réduction est transitoire. L'intérêt de telles préparations résiderait alors dans un emploi 24 à 48 heures avant le passage à l'abattoir pour réduire la contamination du reste de la chaîne (281,283,285). Un emploi prophylactique semble réduire la transmission horizontale de *Salmonella* et la contamination environnementale (285-287).
- Plusieurs produits sont aujourd'hui en attente d'approbation pour un usage en élevage contre les *Salmonella*. Si leur innocuité ne semble pas sujette au doute, leur utilité reste parfois à être démontrée (289,290).
- *Campylobacter jejuni* et *coli* ont principalement une importance sanitaire (291,293). Il est estimé qu'une réduction de la contamination des carcasses de poulets d'un facteur 100 réduirait l'incidence des campylobactérioses humaines d'un facteur 30 (294). Le traitement des animaux est possible à travers l'alimentation mais les phages doivent être assez stables pour cela. La réduction du portage asymptomatique est réalisable par l'usage de phages mais ces derniers doivent être administrés à de hautes concentrations et la réduction maximale est obtenue la plupart du temps 2 à 4 jours après le traitement (297-305).
- Les APEC sont responsables de multiples affections chez les volailles : aérosacculites, septicémies, péritonites ... (306). Les résultats obtenus lors de l'utilisation des bactériophages en cas de colibacillose sont assez divergents et des études complémentaires sont nécessaires (307-315). Il apparaît aussi que le système immunitaire puisse limiter l'efficacité ultérieure des phages (312).
- Plusieurs bactériophages ciblant *Clostridium perfringens* ont été isolés (317). Des cocktails de phages ont notamment permis une protection de poulets contre une infection expérimentale et la réduction de comptages bactériens (318,319). Un autre axe de recherche concerne les enzymes s'attaquant à la paroi bactérienne des clostridies. Plusieurs de ces molécules ont été isolées et produites. Elles pourraient à terme être utilisées comme « enzybiotiques » (320-322).
- L'usage des bactériophages en tant que promoteurs de croissance n'a pas permis de montrer de véritable effet positif marqué si ce n'est une faible augmentation de la production d'œufs (326) ou de la valorisation de l'aliment limitée à quelques jours (324,325).

CONCLUSION

A travers les différentes parties de ce travail, nous avons vu que, même si l'usage thérapeutique des bactériophages est expérimenté depuis un siècle, une bonne connaissance de ces derniers est essentielle pour espérer un succès thérapeutique.

Contrairement aux antibiotiques, les bactériophages sont des entités biologiques et ont la capacité de se multiplier *in situ*. De plus, plusieurs types de bactériophages existent et il apparaît aujourd'hui que les plus intéressants pour un usage thérapeutique sont les phages accomplissant un cycle strictement lytique (12). Les principaux avantages, mais aussi les principales limites des bactériophages résident dans leur spectre d'hôte étroit, issu de leur spécificité pour les récepteurs. L'étroitesse de ce spectre limite leurs effets secondaires. L'absence d'activité des phages sur les populations bactériennes commensales non-ciblées limite les risques de dysbiose et la sélection de phénotypes antibiorésistants. Toutefois, un tel spectre implique que l'emploi des phages est conditionné par la caractérisation de l'espèce, voire de la souche bactérienne pathogène sous peine d'échec thérapeutique. Les effets secondaires et toxiques des bactériophages semblent très limités, en particulier aujourd'hui avec l'emploi de productions répondant aux bonnes pratiques de fabrications et purifiés d'éventuels contaminants et endotoxines (12, 141).

En médecine vétérinaire, nous pouvons distinguer deux types d'études. Les premières se concentrent sur une maladie telles que les mammites bovines, les pyodermites, les otites ou les diarrhées néo-natales. Les secondes concernent des bactéries zoonotiques telles que *E. coli* O157 :H7 ou les salmonelles. Même si des essais cliniques manquent, certains des travaux cités ci-dessus semblent laisser entrevoir, sous quelques années, l'usage des bactériophages chez les animaux de compagnie ou de rente. Cela s'applique surtout à des traitements locaux tels que les otites, les pyodermites ou les mammites (159, 204, 207). Notons aussi l'intensification des recherches autour des enzymes dérivées de bactériophages. Dans le cas du portage asymptomatiques de bactéries, il semblerait qu'une administration dans les 24 à 48 heures avant le passage à l'abattoir soit le plus efficace pour diminuer les risques de contamination des viandes.

De nombreuses interrogations demeurent cependant. Peu d'essais cliniques ayant été réalisés, ils demeurent plus que jamais nécessaires pour envisager une commercialisation de médicaments à base de bactériophages. De plus, la pharmacologie des bactériophages reste un domaine de recherche important puisqu'elle est fondamentalement différente de celles des xénobiotiques, principalement à cause de la nature biologique des virus et par leur capacité de multiplication *in situ* qui modifie fortement leur métabolisme. Elle apparaît aussi différente entre chaque phage d'où la difficulté de tirer des théorèmes généralisables à tous.

Quel est donc l'avenir des bactériophages en médecine ? Les bactériophages ne doivent pas être perçus comme la panacée et ne remplaceront jamais totalement les antibiotiques. Aujourd'hui les principaux verrous que nous pouvons définir et qui limitent leur utilisation sont au nombre de quatre. Le premier est le manque d'essais cliniques multicentriques et en double aveugle prouvant l'efficacité des préparations bactériophagiques. Le second est un aspect purement réglementaire et législatif. En effet, les préparations bactériophagiques doivent, dans l'idéal, être préparées « sur mesure » pour être

adaptées au patient et à la bactérie ciblée. Le cadre législatif actuel encadrant les produits médicamenteux rend difficile un tel usage et ceci pousse certains chercheurs à demander une modification de ce dernier pour les bactériophages, puisqu'ils les considèrent radicalement différents des xénobiotiques. Le troisième est un aspect financier. Nous l'avons vu, la recherche concernant les antibiotiques s'est amenuisée en partie à cause du manque de rentabilité associé au développement de nouvelles molécules. Il est difficile d'imaginer des groupes pharmaceutiques développer des produits bactériophagiques si la rentabilité associée n'est pas suffisante (64, 65). Enfin, la dernière limite est une limite sociétale. En effet, l'épidémie de SARS-CoV-2 a mis en exergue la défiance d'une certaine partie de la société occidentale vis-à-vis des médecins et des groupes pharmaceutiques. Il est légitime de se demander quelles réactions pourraient être suscitées par l'usage thérapeutiques de virus. L'usage, certes erroné, du terme « bactériophages » à la place de « bactériovirus » pourrait alors se révéler un avantage.

Toutefois, des résultats encouragent à considérer la phagothérapie comme une alternative aux antibiotiques dans une optique de lutte contre l'antibiorésistance, voire à envisager une utilisation conjointe de ces deux types de traitement (12). Le cadre réglementaire s'ouvre peu à peu aux phages et les essais cliniques, notamment ceux autorisés récemment par l'Agence Européenne du Médicament à l'entreprise Pherecydes Pharma, devraient permettre de définir les règles pour utiliser ces virus (74). L'avenir d'entreprises telles que Vetophage ou Pherecydes Pharma et d'essais cliniques, comme ceux encadrés par l'Agence Nationale de Sécurité Médicament et des produits de santé (ANSM) (73), conditionnera probablement l'avenir de la phagothérapie, tout comme le financement d'initiatives portées par des laboratoires publics comme le projet PHAG-ONE, visant à développer en France l'accès à la phagothérapie par la mise en place d'une plate-forme nationale de production de phages thérapeutiques.

La multiplication des travaux autour de la phagothérapie est une condition nécessaire avant d'en envisager un usage en routine. Il conviendra de les mener et de les analyser sans optimisme démesuré ou affirmations erronées mais aussi sans scepticisme dogmatique pour éviter les écueils qui ont conduit, il y a un siècle, à la disparition de ce champs disciplinaire du monde occidental (59).

BIBLIOGRAPHIE

- 1- SALMOND, G. P. C. et FINERAN, P. C. « A century of the phage : past, present and future ». *Nature Reviews. Microbiology* [en ligne]. 2015, Vol. 13, n° 12, p. 777-786. DOI [10.1038/nrmicro3564](https://doi.org/10.1038/nrmicro3564)
- 2- FORTERRE, P. et KRUPOVIČ, M. Chapitre 19 - Les virus : leur nature et Origine. Dans : *Panorama de la virologie*. Paris : Belin, 2013, p. 186-189. ISBN 978-2-7011-5884-6
- 3- OFIR, G. et SOREK, R. « Contemporary Phage Biology: From Classic Models to New Insights ». *Cell* [en ligne]. 08 2018, Vol. 172, n° 6, p. 1260-1270. DOI [10.1016/j.cell.2017.10.045](https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.10.045)
- 4- ACKERMANN, H.-W. « Phage classification and characterization ». *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* [en ligne]. 2009, Vol. 501, p. 127-140. DOI [10.1007/978-1-60327-164-6_13](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_13)
- 5- LEFKOWITZ, E. J., DEMPSEY, D. M., HENDRICKSON, R. C., ORTON, R. J., SIDDELL, S. G. et SMITH, D. B. « Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) ». *Nucleic Acids Research* [en ligne]. Janvier 2018, Vol. 46, n° D1, p. D708-D717. DOI [10.1093/nar/gkx932](https://doi.org/10.1093/nar/gkx932)
- 6- ACKERMANN, H.-W. « 5500 Phages Examined in the Electron Microscope ». *Archives of Virology* 152, n° 2 (1 février 2007): 227-43. <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0849-1>.
- 7- ZAMBORLINI, A. et BASMACIOGULLARI, S. Chapitre 2 - Les stratégies de réplication virale. In : *Panorama de la virologie*. Paris : Belin, 2013. pp. 25-27. ISBN 978-2-7011-5884-6.
- 8- SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS. *Viral attachment to host cell ~ ViralZone*. [en ligne]. 21 octobre 2021. [Consulté le 21 octobre 2021]. Disponible à l'adresse: <https://viralzone.expasy.org/956>
- 9- RAKHUBA, D. V., KOLOMIETS, E. I., DEY, E. S., et NOVIK, G. I. « Bacteriophage Receptors, Mechanisms of Phage Adsorption and Penetration into Host Cell ». *Polish Journal of Microbiology* 59, n° 3 (2010): 145-55.
- 10- LETAROV, A. V. et KULIKOV, E. E. "Adsorption of Bacteriophages on Bacterial Cells". *Biochemistry. Biokhimiia*. décembre 2017. Vol. 82, n° 13, pp. 1632-1658. DOI [10.1134/S0006297917130053](https://doi.org/10.1134/S0006297917130053).
- 11- SJAHRIANI, T., WASITO, E.B. et TYASNINGSIH, W. « The Analysis of OmpA and Rz/Rz1 of Lytic Bacteriophage from Surabaya, Indonesia ». *Scientifica* [en ligne]. Décembre 2021, Vol. 2021, p. 7494144. DOI [10.1155/2021/7494144](https://doi.org/10.1155/2021/7494144)
- 12- KORTRIGHT, K. E., CHAN, B. K., KOFF, J. L., et TURNER, P. E. « Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria ». *Cell Host & Microbe* 25, n° 2 (13 2019): 219-32. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.014>.
- 13- PADILLA-SANCHEZ, V. "Structural Model of Bacteriophage T4". *WikiJournal of Science*. 5 août 2021. Vol. 4, n° 1, pp. 5. DOI [10.15347/WJS/2021.005](https://doi.org/10.15347/WJS/2021.005).
- 14- FURUKAWA, H., et MIZUSHIMA, S. « Roles of Cell Surface Components of Escherichia Coli K-12 in Bacteriophage T4 Infection : Interaction of Tail Core with Phospholipids ». *Journal of Bacteriology* 150, n° 2 (mai 1982): 916-24. <https://doi.org/10.1128/JB.150.2.916-924.1982>.

- 15- YAP, M. L. et ROSSMANN, M. G. « Structure and function of bacteriophage T4. » *Future microbiology* [en ligne]. Octobre 2014, Vol. 9, p. 1319-1327. DOI [10.2217/fmb.14.91](https://doi.org/10.2217/fmb.14.91)
- 16- BROWN, R., LENGELING, A., et WANG, B. « Phage Engineering: How Advances in Molecular Biology and Synthetic Biology Are Being Utilized to Enhance the Therapeutic Potential of Bacteriophages ». *Quantitative Biology* 5, n° 1 (1 mars 2017): 42-54. <https://doi.org/10.1007/s40484-017-0094-5>.
- 17- HU, B., MARGOLIN, W., MOLINEUX, I.J. et LIU, J. "Structural remodeling of bacteriophage T4 and host membranes during infection initiation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1 septembre 2015. Vol. 112, n° 35, pp. E4919-4928. DOI [10.1073/pnas.1501064112](https://doi.org/10.1073/pnas.1501064112).
- 18- MOAK, M. et MOLINEUX, I. J. « Peptidoglycan hydrolytic activities associated with bacteriophage virions. » *Molecular Microbiology* [en ligne]. Février 2004, Vol. 51, n° 4, p. 1169-1183. DOI [10.1046/j.1365-2958.2003.03894.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03894.x)
- 19- HU, B., MARGOLIN, W., MOLINEUX, I.J., et LIU, J. « The Bacteriophage T7 Virion Undergoes Extensive Structural Remodeling During Infection ». *Science* 339, n° 6119 (1 février 2013): 576-79. <https://doi.org/10.1126/science.1231887>.
- 20- DAVIDSON, A. R., CARDARELLI, L., PELL, L. G., RADFORD, D. R. et MAXWELL, K. L. « Long noncontractile tail machines of bacteriophages. » *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2012. Vol. 726, pp. 115-142. DOI [10.1007/978-1-4614-0980-9_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0980-9_6).
- 21- DAUGELAVIČIUS, R., CVIRKAITĖ, V., GAIDELYTĖ, A., BAKIENĖ, E., GABRĖNAITĖ-VERKHOVSKAYA, R. et BAMFORD, D. H. « Penetration of Enveloped Double-Stranded RNA Bacteriophages ϕ 13 and ϕ 6 into *Pseudomonas syringae* Cells ». *Journal of Virology* [en ligne]. Avril 2005, Vol. 79, n° 8, p. 5017-5026. DOI [10.1128/JVI.79.8.5017-5026.2005](https://doi.org/10.1128/JVI.79.8.5017-5026.2005)
- 22- SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS. *Cystoviridae ~ ViralZone* [en ligne]. [s. d.]. [Consulté le 5 avril 2022]. Disponible à l'adresse : <https://viralzone.expasy.org/165>
- 23- MOLINEUX, I. J. « Fifty-three years since Hershey and Chase; much ado about pressure but which pressure is it? » *Virology* [en ligne]. Janvier 2006, Vol. 344, n° 1, p. 221-229. Virology 50th Anniversary Issue. DOI [10.1016/j.virol.2005.09.014](https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.09.014)
- 24- MOLINEUX, I. J. et PANJA, D. « Popping the cork: mechanisms of phage genome ejection. » *Nature Reviews. Microbiology*. mars 2013. Vol. 11, n° 3, pp. 194-204. DOI [10.1038/nrmicro2988](https://doi.org/10.1038/nrmicro2988).
- 25- Nilsson, A. S. « Phage Therapy--Constraints and Possibilities ». *Uppsala Journal of Medical Sciences* 119, n° 2 (mai 2014): 192-98. <https://doi.org/10.3109/03009734.2014.902878>.
- 26- SHARMA, S., CHATTERJEE, S., DATTA, S., PRASAD, R., DUBEY, D., PRASAD R.K. et VAIRALE, M. G., « Bacteriophages and Its Applications: An Overview ». *Folia Microbiologica* 62, n° 1 (janvier 2017): 17-55. <https://doi.org/10.1007/s12223-016-0471-x>.
- 27- GUTTMAN, B., RAYA, R., et KUTTER, E. « Basic Phage Biology », 2004. <https://doi.org/10.1201/9780203491751.ch3>.
- 28- SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS. *T7 cycle ~ ViralZone* [en ligne]. [s. d.]. [Consulté le 6 avril 2022]. Disponible à l'adresse : <https://viralzone.expasy.org/3916>

- 29- CAHILL, J., et YOUNG, R. « Phage Lysis: Multiple Genes for Multiple Barriers ». *Advances in virus research* 103 (2019): 33-70. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.09.003>.
- 30- WANG, I.-N., SMITH, D. et YOUNG, R. « HOLINS: The protein clocks of bacteriophage infections ». *Annual review of microbiology* 54 (1 octobre 2000): 799-825. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.799>.
- 31- SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS. *Holin/endolysin/spanin cell lysis by virus ~ ViralZone* [en ligne]. [s. d.]. [Consulté le 6 avril 2022]. Disponible à l'adresse : <https://viralzone.expasy.org/4056>
- 32- BRUSSOW, H., CANCHAYA, C. et HARDT, W.-D. « Phages and the Evolution of Bacterial Pathogens: From Genomic Rearrangements to Lysogenic Conversion ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 68, n° 3 (1 septembre 2004): 560-602. <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.3.560-602.2004>.
- 33- BOYD, E. F. et BRÜSSOW, H. « Common themes among bacteriophage-encoded virulence factors and diversity among the bacteriophages involved ». *Trends in Microbiology* [en ligne]. Novembre 2002, Vol. 10, n° 11, p. 521-529. DOI [10.1016/s0966-842x\(02\)02459-9](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(02)02459-9)
- 34- HOWARD-VARONA, C., HARGREAVES, K. R., ABEDON, S. T. et SULLIVAN, M. B. « Lysogeny in Nature: Mechanisms, Impact and Ecology of Temperate Phages ». *The ISME Journal* 11, n° 7 (juillet 2017): 1511-20. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.16>.
- 35- CASJENS, S.R., et HENDRIX, R.W. « Bacteriophage Lambda: Early Pioneer and Still Relevant ». *Virology* 479-480 (mai 2015): 310-30. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.010>.
- 36- ZENG, L., Skinner, S.O., ZONG, C., SIPPY, J., FEISS, M., et GOLDING, I. « Decision Making at a Subcellular Level Determines the Outcome of Bacteriophage Infection ». *Cell* 141, n° 4 (14 mai 2010): 682-91. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.034>.
- 37- EREZ, Z., STEINBERGER-LEVY, I., SHAMIR, M., DORON, S., STOKAR-AVIHAIL, A., PELEG, Y., MELAMED, S., et al. « Communication between Viruses Guides Lysis-Lysogeny Decisions ». *Nature* 541, n° 7638 (26 janvier 2017): 488-93. <https://doi.org/10.1038/nature21049>.
- 38- BEDNARZ, M., HALLIDAY, J. A., HERMAN, C. et GOLDING, I. "Revisiting bistability in the lysis/lysogeny circuit of bacteriophage lambda". *PLoS One*. 2014. Vol. 9, n° 6, pp. e100876. DOI [10.1371/journal.pone.0100876](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100876).
- 39- MCLEOD, S. M., KIMSEY, H. H., DAVIS, B. M., et WALDOR, M.K. « CTX ϕ and Vibrio Cholerae: Exploring a Newly Recognized Type of Phage-Host Cell Relationship ». *Molecular Microbiology* 57, n° 2 (2005): 347-56. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04676.x>.
- 40- RAKONJAC, J., BENNETT, N. J., SPAGNUOLO, J., GAGIC, D., et RUSSEL, M. « Filamentous Bacteriophage: Biology, Phage Display and Nanotechnology Applications ». *Current Issues in Molecular Biology* 13, n° 2 (2011): 51-76.
- 41- SECOR, P. R., BURGNER, E.B., KINNERSLEY, M., JENNINGS, L.K., ROMAN-CRUZ, V., POPESCU, M., VAN BELLEGHEM, J. D. et al. « Pf Bacteriophage and Their Impact on Pseudomonas Virulence, Mammalian Immunity, and Chronic Infections ». *Frontiers in Immunology* 11 (21 février 2020). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00244>.
- 42- LABRIE, S. J., SAMSON, J. E. et MOINEAU, S. « Bacteriophage resistance mechanisms ». *Nature Reviews. Microbiology* [en ligne]. Mai 2010, Vol. 8, n° 5, p. 317-327. DOI [10.1038/nrmicro2315](https://doi.org/10.1038/nrmicro2315)

- 43- NORDSTRÖM, K. et FORSGREN, A. Effect of protein A on adsorption of bacteriophages to *Staphylococcus aureus*. *Journal of Virology* [en ligne]. Août 1974, Vol. 14, n° 2, p. 198-202. DOI [10.1128/JVI.14.2.198-202.1974](https://doi.org/10.1128/JVI.14.2.198-202.1974)
- 44- SAMSON, J. E., MAGADÁN, A. H., SABRI, M. et MOINEAU, S. « Revenge of the phages: defeating bacterial defences ». *Nature Reviews. Microbiology* [en ligne]. Octobre 2013, Vol. 11, n° 10, p. 675-687. DOI [10.1038/nrmicro3096](https://doi.org/10.1038/nrmicro3096)
- 45- PARIKKA, K. J., LE ROMANCER, M., WAUTERS, N., et JACQUET, S. « Deciphering the Virus-to-Prokaryote Ratio (VPR): Insights into Virus–Host Relationships in a Variety of Ecosystems ». *Biological Reviews* 92, n° 2 (2017): 1081-1100. <https://doi.org/10.1111/brv.12271>.
- 46- WEYNBERG, K. D. « Viruses in Marine Ecosystems: From Open Waters to Coral Reefs ». *Advances in Virus Research* 101 (2018): 1-38. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.02.001>.
- 47- Suttle, Curtis A. « Viruses in the Sea ». *Nature* 437, n° 7057 (15 septembre 2005): 356-61. <https://doi.org/10.1038/nature04160>.
- 48- CLOKIE, M. R.J., Millard, A.D., LETAROV, A. V. et HEAPHY, S. « Phages in Nature ». *Bacteriophage* 1, n° 1 (janvier 2011): 31-45. <https://doi.org/10.4161/bact.1.1.14942>.
- 49- FRIEDLINGSTEIN, P., O’SULLIVAN, M., JONES, M. W., ANDREW, R. M., HAUCK, J., OLSEN, A., PETERS, G.P., PETERS, W., *et al* « Global Carbon Budget 2020 ». *Earth System Science Data* [en ligne]. Copernicus GmbH, Décembre 2020, Vol. 12, n° 4, p. 3269-3340. DOI [10.5194/essd-12-3269-2020](https://doi.org/10.5194/essd-12-3269-2020)
- 50- RAVAT, F., JAULT, P. et GABARD, J.. « Bactériophages et phagothérapie: utilisation de virus naturels pour traiter les infections bactériennes ». *Annals of Burns and Fire Disasters* 28, n° 1 (31 mars 2015): 13-20.
- 51- TERWILLIGER, A. L., LIU, C.G., GREEN, S.I., CLARK, J. R., SALAZAR, K. C., HERNANDEZ SANTOS, H., HECKMANN, E. R., TRAUTNER, B. W., RAMIG, R. F., et MARESSO, A. W. « Tailored Antibacterials and Innovative Laboratories for Phage (Φ) Research: Personalized Infectious Disease Medicine for the Most Vulnerable At-Risk Patients ». *PHAGE (New Rochelle, N.Y.)* 1, n° 2 (1 juin 2020): 66-74. <https://doi.org/10.1089/phage.2020.0007>.
- 52- LIN, L., HONG, W., JI, X., HAN, J., HUANG, L., et WEI, Y. « Isolation and Characterization of an Extremely Long Tail Thermus Bacteriophage from Tengchong Hot Springs in China ». *Journal of Basic Microbiology* 50, n° 5 (octobre 2010): 452-56. <https://doi.org/10.1002/jobm.201000116>.
- 53- HANKIN, E.H. « L’action Bactericide des Eaux de la Jumna et du Gange sur le Vibron du Cholera ». «*Ann. Inst. Pasteur* **1896**, 10, 511–523.
- 54- WITTEBOLE, X., DE ROOCK, S. et OPAL, S. M. « A Historical Overview of Bacteriophage Therapy as an Alternative to Antibiotics for the Treatment of Bacterial Pathogens ». *Virulence* 5, n° 1 (1 janvier 2014): 226-35. <https://doi.org/10.4161/viru.25991>.
- 55- ABEDON, S., THOMAS-ABEDON, C. THOMAS, A. et MAZURE, H. « Bacteriophage prehistory: Is or is not Hankin, 1896, a phage reference? » *Bacteriophage* 1 (1 mai 2011): 174-78. <https://doi.org/10.4161/bact.1.3.16591>.
- 56- NIKOLICH, M. P., et FILIPPOV, A. A. « Bacteriophage Therapy: Developments and Directions ». *Antibiotics* 9, n° 3 (24 mars 2020). <https://doi.org/10.3390/antibiotics9030135>.

- 57- TWORT, F. W. « AN INVESTIGATION ON THE NATURE OF ULTRA-MICROSCOPIC VIRUSES. » *The Lancet*, Originally published as Volume 2, Issue 4814, 186, n° 4814 (4 décembre 1915): 1241-43. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)20383-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)20383-3).
- 58- D'HERELLE, F. « On an invisible microbe antagonistic to dysentery bacilli » : Note by M.F. d'Herelle, presented by M. Roux. *Comptes Rendus Academie des Sciences* 1917; 165:373–5, *Bacteriophage*, 1:1, 3-5, DOI: 10.4161/bact.1.1.14941
- 59- SUMMERS, W.C. « The Strange History of Phage Therapy ». *Bacteriophage* 2, n° 2 (avril 2012): 130-33. <https://doi.org/10.4161/bact.20757>.
- 60- SULAKVELIDZE, A., ALAVIDZE, Z. et MORRIS, J. G. « Bacteriophage Therapy » . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. mars 2001. Vol. 45, n° 3, pp. 649-659. DOI [10.1128/AAC.45.3.649-659.2001](https://doi.org/10.1128/AAC.45.3.649-659.2001).
- 61- ACKERMANN, H.-W. « The first phage electron micrographs ». *Bacteriophage*. 1 juillet 2011. Vol. 1, n° 4, pp. 225-227. DOI [10.4161/bact.1.4.17280](https://doi.org/10.4161/bact.1.4.17280).
- 62- STENT, G. S. *Molecular Biology of Bacterial viruses*. San Francisco, CA. : WH Freeman and Co., 1963. ISBN 978-1-258-24700-3.
- 63- PENICILLIN'S FINDER ASSAYS ITS FUTURE; Sir Alexander Fleming Says Improved Dosage Method Is Needed to Extend Use Other Scientists Praised Self-Medication Decried. *The New York Times* [en ligne]. 26 juin 1945. [Consulté le 14 décembre 2021]. Disponible à l'adresse : <https://www.nytimes.com/1945/06/26/archives/penicillins-finder-assays-its-future-sir-alexander-fleming-says.html>
- 64- CLARKE, T. « Drug companies snub antibiotics as pipeline threatens to run dry ». *Nature*. 18 septembre 2003. Vol. 425, n° 6955, pp. 225. DOI [10.1038/425225a](https://doi.org/10.1038/425225a).
- 65- WANFORD, J. « Revitalizing the drug pipeline: AntibioticDB, an open access database to aid antibacterial research and development ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 12 juin 2018. Vol. 73. DOI [10.1093/jac/dky208](https://doi.org/10.1093/jac/dky208).
- 66- THE REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE. « TACKLING DRUG-RESISTANT INFECTIONS GLOBALLY: FINAL REPORT AND RECOMMENDATIONS ». [en ligne]. mai 2016. [Consulté le 17 décembre 2021]. Disponible à l'adresse : https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf
- 67- WORLD HEALTH ORGANISATION. « The evolving threat of antimicrobial resistance : options for action ». In : *The evolving threat of antimicrobial resistance : options for action* [en ligne]. Geneva, 2012. [Consulté le 17 décembre 2021]. ISBN 978 92 4 150318 1. Disponible à l'adresse : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44812/9789241503181_eng.pdf;sequence=1
- 68- CRAIG, M. « CDC's Antibiotic Resistance Threats Report », 2019. pp. 14.
- 69- PubMed. *PubMed* [en ligne]. [Consulté le 17 décembre 2021]. Disponible à l'adresse : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

- 70- EUROPEAN MEDICINES AGENCY. « Workshop : therapeutic use of bacteriophages. » [en ligne]. London, 2 juillet 2015. [Consulté le 31 décembre 2020]. Disponible à l'adresse : https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/workshop-therapeutic-use-bacteriophages-summary_en.pdf
- 71- TORRES-BARCELÓ, C., KALTZ, O., FROISSART, R., GANDON, S., GINET, N. et ANSALDI, M. « “French Phage Network” —Second Meeting Report ». *Viruses* [en ligne]. 21 avril 2017. Vol. 9, n° 4. [Consulté le 13 août 2020]. DOI [10.3390/v9040087](https://doi.org/10.3390/v9040087). Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5408693/>
- 72- JAULT, P., LECLERC, T., JENNES, S., PIRNAY, J.-P., QUE, Y., RESCH, G., ROUSSEAU, A. F., RAVAT, F., CARSIN, H., LE FLOCH, R., SCHAAL, J. V., SOLER, C., FEVRE, C., ARNAUD, I., BRETAUDEAU, L. et GABARD, J. « Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by *Pseudomonas aeruginosa* (PhagoBurn): a randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial ». *The Lancet. Infectious Diseases*. 2019. Vol. 19, n° 1, pp. 35-45. DOI [10.1016/S1473-3099\(18\)30482-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30482-1).
- 73- FERRY, T., KOLENDA, C., BATAILLER, C., GUSTAVE, C., LUSTIG, S., MALATRAY, M., FEVRE, C., JOSSE, J., PETITJEAN, C., CHIDIAC, C., LÉBOUCHER, G. et LAURENT, F. « Phage Therapy as Adjuvant to Conservative Surgery and Antibiotics to Salvage Patients With Relapsing *S. aureus* Prosthetic Knee Infection ». *Frontiers in Medicine* [en ligne]. 2020. Vol. 7. [Consulté le 5 février 2021]. DOI [10.3389/fmed.2020.570572](https://doi.org/10.3389/fmed.2020.570572). Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2020.570572/full>
- 74- Produits candidats. *Pherecydes* [en ligne]. [Consulté le 17 décembre 2021]. Disponible à l'adresse : <https://www.pherecydes-pharma.com/produits-candidats/>
- 75- AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ DU MÉDICAMENT. COMITE SCIENTIFIQUE SPECIALISE TEMPORAIRE Phagothérapie – « Retour d'expérience et perspectives ». Saint Denis France, 21 mars 2019.
- 76- Vetophage – Toute la puissance des phages au service de la santé animale. [en ligne]. [Consulté le 17 décembre 2021]. Disponible à l'adresse : <https://vetophage.fr/>
- 77- KEEN, E. « Phage Therapy: Concept to Cure ». *Frontiers in Microbiology*. 2012. Vol. 3, pp. 238. DOI [10.3389/fmicb.2012.00238](https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00238).
- 78- MATTILA, S., RUOTSALAINEN, P. et JALASVUORI, M. « On-Demand Isolation of Bacteriophages Against Drug-Resistant Bacteria for Personalized Phage Therapy ». *Frontiers in Microbiology*. 13 novembre 2015. Vol. 6, pp. 1271. DOI [10.3389/fmicb.2015.01271](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01271).
- 79- WEBER-DĄBROWSKA, B., JOŃCZYK-MATYSIAK, E., ŻACZEK, M., ŁOBOCKA, M., ŁUSIAK-SZELACHOWSKA, M. et GÓRSKI, A. « Bacteriophage Procurement for Therapeutic Purposes ». *Frontiers in Microbiology* [en ligne]. 12 août 2016. Vol. 7. [Consulté le 4 août 2020]. DOI [10.3389/fmicb.2016.01177](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01177). Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4981656/>
- 80- WOMMACK, K. E. et WILLIAMSON, K. E. « Methods for the Isolation of Viruses from Environmental Samples ». In : *Bacteriophages: Methods and Protocols, Volume 1: Isolation, Characterization, and Interactions*. 2009. ISBN 978-1-58829-682-5.

- 81- GILL, J. J. et HYMAN, P. « Phage choice, isolation, and preparation for phage therapy ». *Current Pharmaceutical Biotechnology*. janvier 2010. Vol. 11, n° 1, pp. 2-14. DOI [10.2174/138920110790725311](https://doi.org/10.2174/138920110790725311).
- 82- DAVID, H. L., CLAVEL, S. et CLEMENT, F. « Adsorption and growth of the bacteriophage D29 in selected mycobacteria ». *Annales de l'Institut Pasteur / Virologie*. 1 avril 1980. Vol. 131, n° 2, pp. 167-184. DOI [10.1016/0769-2617\(80\)90031-3](https://doi.org/10.1016/0769-2617(80)90031-3).
- 83- LY-CHATAIN, M. H. « The factors affecting effectiveness of treatment in phages therapy ». *Frontiers in Microbiology*. 2014. Vol. 5, pp. 51. DOI [10.3389/fmicb.2014.00051](https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00051).
- 84- KUTTER, E. « Phage Host Range and Efficiency of Plating ». In : CLOKIE, M. R.J. et KROPINSKI, A. M. *Bacteriophages: Methods and Protocols, Volume 1: Isolation, Characterization, and Interactions* [en ligne]. Totowa, NJ : Humana Press, 2009. pp. 141-149. *Methods in Molecular Biology*TM. [Consulté le 21 décembre 2021]. ISBN 978-1-60327-164-6. Disponible à l'adresse : https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_14
- 85- JOŃCZYK, E., KŁAK, M., MIĘDZYBRODZKI, R. et GÓRSKI, A. « The influence of external factors on bacteriophages—review ». *Folia Microbiologica*. 2011. Vol. 56, n° 3, pp. 191-200. DOI [10.1007/s12223-011-0039-8](https://doi.org/10.1007/s12223-011-0039-8).
- 86- GOLEC, P., DĄBROWSKI, K., HEJNOWICZ, M. S., GOZDEK, A., ŁOŚ, J. M., WĘGRZYN, G., ŁOBOCKA, M. B. et ŁOŚ, M. « A reliable method for storage of tailed phages ». *Journal of Microbiological Methods*. 1 mars 2011. Vol. 84, n° 3, pp. 486-489. DOI [10.1016/j.mimet.2011.01.007](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.01.007).
- 87- FORTIER, L.-C. et MOINEAU, S. « Phage Production and Maintenance of Stocks, Including Expected Stock Lifetimes ». In : CLOKIE, M. R.J. et KROPINSKI, A. M., *Bacteriophages: Methods and Protocols, Volume 1: Isolation, Characterization, and Interactions* [en ligne]. Totowa, NJ : Humana Press, 2009. pp. 203-219. *Methods in Molecular Biology*TM. [Consulté le 21 décembre 2021]. ISBN 978-1-60327-164-6. Disponible à l'adresse : https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_19
- 88- SKARADZINSKA, A., SKARADZINSKI, G., CHOINSKA-PULIT, A., SLIWKA, P., LABA, W., MITULA, P., ZACZEK, M. et WEBER-DABROWSKA, B. « Potential Application of Lyophilization in Commercial Use of Bacteriophage Preparations in Veterinary Medicine ». *Slovenian Veterinary Research*. 2018. Vol. 55, n° 2, pp. 73-80. DOI [10.26873/SVR-396-2017](https://doi.org/10.26873/SVR-396-2017).
- 89- DANIS-WLODARCZYK, K., DĄBROWSKA, K. et ABEDON, S. T. « Phage Therapy: The Pharmacology of Antibacterial Viruses ». *Current Issues in Molecular Biology*. 6 juin 2020. Vol. 40, pp. 81-164. DOI [10.21775/cimb.040.081](https://doi.org/10.21775/cimb.040.081).
- 90- DUFOUR, N., DELATTRE, R. et DEBARBIEUX, L. « In Vivo Bacteriophage Biodistribution ». *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*. 2018. Vol. 1693, pp. 123-137. DOI [10.1007/978-1-4939-7395-8_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7395-8_11).
- 91- DĄBROWSKA, K. et ABEDON, S. T. « Pharmacologically Aware Phage Therapy: Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Obstacles to Phage Antibacterial Action in Animal and Human Bodies ». *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*. 20 2019. Vol. 83, n° 4. DOI [10.1128/MMBR.00012-19](https://doi.org/10.1128/MMBR.00012-19).

- 92- DĄBROWSKA, K. « Phage therapy: What factors shape phage pharmacokinetics and bioavailability? Systematic and critical review ». *Medicinal Research Reviews*. septembre 2019. Vol. 39, n° 5, pp. 2000-2025. DOI [10.1002/med.21572](https://doi.org/10.1002/med.21572).
- 93- SARKER, S.A., SULTANA, S., REUTELER, G., MOINE, D., DESCOMBES, P., CHARTON, F., BOURDIN, G., MCCALLIN, S., NGOM-BRU, C., NEVILLE, T., AKTER, M., HUQ, S., QADRI, F., TALUKDAR, K., KASSAM, M., DELLEY, M., LOISEAU, C., DENG, Y., EL AIDY, S., BERGER, B. et BRÜSSOW, H. « Oral Phage Therapy of Acute Bacterial Diarrhea With Two Coliphage Preparations: A Randomized Trial in Children From Bangladesh. » *EBioMedicine*. 5 janvier 2016. Vol. 4, pp. 124-137. DOI [10.1016/j.ebiom.2015.12.023](https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.12.023).
- 94- SARKER, S.A., BERGER, B., DENG, Y., KIESER, S., FOATA, F., MOINE, D., DESCOMBES, P., SULTANA, S., HUQ, S., BARDHAN, P.K. , VUILLET, V., PRAPLAN, F. et BRÜSSOW, H. Oral application of Escherichia coli bacteriophage: safety tests in healthy and diarrheal children from Bangladesh. *Environmental Microbiology*. janvier 2017. Vol. 19, n° 1, pp. 237-250. DOI [10.1111/1462-2920.13574](https://doi.org/10.1111/1462-2920.13574).
- 95- MALIK, Danish J., SOKOLOV, Ilya J., VINNER, Gurinder K., MANCUSO, Francesco, CINQUERRUI, Salvatore, VLADISAVLJEVIC, Goran T., CLOKIE, Martha R. J., GARTON, Natalie J., STAPLEY, Andrew G. F. et KIRPICHNIKOVA, Anna. Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. *Advances in Colloid and Interface Science*. novembre 2017. Vol. 249, pp. 100-133. DOI [10.1016/j.cis.2017.05.014](https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.05.014).
- 96- NGUYEN, S., BAKER, K., PADMAN, B. S., PATWA, R., DUNSTAN, R. A., WESTON, T. A., SCHLOSSER, K., BAILEY, B., LITHGOW, T., LAZAROU, M., LUQUE, A., ROHWER, F., BLUMBERG, R.S. et BARR, J. J. « Bacteriophage Transcytosis Provides a Mechanism To Cross Epithelial Cell Layers ». *mBio*. 21 novembre 2017. Vol. 8, n° 6, pp. e01874-17. DOI [10.1128/mBio.01874-17](https://doi.org/10.1128/mBio.01874-17).
- 97- BOGOVAZOVA, G. G., VOROSHILOVA, N. N. et BONDARENKO, V. M. « The efficacy of Klebsiella pneumoniae bacteriophage in the therapy of experimental Klebsiella infection ». *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 1 avril 1991. N° 4, pp. 5-8.
- 98- KELLER, R. « Passage of bacteriophage particles through intact skin of mice ». *Science (New York, N.Y.)*. 1 septembre 1958. Vol. 128, n° 3326, pp. 718-719. DOI [10.1126/science.128.3326.718-a](https://doi.org/10.1126/science.128.3326.718-a).
- 99- BOCHKAREVA, S. S., KARAULOV, A. V., ALESHKIN, A. V., NOVIKOVA, L. I., KISELEVA, I. A., RUBAL'SKII, E. O., MEKHTIEV, E. R., STYSHNEV, A. O., ZUL'KARNEEV, E. R., ANUROVA, M. N., BAKHRUSHINA, E. O. et LETAROV, A. V. « Analysis of the Pharmacokinetics of Suppository Forms of Bacteriophages ». *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. avril 2020. Vol. 168, n° 6, pp. 748-752. DOI [10.1007/s10517-020-04794-w](https://doi.org/10.1007/s10517-020-04794-w).
- 100- INCHLEY, C. J. « The activity of mouse Kupffer cells following intravenous injection of T4 bacteriophage ». *Clinical and Experimental Immunology*. juillet 1969. Vol. 5, n° 1, pp. 173-187.
- 101- JOŃCZYK-MATYSIAK, E., WEBER-DĄBROWSKA, B., OWCZAREK, B., MIĘDZYBRODZKI, R., ŁUSIAK-SZELACHOWSKA, M., ŁODEJ, N. et GÓRSKI, A. « Phage-Phagocyte Interactions and Their Implications for Phage Application as Therapeutics ». *Viruses*. 14 2017. Vol. 9, n° 6. DOI [10.3390/v9060150](https://doi.org/10.3390/v9060150).

- 102- KELLER, R. et ENGLE, F. B. « Fate of bacteriophage particles introduced into mice by various routes. » *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*. juillet 1958. Vol. 98, n° 3, pp. 577-580. DOI [10.3181/00379727-98-24112](https://doi.org/10.3181/00379727-98-24112).
- 103- DUBOS, R. J., STRAUS, J. H. et PIERCE, C. « THE MULTIPLICATION OF BACTERIOPHAGE IN VIVO AND ITS PROTECTIVE EFFECT AGAINST AN EXPERIMENTAL INFECTION WITH SHIGELLA DYSENTERIAE ». *The Journal of Experimental Medicine*. 1 septembre 1943. Vol. 78, n° 3, pp. 161-168. DOI [10.1084/jem.78.3.161](https://doi.org/10.1084/jem.78.3.161).
- 104- ABEDON, S.T. « Phage Therapy: Eco-Physiological Pharmacology ». *Scientifica* [en ligne]. 2014. Vol. 2014. [Consulté le 21 juillet 2020]. DOI [10.1155/2014/581639](https://doi.org/10.1155/2014/581639). Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4054669/>
- 105- PAYNE, R. J. H. et JANSEN, V. A. A. « Pharmacokinetic principles of bacteriophage therapy ». *Clinical Pharmacokinetics*. 2003. Vol. 42, n° 4, pp. 315-325. DOI [10.2165/00003088-200342040-00002](https://doi.org/10.2165/00003088-200342040-00002).
- 106- HÁJEK, P. « The elimination of bacteriophages phiX 174 and T2 from the circulating blood of newborn precolostral pigs ». *Folia Microbiologica*. 1970. Vol. 15, n° 2, pp. 125-128. DOI [10.1007/BF02880095](https://doi.org/10.1007/BF02880095).
- 107- DĄBROWSKA, K., MIERNIKIEWICZ, P., PIOTROWICZ, A., HODYRA, K., OWCZAREK, B., LECION, D., KAŹMIERCZAK, Z., LETAROV, A. et GÓRSKI, A. « Immunogenicity studies of proteins forming the T4 phage head surface ». *Journal of Virology*. novembre 2014. Vol. 88, n° 21, pp. 12551-12557. DOI [10.1128/JVI.02043-14](https://doi.org/10.1128/JVI.02043-14).
- 108- BRADLEY, S. G. et WATSON, D. W. « Production of Neutralizing Antibody by Mice Injected with Actinophage ». *The Journal of Immunology*. 1 mai 1963. Vol. 90, n° 5, pp. 782-787.
- 109- ŁUSIAK-SZELACHOWSKA, M., ŻACZEK, M., WEBER-DĄBROWSKA, B., MIĘDZYBRODZKI, R., KŁAK, M., FORTUNA, W., LETKIEWICZ, S., ROGÓŻ, P., SZUFNAROWSKI, K., JOŃCZYK-MATYSIAK, E., OWCZAREK, B. et GÓRSKI, A. « Phage Neutralization by Sera of Patients Receiving Phage Therapy ». *Viral Immunology*. 1 août 2014. Vol. 27, n° 6, pp. 295-304. DOI [10.1089/vim.2013.0128](https://doi.org/10.1089/vim.2013.0128).
- 110- SOKOLOFF, A. V., BOCK, I., ZHANG, G., SEBESTYÉN, M. G. et WOLFF, J. A. « The interactions of peptides with the innate immune system studied with use of T7 phage peptide display ». *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*. août 2000. Vol. 2, n° 2, pp. 131-139. DOI [10.1006/mthe.2000.0110](https://doi.org/10.1006/mthe.2000.0110).
- 111- LAWRENCE, M.G., ALTENBURG, M. K., SANFORD, R., WILLETT, J. D., BLEASDALE, B., BALLOU, B., WILDER, J., LI, F., MINER, J.H., BERG, U.B. et SMITHIES, O. « Permeation of macromolecules into the renal glomerular basement membrane and capture by the tubules ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 14 mars 2017. Vol. 114, n° 11, pp. 2958-2963. DOI [10.1073/pnas.1616457114](https://doi.org/10.1073/pnas.1616457114).

- 112- LIN, Y. W., CHANG, R. Yoon, RAO, G. G., JERMAIN, B., HAN, M.-L., ZHAO, J. X., CHEN, K., WANG, J. P., BARR, J. J., SCHOOLEY, R. Turner, KUTTER, E., CHAN, H.-K. et LI, J. « Pharmacokinetics/pharmacodynamics of antipseudomonal bacteriophage therapy in rats: a proof-of-concept study ». *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. septembre 2020. Vol. 26, n° 9, pp. 1229-1235. DOI [10.1016/j.cmi.2020.04.039](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.04.039).
- 113- UJMAJURIDZE, A., CHANISHVILI, N., GODERDZISHVILI, M., LEITNER, L., MEHNERT, U., CHKHOTUA, A., KESSLER, T.M. et SYBESMA, W. « Adapted Bacteriophages for Treating Urinary Tract Infections ». *Frontiers in Microbiology*. 7 août 2018. Vol. 9, pp. 1832. DOI [10.3389/fmicb.2018.01832](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01832).
- 114- HYMAN, P. et ABEDON, S. T. « Bacteriophage host range and bacterial resistance ». *Advances in Applied Microbiology*. 2010. Vol. 70, pp. 217-248. DOI [10.1016/S0065-2164\(10\)70007-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(10)70007-1).
- 115- ABEDON, S.T. « Lysis from without ». *Bacteriophage*. janvier 2011. Vol. 1, n° 1, pp. 46-49. DOI [10.4161/bact.1.1.13980](https://doi.org/10.4161/bact.1.1.13980).
- 116- HARPER, D. R., PARRACHO, H.M.R.T., WALKER, J., SHARP, R., HUGHES, G., WERTHÉN, M., LEHMAN, S. et MORALES, S. « Bacteriophages and Biofilms ». *Antibiotics*. 25 juin 2014. Vol. 3, n° 3, pp. 270-284. DOI [10.3390/antibiotics3030270](https://doi.org/10.3390/antibiotics3030270).
- 117- LÓPEZ, D., VLAMAKIS, H. et KOLTER, R. « Biofilms ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* [en ligne]. Juillet 2010, Vol. 2, n° 7, p. a000398. DOI [10.1101/cshperspect.a000398](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000398)
- 118- CHIBEU, A., LINGOHR, E., MASSON, L., MANGES, A., HAREL, J., ACKERMANN, H., KROPINSKI, A. et BOERLIN, P. « Bacteriophages with the Ability to Degrade Uropathogenic Escherichia Coli Biofilms ». *Viruses*. 1 avril 2012. Vol. 4, pp. 471-87. DOI [10.3390/v4040471](https://doi.org/10.3390/v4040471).
- 119- CHAUDHRY, W.N., CONCEPCIÓN-ACEVEDO, J., PARK, T., ANDLEEB, S., BULL, J.J. et LEVIN, B.R. « Synergy and Order Effects of Antibiotics and Phages in Killing Pseudomonas aeruginosa Biofilms ». *PLoS ONE* [en ligne]. 11 janvier 2017. Vol. 12, n° 1. [Consulté le 30 juillet 2020]. DOI [10.1371/journal.pone.0168615](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168615). Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5226664/>
- 120- CHAN, B.K., TURNER, P.E., KIM, S., MOJIBIAN, H.R., ELEFTERIADES, J.A. et NARAYAN, D. « Phage treatment of an aortic graft infected with Pseudomonas aeruginosa ». *Evolution, Medicine, and Public Health*. 2018. Vol. 2018, n° 1, pp. 60-66. DOI [10.1093/emph/eoy005](https://doi.org/10.1093/emph/eoy005).
- 121- LURIA, S. E. et DELBRÜCK, M. « Mutations of Bacteria from Virus Sensitivity to Virus Resistance ». *Genetics*. novembre 1943. Vol. 28, n° 6, pp. 491-511.
- 122- CAFLISCH, K. M., SUH, G. A. et PATEL, R. « Biological challenges of phage therapy and proposed solutions: a literature review ». *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2019. Vol. 17, n° 12, pp. 1011-1041. DOI [10.1080/14787210.2019.1694905](https://doi.org/10.1080/14787210.2019.1694905).
- 123- ROHDE, C., RESCH, G., PIRNAY, J.-P., BLASDEL, B., DEBARBIEUX, L., GELMAN, D., GÓRSKI, A., HAZAN, R., HUYS, I., KAKABADZE, E., ŁOBOCKA, M., MAESTRI, A., ALMEIDA, G., MAKALATIA, K., MALIK, D., MAŠLAŇOVÁ, I., MERABISHVILI, M., PANTUCEK, R., ROSE, T., ŠTVERÁKOVÁ, D., VAN RAEMDONCK, H., VERBEKEN, G. et CHANISHVILI, N. « Expert Opinion on Three Phage Therapy Related Topics: Bacterial Phage Resistance, Phage Training and Prophages in Bacterial Production Strains ». *Viruses*. 5 avril 2018. Vol. 10, n° 4, pp. 178. DOI [10.3390/v10040178](https://doi.org/10.3390/v10040178).

- 124- HALL, A.R., DE VOS, D., FRIMAN, V.-P., PIRNAY, J.-P. et BUCKLING, A. « Effects of sequential and simultaneous applications of bacteriophages on populations of *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in wax moth larvae ». *Applied and Environmental Microbiology*. août 2012. Vol. 78, n° 16, pp. 5646-5652. DOI [10.1128/AEM.00757-12](https://doi.org/10.1128/AEM.00757-12).
- 125- CHAN, B.K., SISTROM, M., WERTZ, J.E., KORTRIGHT, K.E., NARAYAN, D. et TURNER, P.E. « Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR *Pseudomonas aeruginosa* ». *Scientific Reports*. 26 mai 2016. Vol. 6, pp. 26717. DOI [10.1038/srep26717](https://doi.org/10.1038/srep26717).
- 126- WEBER-DABROWSKA, B., ZIMECKI, M., MULCZYK, M. et GÓRSKI, A. « Effect of phage therapy on the turnover and function of peripheral neutrophils ». *FEMS immunology and medical microbiology*. 11 octobre 2002. Vol. 34, n° 2, pp. 135-138. DOI [10.1111/j.1574-695X.2002.tb00614.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2002.tb00614.x).
- 127- PRZERWA, A., ZIMECKI, M., SWITAŁA-JELEŃ, K., DABROWSKA, K., KRAWCZYK, E., ŁUCZAK, M., WEBER-DABROWSKA, B., SYPER, D., MIEDZYPBRODZKI, R. et GÓRSKI, A. « Effects of bacteriophages on free radical production and phagocytic functions ». *Medical Microbiology and Immunology*. septembre 2006. Vol. 195, n° 3, pp. 143-150. DOI [10.1007/s00430-006-0011-4](https://doi.org/10.1007/s00430-006-0011-4).
- 128- KAUR, S., HARJAI, K. et CHHIBBER, S. « Bacteriophage-aided intracellular killing of engulfed methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by murine macrophages ». *Applied Microbiology and Biotechnology*. mai 2014. Vol. 98, n° 10, pp. 4653-4661. DOI [10.1007/s00253-014-5643-5](https://doi.org/10.1007/s00253-014-5643-5).
- 129- CAPPARELLI, R., PARLATO, M., BORRIELLO, G., SALVATORE, P. et IANNELLI, D. « Experimental Phage Therapy against *Staphylococcus aureus* in Mice ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. août 2007. Vol. 51, n° 8, pp. 2765-2773. DOI [10.1128/AAC.01513-06](https://doi.org/10.1128/AAC.01513-06).
- 130- VAN BELLEGHEM, J.D., DĄBROWSKA, K., VANEECHOUTTE, M., BARR, J.J. et BOLLYKY, P.L. « Interactions between Bacteriophage, Bacteria, and the Mammalian Immune System ». *Viruses*. 25 décembre 2018. Vol. 11, n° 1, pp. E10. DOI [10.3390/v11010010](https://doi.org/10.3390/v11010010).
- 131- KURZEPA, A., DABROWSKA, K., SKARADZIŃSKI, G. et GÓRSKI, A. « Bacteriophage interactions with phagocytes and their potential significance in experimental therapy ». *Clinical and Experimental Medicine*. juin 2009. Vol. 9, n° 2, pp. 93-100. DOI [10.1007/s10238-008-0027-8](https://doi.org/10.1007/s10238-008-0027-8).
- 132- MIEDZYPBRODZKI, R., SWITALA-JELEN, K., FORTUNA, W., WEBER-DABROWSKA, B., PRZERWA, A., LUSIAK-SZELACHOWSKA, M., DABROWSKA, K., KURZEPA, A., BORATYNSKI, J., SYPER, D., POZNIAK, G., LUGOWSKI, C. et GORSKI, A. « Bacteriophage preparation inhibition of reactive oxygen species generation by endotoxin-stimulated polymorphonuclear leukocytes ». *Virus Research*. février 2008. Vol. 131, n° 2, pp. 233-242. DOI [10.1016/j.virusres.2007.09.013](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.09.013).
- 133- MIERNIKIEWICZ, P., KŁOPOT, A., SOLUCH, R., SZKUTA, P., KĘSKA, W., HODYRA-STEFANIAK, K., KONOPKA, A., NOWAK, M., LECION, D., KAŻMIERCZAK, Z., MAJEWSKA, J., HARHALA, M., GÓRSKI, A. et DĄBROWSKA, K. « T4 Phage Tail Adhesin Gp12 Counteracts LPS-Induced Inflammation In Vivo ». *Frontiers in Microbiology*. 2016. Vol. 7, pp. 1112. DOI [10.3389/fmicb.2016.01112](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01112).

- 134- VAN BELLEGHEM, J.D., CLEMENT, F., MERABISHVILI, M., LAVIGNE, R. et VANEECHOUTTE, M. « Pro- and anti-inflammatory responses of peripheral blood mononuclear cells induced by Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa phages ». *Scientific Reports*. 14 2017. Vol. 7, n° 1, pp. 8004. DOI [10.1038/s41598-017-08336-9](https://doi.org/10.1038/s41598-017-08336-9).
- 135- MIERNIKIEWICZ, P., DĄBROWSKA, K., PIOTROWICZ, A., OWCZAREK, B., WOJAS-TUREK, J., KICIELIŃSKA, J., ROSSOWSKA, J., PAJTASZ-PIASECKA, E., HODYRA, K., MACEGONIUK, K., RZEWUCKA, K., KOPCIUCH, A., MAJKA, T., LETAROV, A., KULIKOV, E., MACIEJEWSKI, H. et GÓRSKI, A. « T4 phage and its head surface proteins do not stimulate inflammatory mediator production ». *PloS One*. 2013. Vol. 8, n° 8, pp. e71036. DOI [10.1371/journal.pone.0071036](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071036).
- 136- DUFOUR, N., DELATTRE, R., CHEVALLEREAU, RICARD, J.-D. et DEBARBIEUX, L. « Phage Therapy of Pneumonia Is Not Associated with an Overstimulation of the Inflammatory Response Compared to Antibiotic Treatment in Mice ». *Antimicrobial agents and chemotherapy* [en ligne]. 25 juillet 2019. [Consulté le 2 décembre 2020]. Disponible à l'adresse : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31182526/>
- 137- GOGOKHIA, L., BUHRKE, K., BELL, R., HOFFMAN, B., BROWN, D. G., HANKE-GOGOKHIA, C., AJAMI, N.J., WONG, M.C., GHAZARYAN, A., VALENTINE, J. F., PORTER, N., MARTENS, E., O'CONNELL, R., JACOB, V., SCHERL, E., CRAWFORD, C., STEPHENS, W.Z., CASJENS, S.R., LONGMAN, R.S. et ROUND, J.L. « Expansion of bacteriophages is linked to aggravated intestinal inflammation and colitis ». *Cell host & microbe*. 13 février 2019. Vol. 25, n° 2, pp. 285- 299.e8. DOI [10.1016/j.chom.2019.01.008](https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.008).
- 138- ZHANG, L., HOU, X., SUN, L., HE, T., WEI, R., PANG, M. et WANG, R. « Staphylococcus aureus Bacteriophage Suppresses LPS-Induced Inflammation in MAC-T Bovine Mammary Epithelial » Cells. *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9, pp. 1614. DOI [10.3389/fmicb.2018.01614](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01614).
- 139- GÓRSKI, A., DĄBROWSKA, K., MIĘDZYBRODZKI, R., WEBER-DĄBROWSKA, B., ŁUSIAK-SZELACHOWSKA, M., JOŃCZYK-MATYSIAK, E. et BORYSOWSKI, J. « Phages and immunomodulation ». *Future Microbiology*. 2017. Vol. 12, pp. 905-914. DOI [10.2217/fmb-2017-0049](https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0049).
- 140- CAFORA, M., DEFLORIAN, G., FORTI, F., FERRARI, L., BINELLI, G., BRIANI, F., GHISOTTI, D. et PISTOCCHI, A. « Phage therapy against Pseudomonas aeruginosa infections in a cystic fibrosis zebrafish model ». *Scientific Reports*. 6 février 2019. Vol. 9, n° 1, pp. 1527. DOI [10.1038/s41598-018-37636-x](https://doi.org/10.1038/s41598-018-37636-x).
- 141- ABEDON, S.T. et THOMAS-ABEDON, C. « Phage therapy pharmacology ». *Current Pharmaceutical Biotechnology*. janvier 2010. Vol. 11, n° 1, pp. 28-47. DOI [10.2174/138920110790725410](https://doi.org/10.2174/138920110790725410).
- 142- SPECK, P. et SMITHYMAN, A. « Safety and efficacy of phage therapy via the intravenous route ». *FEMS microbiology letters*. février 2016. Vol. 363, n° 3. DOI [10.1093/femsle/fnv242](https://doi.org/10.1093/femsle/fnv242).
- 143- SULAKVELIDZE, A. et KUTTER, E. « Bacteriophage Therapy in Humans ». 2004. ISBN 978-0-8493-1336-3.

- 144- FOGELMAN, I., DAVEY, V., OCHS, H. D., ELASHOFF, M., FEINBERG, M. B., MICAN, J., SIEGEL, J. P., SNELLER, M. et LANE, H. C. « Evaluation of CD4+ T cell function In vivo in HIV-infected patients as measured by bacteriophage phiX174 immunization ». *The Journal of Infectious Diseases*. août 2000. Vol. 182, n° 2, pp. 435-441. DOI [10.1086/315739](https://doi.org/10.1086/315739).
- 145- LOC-CARRILLO, C. et ABEDON, S.T. « Pros and cons of phage therapy ». *Bacteriophage*. 2011. Vol. 1, n° 2, pp. 111-114. DOI [10.4161/bact.1.2.14590](https://doi.org/10.4161/bact.1.2.14590).
- 146- DUFOUR, N., DELATTRE, R., RICARD, J.-D. et DEBARBIEUX, L. « The Lysis of Pathogenic Escherichia coli by Bacteriophages Releases Less Endotoxin Than by β -Lactams ». *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1 juin 2017. Vol. 64, n° 11, pp. 1582-1588. DOI [10.1093/cid/cix184](https://doi.org/10.1093/cid/cix184).
- 147- BRIX, A., CAFORA, M., AURELI, M. et PISTOCCHI, A. « Animal Models to Translate Phage Therapy to Human Medicine ». *International Journal of Molecular Sciences*. 25 mai 2020. Vol. 21, n° 10. DOI [10.3390/ijms21103715](https://doi.org/10.3390/ijms21103715).
- 148- BRUTTIN, A. et BRÜSSOW, H. « Human Volunteers Receiving Escherichia coli Phage T4 Orally: a Safety Test of Phage Therapy ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. juillet 2005. Vol. 49, n° 7, pp. 2874-2878. DOI [10.1128/AAC.49.7.2874-2878.2005](https://doi.org/10.1128/AAC.49.7.2874-2878.2005).
- 149- MEADEN, S. et KOSKELLA, B. « Exploring the risks of phage application in the environment ». *Frontiers in Microbiology*. 29 novembre 2013. Vol. 4, pp. 358. DOI [10.3389/fmicb.2013.00358](https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00358).
- 150- Fédération des Fabricants d'Aliments pour Chiens, Chats, Oiseaux et autres animaux familiers, « Rapport annuel Facco 2020 », 2020. Disponible en ligne à : <https://www.facco.fr/wpcontent/uploads/2020/09/FACCO-RAPPORT-2020.pdf>
- 151- FURUSAWA, T., IWANO, H., HIGUCHI, H., YOKOTA, H., USUI, M., IWASAKI, T., et TAMURA, Y. « Bacteriophage Can Lyse Antibiotic-Resistant Pseudomonas Aeruginosa Isolated from Canine Diseases ». *Journal of Veterinary Medical Science* 78, n° 6 (juin 2016): 1035-38. <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0310>.
- 152- POOLE, K. « Pseudomonas Aeruginosa: Resistance to the Max ». *Frontiers in Microbiology* 2 (2011). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00065>.
- 153- HOIBY, N., BJARNSHOLT, T., GISKOV, M., MOLIN, S., et CIOFU, O. « Antibiotic Resistance of Bacterial Biofilms ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 35, n° 4 (1 avril 2010): 322-32. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011>.
- 154- RUBIN, J., WALKER, R. D., BLICKENSTAFF, K., BODEIS-JONES, et ZHAO, S. « Antimicrobial Resistance and Genetic Characterization of Fluoroquinolone Resistance of Pseudomonas Aeruginosa Isolated from Canine Infections ». *Veterinary Microbiology* 131, n° 1-2 (18 septembre 2008): 164-72. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.02.018>.
- 155- MARZA, J. A. S., SOOTHILL, J. S., BOYDELL, P., et COLLYNS, T.A. « Multiplication of Therapeutically Administered Bacteriophages in Pseudomonas Aeruginosa Infected Patients ». *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries* 32, n° 5 (août 2006): 644-46. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2006.02.012>.

- 156- CARMINE DE MELO, A.C., GOMES A., MELO, F.L., ARDISSON-ARAUJO, D.M.P., CASTAGNA DE VARGAS, A. P., *et al* « Characterization of a Bacteriophage with Broad Host Range against Strains of *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Domestic Animals ». *Bmc Microbiology* 19 (17 juin 2019): 134. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1481-z>.
- 157- FUJIKI, J., FURUSAWA, T., MUNBY, M., KAWAGUCHI, C., MATSUDA, Y., SHIOKURA, Y., NAKAMURA, K., *et al*. « Susceptibility Of *Pseudomonas Aeruginosa* Veterinary Isolates To *Pbunavirus* PB1-like Phages ». *Microbiology and Immunology* 64, n° 11 (novembre 2020): 778-82. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12846>.
- 158- SANTOS, T.M. A., LEDBETTER, E.C., CAIXETA, L. S., BICALHO, M. et BICALHO, R. « Isolation and Characterization of Two Bacteriophages with Strong in Vitro Antimicrobial Activity against *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Dogs with Ocular Infections ». *American Journal of Veterinary Research* 72, n° 8 (août 2011): 1079-86. <https://doi.org/10.2460/ajvr.72.8.1079>.
- 159- HAWKINS, C., HARPER, D., BURCH, D., ANGGARD, E., et SOOTHILL, J. « Topical Treatment of *Pseudomonas Aeruginosa* Otitis of Dogs with a Bacteriophage Mixture: A before/after Clinical Trial ». *Veterinary Microbiology* 146, n° 3 (15 décembre 2010): 309-13. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.05.014>.
- 160- HAAG, A.F., FITZJERALD, J.R. et PENADES, R.J. « *Staphylococcus Aureus* in Animals ». *Microbiology Spectrum* 7, n° 3 (mai 2019): GPP3-0060-2019. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0060-2019>.
- 161- MOONEY, M.C., STILES, J., TOWNSEND, W.M., GUPTILL, L. et WEESE, J.S. « Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus* Spp. in the Conjunctival Sac of Healthy Dogs ». *Veterinary Ophthalmology* 18, n° 2 (mars 2015) : 123-26. <https://doi.org/10.1111/vop.12130>.
- 162- BANNOEHR, J., et GUARDABASSI, L. « *Staphylococcus Pseudintermedius* in the Dog : Taxonomy, Diagnostics, Ecology, Epidemiology and Pathogenicity ». *Veterinary Dermatology* 23, n° 4 (août 2012): 253-66, e51-52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01046.x>.
- 163- HARTANTYO, S. H. P., CHAU, M.L., FILLON, L., ARIFF, A. Z. B.M., KANG, J.S.L., AUNG, K.T., et GUTIERREZ, R.A. « Sick pets as potential reservoirs of antibiotic-resistant bacteria in Singapore ». *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 7, n° 1 (31 août 2018) : 106. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0399-9>.
- 164- LAARHOVEN, L. M., HEUS, P., VAN LUIJN, J., DUIM, B., WAGENAAR, J. A., et VAN DUIJKEREN, E. « Longitudinal Study on Methicillin-Resistant *Staphylococcus Pseudintermedius* in Households ». *PLOS ONE* 6, n° 11 (23 novembre 2011): e27788. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027788>.
- 165- VAN DUIJKEREN, E., KAMPHUIS, M., VAN DER MIJE, I. C., LAARHOVEN, L. M., DUIM, B., WAGENAAR, J. A., et HOUWERS, D. J. « Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Pseudintermedius* between Infected Dogs and Cats and Contact Pets, Humans and the Environment in Households and Veterinary Clinics ». *Veterinary Microbiology* 150, n° 3 (2 juin 2011) : 338-43. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.02.012>.
- 166- GUARDABASSI, L., SCHWARZ, S., et LLOYD, D.H. « Pet Animals as Reservoirs of Antimicrobial-Resistant Bacteria ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 54, n° 2 (août 2004) : 321-32. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh332>.

- 167- Committee for Veterinary Medicinal Product, EMEA « European Medicines Agency | Reflection paper on meticillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* » (4 février 2011) https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-meticillin-resistant-staphylococcus-pseudintermedius_en.pdf
- 168- HILLIER, A., LLOYD, D. H., WEESE, J. S., BLONDEAU, J. M., BOOTHE, D., BREITSCHWERDT, E., GIARDABASSI, L., *et al.* « Guidelines for the Diagnosis and Antimicrobial Therapy of Canine Superficial Bacterial Folliculitis (Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases) ». *Veterinary Dermatology* 25, n° 3 (2014): 163-e43. <https://doi.org/10.1111/vde.12118>.
- 169- LYNCH, S. A., *et* HELBIG, K. J. « The Complex Diseases of *Staphylococcus pseudintermedius* in Canines: Where to Next? » *Veterinary Sciences* 8, n° 1 (18 janvier 2021). <https://doi.org/10.3390/vetsci8010011>.
- 170- AKC Canine Health Foundation « Investigating the Potential of Phage Therapy to Tackle *Staphylococcus pseudintermedius* Infections in Dogs ». [en ligne] Consulté le 24 mars 2021. <https://www.akcchf.org/research/research-portfolio/2829.html>.
- 171- ZEMAN, M., BARDY, P., VRBOVSKA, V., ROUDNICKY, P., ZDRAHAL, Z., RUZICKOVA, V., DOSKAR, J., *et* PANTUCEK, R. « New Genus Fibriovirus in Siphoviridae Phages of *Staphylococcus Pseudintermedius* ». *Viruses* 11, n° 12 (10 décembre 2019). <https://doi.org/10.3390/v11121143>.
- 172- MOODLEY, A., KOT, W., NALGARD, S., JAKOCIUNE, D., NEVE, H., HANSEN, L. H., GUARDABASSI, L., *et* VOGENSEN, F. K. « Isolation and Characterization of Bacteriophages Active against Methicillin-Resistant *Staphylococcus Pseudintermedius* ». *Research in Veterinary Science* 122 (février 2019) : 81-85. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.11.008>.
- 173- AZAM, A. H., KADOI, K., MIYANAGA, K., USUI, M., TAMURA, Y., CUI, L., *et* TANJI, Y.. « Analysis Host-Recognition Mechanism of Staphylococcal Kayvirus ϕ SA039 Reveals a Novel Strategy That Protects *Staphylococcus Aureus* against Infection by *Staphylococcus Pseudintermedius* Siphoviridae Phages ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 103, n° 16 (août 2019): 6809-23. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09940-7>.
- 174- NAKAMURA, T., KITANA, J., FUJIKI, J., TAKASE, M., IYORI, K., SIMOIKE, K., *et* IWANOL, H. « Lytic Activity of Polyvalent Staphylococcal Bacteriophage PhiSA012 and Its Endolysin Lys-PhiSA012 Against Antibiotic-Resistant Staphylococcal Clinical Isolates From Canine Skin Infection Sites ». *Frontiers in Medicine* 7 (10 juin 2020) 234. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00234>.
- 175- GORDILLO ALTAMIRANO, F. L. *et* BARR, J.J. « Phage Therapy in the Postantibiotic Era ». *Clinical Microbiology Reviews*. 2019. Vol. 32, n° 2. DOI [10.1128/CMR.00066-18](https://doi.org/10.1128/CMR.00066-18).
- 176- FUJIKI, J., NAKAMURA, T., FURUSAWA, T., OHNO, H., TAKAHASHI, H., KITANA, J., USUI, M., *et al.* « Characterization of the Lytic Capability of a LysK-Like Endolysin, Lys-phiSA012, Derived from a Polyvalent *Staphylococcus aureus* Bacteriophage ». *Pharmaceuticals* 11 (24 février 2018): 25. <https://doi.org/10.3390/ph11010025>.

- 177- PAUL, V. D., RAJAGOPALAN, S. S., SUNDARRAJAN, S., GEORGE, S. E., ASRANI, J. Y., PILLAI, R., CHIKKAMADAIHAH, R., DURGAIAH, M., SRIRAM, B., et PADMANABHAN, S. « A novel bacteriophage Tail-Associated Muralytic Enzyme (TAME) from Phage K and its development into a potent antistaphylococcal protein ». *BMC Microbiology* 11 (11 octobre 2011): 226. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-226>.
- 178- JUNJAPPA, R. P., DESAI, S. N., ROY, P., NARASIMHASWAMY, N., RAJ, J. R. M., DURGAIAH, M., VIPRA, A., et al. « Efficacy of Anti-Staphylococcal Protein P128 for the Treatment of Canine Pyoderma: Potential Applications ». *Veterinary Research Communications* 37, n° 3 (septembre 2013): 217-28. <https://doi.org/10.1007/s11259-013-9565-y>.
- 179- URBAN-CHMIEL, R., BALICKI, I., SWIADER, K., NOWACZEK, A., PYZIK, E., STEPIEN-PYSNIAK, D., MAREK, A., et al. « The in Vitro Efficacy of Eye Drops Containing a Bacteriophage Solution Specific for Staphylococcus Spp. Isolated from Dogs with Bacterial Conjunctivitis ». *Irish Veterinary Journal* 73, n° 1 (4 novembre 2020): 21. <https://doi.org/10.1186/s13620-020-00175-x>.
- 180- WOOD, M. W. « Lower urinary tract infections », *Textbook of Veterinary Internal medicine eighth edition*, Chapter 330, p1992-1996, 2017, Elsevier
- 181- SWENSON, C. L., BOISVERT, A. M., GIBBONS-BURGENER, S. N., et KRUGER, J. M. « Evaluation of Modified Wright-Staining of Dried Urinary Sediment as a Method for Accurate Detection of Bacteriuria in Cats ». *Veterinary Clinical Pathology* 40, n° 2 (2011): 256-64. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2011.00314.x>.
- 182- LITSTER, A., THOMPSON, M., MOSS, S., et TROTT, D. « Feline bacterial urinary tract infections: An update on an evolving clinical problem ». *Veterinary journal (London, England : 1997)* 187 (31 janvier 2011): 18-22. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.12.006>.
- 183- THOMPSON, M., LITSTER, A., PLATELL, J., et TROTT, D. « Canine bacterial urinary tract infections: New developments in old pathogens ». *Veterinary journal (London, England : 1997)* 190 (1 octobre 2011): 22-27. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.11.013>.
- 184- SIDJABAT, H., TOWNSEND, K., LORENTZEN, M., GOBIUS, K., FEGAN, N., CHIN, J., BETTELHEIM, K., HANSON, N., BENSINK, J., et TROTT, D. « Emergence and spread of two distinct clonal groups of multidrug-resistant Escherichia coli in a veterinary teaching hospital in Australia ». *Journal of medical microbiology* 55 (1 septembre 2006): 1125-34. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46598-0>.
- 185- FREITAG, T., SQUIRES, R. A., et SCHMID, J. « Naturally Occurring Bacteriophages Lyse a Large Proportion of Canine and Feline Uropathogenic Escherichia Coli Isolates in Vitro ». *Research in Veterinary Science* 85, n° 1 (août 2008): 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.09.004>.
- 186- MUGHINI-GRAS, L., HECK, M., et VAN PELT, W. « Increase in reptile-associated human salmonellosis and shift toward adulthood in the age groups at risk, the Netherlands, 1985 to 2014 ». *Eurosurveillance* 21, n° 34 (25 août 2016). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.34.30324>.

- 187- RENFERT, K., RABSCH, W., FRUTH, A., SPECK, S., et PEES, M. « The Use of a Salmonella Bacteriophage in Bearded Dragons: Application, Passage Time and Reisolation ». *Tieraerztliche Praxis Ausgabe Kleintiere Heimtiere* 47, n° 4 (août 2019): 247-56. <https://doi.org/10.1055/a-0959-5528>.
- 188- RENFERT, K., RABSCH, W., FRUTH, A., MARSCHANG, R., SPECK, S., et PEES, M. « Influence of Salmonella specific bacteriophages (O1; S16) on the shedding of naturally occurring Salmonella and an orally applied Salmonella Eastbourne strain in bearded dragons (*Pogona vitticeps*) ». *Veterinary Medicine and Science* 7 (7 novembre 2020). <https://doi.org/10.1002/vms3.388>.
- 189- Ministère de l'agriculture et de l'alimentation « *Infographie - L'élevage français* ». [en ligne] Consulté le 21 avril 2021. <https://agriculture.gouv.fr/infographie-lelevage-francais>.
- 190- Institut de l'élevage « *Chiffres-Clés Bovins 2020* ». [En ligne] Consulté le 21 avril 2021. http://idele.fr/no_cache/recherche/publication/idelesolr/recommends/chiffres-cles-bovins-2020.html.
- 191- HALASA, T., HUIJPS, K., OSTERAS, O., et HOGEVEEN, H. « Economic Effects of Bovine Mastitis and Mastitis Management : A Review ». *The Veterinary Quarterly* 29, n° 1 (mars 2007) : 18-31. <https://doi.org/10.1080/01652176.2007.9695224>.
- 192- BRADLEY, A. J., LEACH, K. A. , BREEN, J. E., GREEN, L. E., et GREEN, M. J. « Survey of the Incidence and Aetiology of Mastitis on Dairy Farms in England and Wales ». *The Veterinary Record* 160, n° 8 (24 février 2007): 253-57. <https://doi.org/10.1136/vr.160.8.253>.
- 193- ANGELOPOULOU, A, WARDA, A. K., HILL, C., et ROSS, R. P. « Non-Antibiotic Microbial Solutions for Bovine Mastitis - Live Biotherapeutics, Bacteriophage, and Phage Lysins ». *Critical Reviews in Microbiology* 45, n° 5-6 (novembre 2019): 564-80. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2019.1648381>.
- 194- BOGNI, C., ODIERNO, L., RASPANTI, C., GIRAUDO, J., LARRIESTRA, A., REINOSO, E., LASAGNO, M., *et al.* « War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens ». *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 1 janvier 2011.
- 195- HUIJPS, K., LAM, T.J., et HOGEVEEN, H. « Costs of Mastitis : Facts and Perception ». *The Journal of Dairy Research* 75, n° 1 (février 2008) : 113-20. <https://doi.org/10.1017/S0022029907002932>.
- 196- BOIREAU, C., CAZEAU, G., JARRIGE, N., CALAVAS, D., MADEC, J.-Y., LEBLOND, A., HAENNI, M., et GAY, E. « Antimicrobial Resistance in Bacteria Isolated from Mastitis in Dairy Cattle in France, 2006–2016 ». *Journal of Dairy Science* 101, n° 10 (1 octobre 2018): 9451-62. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14835>.
- 197- O'FLAHERTY, S., ROSS R. P., MEANEY, W., FITZGERALD, G. F., ELBREKI, M. F., et COFFEY, A. « Potential of the Polyvalent Anti-Staphylococcus Bacteriophage K for Control of Antibiotic-Resistant Staphylococci from Hospitals ». *Applied and Environmental Microbiology* 71, n° 4 (avril 2005) : 1836-42. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.4.1836-1842.2005>.
- 198- LOPONTE, R., PAGNINI, U., IOVANE, G. et PISANELLI, G. « Phage Therapy in Veterinary Medicine ». *Antibiotics*. 11 avril 2021. Vol. 10, pp. 421. DOI [10.3390/antibiotics10040421](https://doi.org/10.3390/antibiotics10040421).

- 199- GILL, J. J., PACAN, J. C., CARSON, M. E., LESLIE, K. E., GRIFFITHS, M. W., et SABOUR, P. M. « Efficacy and Pharmacokinetics of Bacteriophage Therapy in Treatment of Subclinical Staphylococcus Aureus Mastitis in Lactating Dairy Cattle ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50, n° 9 (septembre 2006) : 2912-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01630-05>.
- 200- GILL, J. J., SABOUR, P. M., LESLIE, K. E., et GRIFFITHS, M. W. « Bovine Whey Proteins Inhibit the Interaction of Staphylococcus Aureus and Bacteriophage K ». *Journal of Applied Microbiology* 101, n° 2 (août 2006): 377-86. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02918.x>.
- 201- O'FLAHERTY, S., COFFEY, A., MEANEY, W. J., FITZGERALD, G. F., et ROSS, R. P. « Inhibition of Bacteriophage K Proliferation on Staphylococcus Aureus in Raw Bovine Milk ». *Letters in Applied Microbiology* 41, n° 3 (2005): 274-79. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01762.x>.
- 202- DIAS, R. S., ELLER, M. R., DUARTE, V. S., PEREIRA, Â. L., SILVA, C. C., MANTOVANI, H. C., OLIVEIRA, L. L., SILVA, E. de A. M., et DE PAULA, S. O. « Use of Phages against Antibiotic-Resistant Staphylococcus Aureus Isolated from Bovine Mastitis ». *Journal of Animal Science* 91, n° 8 (août 2013): 3930-39. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5884>.
- 203- GANAIE, M. Y., QURESHI, S., KASHOO, Z., WANI, S. A., HUSSAIN, M. I., KUMAR, R., MAQBOOL, R., et al. « Isolation and Characterization of Two Lytic Bacteriophages against Staphylococcus Aureus from India: Newer Therapeutic Agents against Bovine Mastitis ». *Veterinary Research Communications* 42, n° 4 (décembre 2018): 289-95. <https://doi.org/10.1007/s11259-018-9736-y>.
- 204- TITZE, I., LEHNHERR, T., LEHNHERR, H., et KROEMKER, V. « Efficacy of Bacteriophages Against Staphylococcus Aureus Isolates from Bovine Mastitis ». *Pharmaceuticals* 13, n° 3 (mars 2020): 35. <https://doi.org/10.3390/ph13030035>.
- 205- BAI, Q., ZHANG, W., YANG, Y., TANG, F., NGUYEN, X., LIU, G., et LU, C. « Characterization and Genome Sequencing of a Novel Bacteriophage Infecting Streptococcus Agalactiae with High Similarity to a Phage from Streptococcus Pyogenes ». *Archives of Virology* 158, n° 8 (1 août 2013) : 1733-41. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1667-x>.
- 206- MCLEAN, S., DUNN, L., et PALOMBO, E. « Phage Inhibition of Escherichia coli in Ultrahigh-Temperature-Treated and Raw Milk ». *Foodborne pathogens and disease* 10 (2 août 2013). <https://doi.org/10.1089/fpd.2012.1473>.
- 207- PORTER, J., ANDERSON, J., CARTER, L., DONJACOUR, E., et PAROS, M. « In Vitro Evaluation of a Novel Bacteriophage Cocktail as a Preventative for Bovine Coliform Mastitis ». *Journal of Dairy Science* 99, n° 3 (mars 2016): 2053-62. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9748>.
- 208- DONOVAN, D. M., LARDEO, M., et FOSTER-FREY, J. « Lysis of Staphylococcal Mastitis Pathogens by Bacteriophage Phi11 Endolysin ». *FEMS Microbiology Letters* 265, n° 1 (décembre 2006): 133-39. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00483.x>.
- 209- SCHMELCHER, M., POWELL, A. M., BECKER, S. C., CAMP, M. J., et DONOVAN, D. M. « Chimeric Phage Lysins Act Synergistically with Lysostaphin to Kill Mastitis-Causing Staphylococcus Aureus in Murine Mammary Glands ». *Applied and Environmental Microbiology* 78, n° 7 (avril 2012): 2297-2305. <https://doi.org/10.1128/AEM.07050-11>.

- 210- ZHOU, Y., ZHANG, H., BAO, H., WANG, X., et WANG, R. « The Lytic Activity of Recombinant Phage Lysin LysK Δ amidase against Staphylococcal Strains Associated with Bovine and Human Infections in the Jiangsu Province of China ». *Research in Veterinary Science* 111 (avril 2017): 113-19. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.02.011>.
- 211- SCHMELCHER, M., POWELL, A. M., CAMP, M. J., POHL, C. S., et DONOVAN, D. M. « Synergistic Streptococcal Phage Λ SA2 and B30 Endolysins Kill Streptococci in Cow Milk and in a Mouse Model of Mastitis ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 99, n° 20 (octobre 2015): 8475-86. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6579-0>.
- 212- VANDER ELST, N., LINDEN, S. B., LAVIGNE, R., MEYER, E., BRIERS, Y., et NELSON, D. C. « Characterization of the Bacteriophage-Derived Endolysins PlySs2 and PlySs9 with In Vitro Lytic Activity against Bovine Mastitis Streptococcus Uberis ». *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 9, n° 9 (19 septembre 2020). <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090621>.
- 213- FOSTER, D. M., et SMITH, G. W. « Pathophysiology of Diarrhea in Calves ». *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 25, n° 1 (mars 2009): 13-36, xi. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.013>.
- 214- MCGUIRK, S. M. « Disease Management of Dairy Calves and Heifers ». *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 24, n° 1 (mars 2008): 139-53. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.003>.
- 215- GOMEZ, D. E., et WEESE, J. S. « Viral enteritis in calves ». *The Canadian Veterinary Journal* 58, n° 12 (décembre 2017): 1267-74.
- 216- SMITH, H. W., et HUGGINS, M. B. « Effectiveness of Phages in Treating Experimental Escherichia Coli Diarrhoea in Calves, Piglets and Lambs ». *Journal of General Microbiology* 129, n° 8 (août 1983): 2659-75. <https://doi.org/10.1099/00221287-129-8-2659>.
- 217- BARROW, P. A. « The Use of Bacteriophages for Treatment and Prevention of Bacterial Disease in Animals and Animal Models of Human Infection ». *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 76, n° 7 (2001): 677-82. <https://doi.org/10.1002/jctb.436>.
- 218- SMITH, H. W., HUGGINS, M. B., et SHAW, K. M. « The Control of Experimental Escherichia Coli Diarrhoea in Calves by Means of Bacteriophages ». *Journal of General Microbiology* 133, n° 5 (mai 1987): 1111-26. <https://doi.org/10.1099/00221287-133-5-1111>.
- 219- SMITH, H. W., HUGGINS, M. B., et SHAW, K. M. « Factors Influencing the Survival and Multiplication of Bacteriophages in Calves and in Their Environment ». *Journal of General Microbiology* 133, n° 5 (mai 1987): 1127-35. <https://doi.org/10.1099/00221287-133-5-1127>.
- 220- BICALHO, M. L. S., MACHADO, V. S., NYDAM, D. V., SANTOS, T. M. A., et BICALHO, R. C. « Evaluation of Oral Administration of Bacteriophages to Neonatal Calves: Phage Survival and Impact on Fecal Escherichia Coli ». *Livestock Science* 144, n° 3 (avril 2012): 294-99. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.12.007>.
- 221- ANAND, T., VAID, R. K., BERA, B. C., BARUA, S., RIYESH, T., VIRMANI, N., YADAV, N., et MALIK, P. « Isolation and Characterization of a Bacteriophage with Broad Host Range, Displaying Potential in Preventing Bovine Diarrhoea ». *Virus Genes* 51, n° 2 (1 octobre 2015): 315-21. <https://doi.org/10.1007/s11262-015-1222-9>.

- 222- URBAN-CHMIEL, R., ALOMARI, M., MARTA, D., NOWACZEK, A., DIANA, S., ANDRZEJ, P., ANDRZEJ, W. et CEZARY, K. « THE EXPERIMENTAL PHAGE THERAPIES OF DIARRHOEA IN NEWBORN CALVES ». Hongrie, 30 mai 2018.
- 223- MAJOWICZ, S. E., SCALLAN, E., JONES-BITTON, A., SARGEANT, J. M., STAPLETON, J., ANGULO, F. J., YEUNG, D. H., et KIRK, M. D. « Global Incidence of Human Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli Infections and Deaths: A Systematic Review and Knowledge Synthesis ». *Foodborne Pathogens and Disease* 11, n° 6 (juin 2014): 447-55. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1704>.
- 224- WELLS, J. G., SHIPMAN, L. D., GREENE, K. D., SOWERS, E. G., GREEN, J. H., CAMERON, D. N., DOWNES, F. P., MARTIN, M. L., GRIFFIN, P. M., et OSTROFF, S. M. « Isolation of Escherichia coli serotype O157:H7 and other Shiga-like-toxin-producing E. coli from dairy cattle. » *Journal of Clinical Microbiology* 29, n° 5 (mai 1991): 985-89.
- 225- MUNNS, K. D., SELINGER, L. B., STANFORD, K., GUAN, L., CALLAWAY, T. R., et MCALLISTER, T. A. « Perspectives on Super-Shedding of Escherichia Coli O157:H7 by Cattle ». *Foodborne Pathogens and Disease* 12, n° 2 (février 2015): 89-103. <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1829>.
- 226- SHENG, H., KNECHT, H. J., KUDVA, I. T., et HOVDE, C. J. « Application of Bacteriophages to Control Intestinal Escherichia Coli O157:H7 Levels in Ruminants ». *Applied and Environmental Microbiology* 72, n° 8 (août 2006): 5359-66. <https://doi.org/10.1128/AEM.00099-06>.
- 227- WANG, L., QU, K., LI, X., CAO, Z., WANG, X., LI, Z., SONG, Y., et XU, Y. « Use of Bacteriophages to Control Escherichia Coli O157:H7 in Domestic Ruminants, Meat Products, and Fruits and Vegetables ». *Foodborne Pathogens and Disease* 14, n° 9 (septembre 2017): 483-93. <https://doi.org/10.1089/fpd.2016.2266>.
- 228- NIU, Y. D., MCALLISTER, T. A., XU, Y., JOHNSON, R. P., STEPHENS, T. P., et STANDONF, K. « Prevalence and Impact of Bacteriophages on the Presence of Escherichia Coli O157:H7 in Feedlot Cattle and Their Environment ». *Applied and Environmental Microbiology* 75, n° 5 (1 mars 2009): 1271-78. <https://doi.org/10.1128/AEM.02100-08>.
- 229- O'FLYNN, G., ROSS, R. P., FITZGERALD, G. F., et COFFEY, A. « Evaluation of a Cocktail of Three Bacteriophages for Biocontrol of Escherichia Coli O157:H7 ». *Applied and Environmental Microbiology* 70, n° 6 (1 juin 2004): 3417-24. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.6.3417-3424.2004>.
- 230- RIVAS, L. « In Vivo and Ex Vivo Evaluations of Bacteriophages e11/2 and e4/1c for Use in the Control of Escherichia coli O157:H7 » *Applied and Environmental Microbiology* 76, n°21 (1 novembre 2010). <https://doi.org/10.1128/AEM.01530-10>
- 231- CALLAWAY, T. R., EDRINGTON, T. S., BRABBAN, A. D., ANDERSON, R. C., ROSSMAN, M. L., ENGLER, M. J., CARR, M. A., et al. « Bacteriophage Isolated from Feedlot Cattle Can Reduce Escherichia Coli O157:H7 Populations in Ruminant Gastrointestinal Tracts ». *Foodborne Pathogens and Disease* 5, n° 2 (avril 2008): 183-91. <https://doi.org/10.1089/fpd.2007.0057>.

- 232- NIU, Y. D., XU, Y., MCALLISTER, T. A., ROZEMA, E. A., STEPHENS, T. P., BACH, S. J., JOHNSON, R. P., et STANFORD, K. « Comparison of Fecal versus Rectoanal Mucosal Swab Sampling for Detecting Escherichia Coli O157:H7 in Experimentally Inoculated Cattle Used in Assessing Bacteriophage as a Mitigation Strategy ». *Journal of Food Protection* 71, n° 4 (avril 2008): 691-98. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-71.4.691>.
- 233- ROZEMA, E. A., STEPHENS, T. P., BACH, S. J., OKINE, E. K., JOHNSON, R. P., STANFORD, K., et MCALLISTER, T. A. « Oral and Rectal Administration of Bacteriophages for Control of Escherichia Coli O157:H7 in Feedlot Cattle ». *Journal of Food Protection* 72, n° 2 (février 2009): 241-50. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.2.241>.
- 234- MEIRA, E. B. S., ROSSI, R. S., TEIXEIRA, A. G., KACAR, C., OIKONOMOU, G. , GREGORY, L., et BICALHO, R. C. « The Effect of Prepartum Intravaginal Bacteriophage Administration on the Incidence of Retained Placenta and Metritis ». *Journal of Dairy Science* 96, n° 12 (1 décembre 2013): 7658-65. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6774>.
- 235- France Agrimer - Direction Marchés, études et perspectives Unité Elevage - « Filière porcine : situation des marchés, conseil spécialisé Viandes Blanches » – 19 septembre 2019. [en ligne] <https://www.franceagrimer.fr/content/download/62303/document/NCO-DIA-VBL-PORC-2019-09-19.pdf#page=3&zoom=auto,531,-196>
- 236- THACKER, P. A. « Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review ». *Journal of Animal Science and Biotechnology* 4, n° 1 (14 septembre 2013): 35. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-35>.
- 237- BORIES, M. G. « Rapport concernant l'utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance en alimentation animale ». Paris, France : Commission interministérielle et interprofessionnelle de l'alimentation animale, 1998. [En ligne] [consulté le 18 décembre 2021] Disponible à l'adresse : <https://www.vie-publique.fr/sites/default/files/rapport/pdf/004000267.pdf>
- 238- HU, Y. J., et COWLING, B. J. « Reducing Antibiotic Use in Livestock, China ». *Bulletin of the World Health Organization* 98, n° 5 (1 mai 2020): 360-61. <https://doi.org/10.2471/BLT.19.243501>.
- 239- ANSES. « Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2020. Rapport annuel ». Anses-ANMV [en ligne]. 2021. [Consulté le 20 avril 2022]. Disponible à l'adresse: <https://www.anses.fr/fr/system/files/ANMV-Ra-Antibiotiques2020.pdf>
- 240- FAIRBROTHER, J. M., NADEAU, E., et GYLES, C. L. « Escherichia Coli in Postweaning Diarrhea in Pigs: An Update on Bacterial Types, Pathogenesis, and Prevention Strategies ». *Animal Health Research Reviews* 6, n° 1 (juin 2005): 17-39. <https://doi.org/10.1079/ahr2005105>.
- 241- DOCIC, M., et BILKEI, G. « Differences in Antibiotic Resistance in Escherichia Coli, Isolated from East-European Swine Herds with or without Prophylactic Use of Antibiotics ». *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 50, n° 1 (février 2003): 27-30. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2003.00609.x>.

- 242- JOHNSON, R. P., GYLES, C. L., HUFF, W. E., OJHA, S., HUFF, G. R., RATH, N. C., et DONOGHUE A. M. « Bacteriophages for Prophylaxis and Therapy in Cattle, Poultry and Pigs ». *Animal Health Research Reviews* 9, n° 2 (décembre 2008): 201-15. <https://doi.org/10.1017/S1466252308001576>.
- 243- JAMALLUDEEN, N., JOHNSON, R. P., FRIENDSHIP, R., KROPINSKI, A. M., LINGOHR, E. J., et GYLES, C. L. « Isolation and Characterization of Nine Bacteriophages That Lyse O149 Enterotoxigenic Escherichia Coli ». *Veterinary Microbiology* 124, n° 1-2 (20 septembre 2007): 47-57. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.03.028>.
- 244- JAMALLUDEEN, N., JOHNSON, R. P., SHEWEN, P. E., et GYLES, C. L. « Evaluation of Bacteriophages for Prevention and Treatment of Diarrhea Due to Experimental Enterotoxigenic Escherichia Coli O149 Infection of Pigs ». *Veterinary Microbiology* 136, n° 1-2 (14 avril 2009): 135-41. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.021>.
- 245- CHA, S. B., YOO, A. N., LEE, W. J., SHIN, M. K., JUNG, M. H., SHIN, S. W., CHO, Y. W., et YOO, H. S. « Effect of Bacteriophage in Enterotoxigenic Escherichia Coli (ETEC) Infected Pigs ». *The Journal of Veterinary Medical Science* 74, n° 8 (août 2012): 1037-39. <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0556>.
- 246- FERREIRA, A., OLIVEIRA, H., SILVA, D., ALMEIDA, C., BURGAN, J., AZEREDO, J., et OLIVEIRA, A. « Complete Genome Sequences of Eight Phages Infecting Enterotoxigenic Escherichia Coli in Swine ». *Microbiology Resource Announcements* 9, n° 36 (3 septembre 2020). <https://doi.org/10.1128/MRA.00858-20>.
- 247- CONSTABLE, P.D., HINCHCLIFF, K. W., DONE, S. H., GRUNBERG, W. « Bacterial and Viral Diseases of the Alimentary tract : salmonellosis in swine », Chapter 7 : Diseases of the Alimentary Tract : non ruminant in *Veterinary medicine : A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats, eleventh edition* ; 2013 p292-308, Elsevier, St Louis Missouri
- 248- CASANOVA, L. M., HILL, V. R., et SOBSEY, M. D. « Antibiotic-Resistant Salmonella in Swine Wastes and Farm Surface Waters ». *Letters in Applied Microbiology* 71, n° 1 (juillet 2020): 117-23. <https://doi.org/10.1111/lam.13242>.
- 249- HARRIS, D. L. H. « Reduction of Salmonella by bacteriophage treatment » [en ligne]. Iowa : Iowa State University, 2000. [Consulté le 15 octobre 2021]. Pork Safety. Disponible à l'adresse: <https://live.porkcheckoff.org/wp-content/uploads/2021/02/99-230-Harris-ISU.pdf>
- 250- HARRIS, D. L. H. « The effect of bacteriophage treatment to reduce the rapid dissemination of Salmonella typhimurium in pigs » [en ligne]. Iowa : Iowa State University, 2001. [Consulté le 29 juin 2021]. Swine Research Report. Disponible à l'adresse: <https://core.ac.uk/reader/38888330>
- 251- WALL, S. K., ZHANG, J., ROSTAGNO, M. H., et EBNER, P. D. « Phage Therapy to Reduce Preprocessing Salmonella Infections in Market-Weight Swine ». *Applied and Environmental Microbiology* 76, n° 1 (janvier 2010): 48-53. <https://doi.org/10.1128/AEM.00785-09>.
- 252- SAEZ, A. C., ZHANG, J., ROSTAGNO, M. H., et EBNER, P. D. « Direct Feeding of Microencapsulated Bacteriophages to Reduce Salmonella Colonization in Pigs ». *Foodborne Pathogens and Disease* 8, n° 12 (1 décembre 2011): 1269-74. <https://doi.org/10.1089/fpd.2011.0905>.

- 253- CALLAWAY, T. R., EDRINGTON, T. S., BRABBAN, A., KUTTER, B., KARRIKER, L., STAHL, C., WAGSTROM, E., *et al.* « Evaluation of Phage Treatment as a Strategy to Reduce Salmonella Populations in Growing Swine ». *Foodborne Pathogens and Disease* 8, n° 2 (1 février 2011): 261-66. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0671>.
- 254- ALBINO, L. A. A., ROSTAGNO, M. H., HUNGARO, H. M., et MENDOCA, R. C. S. « Isolation, Characterization, and Application of Bacteriophages for Salmonella Spp. Biocontrol in Pigs ». *Foodborne Pathogens and Disease* 11, n° 8 (1 août 2014): 602-9. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1600>.
- 255- SEO, B.-J., SONG, E.-T., LEE, K., KIM, J.-W., JEONG, C.-G., MOON, S.-H., SON, J. S., *et al.* « Evaluation of the Broad-Spectrum Lytic Capability of Bacteriophage Cocktails against Various Salmonella Serovars and Their Effects on Weaned Pigs Infected with Salmonella Typhimurium ». *The Journal of Veterinary Medical Science* 80, n° 6 (6 juin 2018): 851-60. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0501>.
- 256- DESIREE, K., MOSIMANN, S., et EBNER, P. « Efficacy of Phage Therapy in Pigs: Systematic Review and Meta-Analysis ». *Journal of Animal Science* 99, n° 7 (1 juillet 2021): skab157. <https://doi.org/10.1093/jas/skab157>.
- 257- Horiguchi, Y. « Swine Atrophic Rhinitis Caused by Pasteurella Multocida Toxin and Bordetella Dermonecrotic Toxin ». *Current Topics in Microbiology and Immunology* 361 (2012): 113-29. https://doi.org/10.1007/82_2012_206.
- 258- CONSTABLE, P.D., HINCHCLIFF, K. W., DONE, S. H., GRUNBERG, W. « Diseases of the Swine respiratory tract : Progressive Atrophic Rhinitis (Conchal Atrophy of Swine) », Chapter 11 : Diseases of the Respiratory system in *Veterinary medicine : A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats, eleventh edition* ; 2013, p1047-1053, Elsevier, St Louis, Missouri
- 259- TURNQUIST, S. ; « Etiology and diagnosis of progressive atrophic rhinitis », *Swine Health and Production*, 1995
- 260- PETROVIC, A., KOSTANJSEK, R., RAKHELY, G., et KNEZEVIC, P. « The First Siphoviridae Family Bacteriophages Infecting Bordetella Bronchiseptica Isolated from Environment ». *Microbial Ecology* 73, n° 2 (février 2017): 368-77. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0847-0>.
- 261- CHEN, Y., YANG, L., SUN, E., SONG, J., et WU, B. « Characterisation of a Newly Detected Bacteriophage Infecting Bordetella Bronchiseptica in Swine ». *Archives of Virology* 164, n° 1 (janvier 2019): 33-40. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-4034-0>.
- 262- SZYMCZAK, M., GRYGORCEWICZ, B., KARCZEWSKA-GOLEC, J., DECEWICZ, P., PANKOWSKI, J.A., ORSZAGH-SZTURO, H., BACAL, P., DOLEGOWSKA, B., et GOLEC, P. « Characterization of a Unique Bordetella Bronchiseptica VB_BbrP_BB8 Bacteriophage and Its Application as an Antibacterial Agent ». *International Journal of Molecular Sciences* 21, n° 4 (19 février 2020). <https://doi.org/10.3390/ijms21041403>.
- 263- PARK, G. Y., LEE, H. M., YU, H. J., SON, J. S., PARK, S. J., et SONG, K. S. « Bordetella Bronchiseptica Bacteriophage Suppresses B. Bronchiseptica-Induced Inflammation in Swine Nasal Turbinate Cells ». *Genes & Genomics* 40, n° 12 (décembre 2018): 1383-88. <https://doi.org/10.1007/s13258-018-0755-4>.

- 264- PARK, G. Y., YU, H. J., SON, J. S., PARK, S. J., CHA, H.-J., et SONG, K. S. « Specific Bacteriophage of *Bordetella Bronchiseptica* Regulates *B. Bronchiseptica*-Induced MicroRNA Expression Profiles to Decrease Inflammation in Swine Nasal Turbinate Cells ». *Genes & Genomics* 42, n° 4 (avril 2020): 441-47. <https://doi.org/10.1007/s13258-019-00906-7>.
- 265- PARK, G. Y., YU, H. J., SON, J. S., PARK, S. J., CHA, H.-J., et SONG, K. S. « *Pasteurella Multocida* Specific Bacteriophage Suppresses *P. Multocida*-Induced Inflammation: Identification of Genes Related to Bacteriophage Signaling by *Pasteurella Multocida*-Infected Swine Nasal Turbinate Cells ». *Genes & Genomics* 42, n° 2 (février 2020): 235-43. <https://doi.org/10.1007/s13258-019-00898-4>.
- 266- CROMWELL, G. « Why and how antibiotics are used in swine production ». *Animal biotechnology* 13 (1 juin 2002): 7-27. <https://doi.org/10.1081/ABIO-120005767>.
- 267- BURROUGH, E. R., DE MILLE, C., et GABLER, N. K. « Zinc Overload in Weaned Pigs: Tissue Accumulation, Pathology, and Growth Impacts ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 31, n° 4 (juillet 2019): 537-45. <https://doi.org/10.1177/1040638719852144>.
- 268- GEBRU, E., LEE, J. S., SON, J. C., YANG, S. Y., SHIN, S. A., KIM, B., KIM, M. K., et PARK, S. C. « Effect of Probiotic-, Bacteriophage-, or Organic Acid-Supplemented Feeds or Fermented Soybean Meal on the Growth Performance, Acute-Phase Response, and Bacterial Shedding of Grower Pigs Challenged with *Salmonella Enterica* Serotype Typhimurium ». *Journal of Animal Science* 88, n° 12 (décembre 2010): 3880-86. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-2939>.
- 269- YAN, L., HONG, S. M., et KIM, I. H. « Effect of Bacteriophage Supplementation on the Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Characteristics, and Fecal Microbial Shedding in Growing Pigs ». *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 25, n° 10 (octobre 2012): 1451-56. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12253>.
- 270- KIM, K. H., INGALE, S. L., KIM, J. S., LEE, S. H., LEE, J. H., KWON, I. K., et CHAE, B. J. « Bacteriophage and Probiotics Both Enhance the Performance of Growing Pigs but Bacteriophage Are More Effective ». *Animal Feed Science and Technology* 196 (1 octobre 2014): 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.06.012>.
- 271- ZENG, Y., WANG, Z., ZOU, T., CHEN, J., LI, G., ZHENG, L., LI, S., et YOU, J. « Bacteriophage as an Alternative to Antibiotics Promotes Growth Performance by Regulating Intestinal Inflammation, Intestinal Barrier Function and Gut Microbiota in Weaned Piglets ». *Frontiers in Veterinary Science* 8 (2021): 623899. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.623899>.
- 272- ZHANG, J., LI, Z., CAO, Z., WANG, L., LI, X., LI, S., et XU, Y. « Bacteriophages as antimicrobial agents against major pathogens in swine: a review ». *Journal of Animal Science and Biotechnology* 6, n° 1 (25 août 2015): 39. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0039-7>.
- 273- WERNICKI, A., NOWACZEK, A., et URBAN-CHMIEL, R. « Bacteriophage Therapy to Combat Bacterial Infections in Poultry ». *Virology Journal* 14, n° 1 (16 septembre 2017): 179. <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0849-7>.

- 274- European Food Safety Authority et European Centre for Disease Prevention and Control. « The European Union One Health 2019 Zoonoses Report ». *EFSA Journal* 19, n° 2 (février 2021). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6406>.
- 275- European Food Safety Authority et European Centre for Disease Prevention and Control « The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in Zoonotic and Indicator Bacteria from Humans, Animals and Food in 2018/2019 ». *EFSA Journal* 19, n° 4 (2021): e06490. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6490>.
- 276- Arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales (s. d.) [en ligne]. Consulté le 31 août 2021. Disponible à l'adresse : <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000027831750/>
- 277- GAST, R. K., et PORTER, R. E. « Salmonella Infections ». In *Diseases of Poultry*, 717-53. John Wiley & Sons, Ltd, 2020. <https://doi.org/10.1002/9781119371199.ch16>.
- 278- ŻBIKOWSKA, K., MICHALCZUK, M., et DOLKA, B. « The Use of Bacteriophages in the Poultry Industry ». *Animals: an Open Access Journal from MDPI* 10, n° 5 (18 mai 2020). <https://doi.org/10.3390/ani10050872>.
- 279- PYLE, N. J. « THE BACTERIOPHAGE IN RELATION TO SALMONELLA PULLORA INFECTION IN THE DOMESTIC FOWL1 ». *Journal of Bacteriology* 12, n° 4 (octobre 1926): 245-61.
- 280- TAYLOR, W. I., et SILLIKER, J. H. « Hatching of eggs ». United States US2851006A, filed 3 novembre 1955, and issued 9 septembre 1958. <https://patents.google.com/patent/US2851006A/en>.
- 281- BERCHIERI, A., LOVELL, M. A., et BARROW, P. A. « The Activity in the Chicken Alimentary Tract of Bacteriophages Lytic for Salmonella Typhimurium ». *Research in Microbiology* 142, n° 5 (1 juin 1991): 541-49. [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(91\)90187-F](https://doi.org/10.1016/0923-2508(91)90187-F).
- 282- SKLAR, I. B., et JOERGER, R. D. « Attempts to Utilize Bacteriophage to Combat Salmonella Enterica Serovar Enteritidis Infection in Chickens ». *Journal of Food Safety* 21, n° 1 (2001): 15-29. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2001.tb00305.x>.
- 283- FIORENTIN, L., VIEIRA, N. D., et BARIONI, W. « Oral Treatment with Bacteriophages Reduces the Concentration of Salmonella Enteritidis PT4 in Caecal Contents of Broilers ». *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A* 34, n° 3 (juin 2005): 258-63. <https://doi.org/10.1080/01445340500112157>.
- 284- ATTERBURY, R. J., VAN BERGEN, M. A. P., ORTIZ, F., LOVELL, M. A., HARRIS, J. A., DE BOER, A., WAGENAAR, J. A., ALLEN, V. M., et BARROW, P. A. « Bacteriophage Therapy to Reduce Salmonella Colonization of Broiler Chickens ». *Applied and Environmental Microbiology* 73, n° 14 (juillet 2007): 4543-49. <https://doi.org/10.1128/AEM.00049-07>.
- 285- BORIE, C., SANCHEZ, M. L., NAVARRO, C., RAMIREZ, S., MORALES, M. A., RETAMALES, J., et ROBESON, J. « Aerosol Spray Treatment with Bacteriophages and Competitive Exclusion Reduces Salmonella Enteritidis Infection in Chickens ». *Avian Diseases* 53, n° 2 (juin 2009): 250-54. <https://doi.org/10.1637/8406-071008-Reg.1>.

- 286- LIM, T.-H., KIM, M.-S., LEE, D.-H., LEE, Y.-N., PARK, J.-K., YOUN, H.-N., LEE, H.-J., *et al.* « Use of Bacteriophage for Biological Control of Salmonella Enteritidis Infection in Chicken ». *Research in Veterinary Science* 93, n° 3 (décembre 2012): 1173-78. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.06.004>.
- 287- AHMADI, M., TORSHIZI, M. A. K., RAMINI, S., et DENNEHY, J. « Prophylactic Bacteriophage Administration More Effective than Post-Infection Administration in Reducing Salmonella enterica serovar Enteritidis Shedding in Quail ». *Frontiers in Microbiology* 7 (28 juillet 2016): 1253. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01253>.
- 288- PIKEMAAT, M., « Evaluation Report on the Analytical Methods submitted in connection with the Application for Autorisation of a Feed Additive according to Regulation (EC) No 1831/2003 », European Union Reference Laboratory Feed additives, 5 octobre 2018, Disponible en ligne à : <https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/finrep-fad-2017-0039-bafasal.pdf>
- 289- CLAVIJO, V., BAQUERO, D., HERNANDEZ, S., FARFAN, J. C., ARIAS, J., AREVALO, A., DONADOGODOY, P., et VIVES-FLORES, M. « Phage Cocktail SalmoFREE® Reduces Salmonella on a Commercial Broiler Farm ». *Poultry Science* 98, n° 10 (1 octobre 2019): 5054-63. <https://doi.org/10.3382/ps/pez251>.
- 290- WOJCIK, E. A., STANCZYK, M., WOJTASIK, A., KOWALSKA, J. D., NOWAKOWSKA, M., LUKASIAK, M., BARTICKA, M., KAZIMIERCZAK, J., et DASTYCH, J. « Comprehensive Evaluation of the Safety and Efficacy of BAFASAL® Bacteriophage Preparation for the Reduction of Salmonella in the Food Chain ». *Viruses* 12, n° 7 (10 juillet 2020). <https://doi.org/10.3390/v12070742>.
- 291- ZHANG, Q. et SAHIN, O. « Campylobacteriosis ». Dans : *Diseases of Poultry* [en ligne]. [S. l.] : John Wiley & Sons, Ltd, 2020, p. 754-769. [Consulté le 3 septembre 2021]. ISBN 978-1-119-37119-9. DOI [10.1002/9781119371199.ch17](https://doi.org/10.1002/9781119371199.ch17)
- 292- HUMPHREY, S., CHALONER, G., KEMMETT, K., DAVIDSON, N., WILLIAMS, N., KIPAR, A., HUMPHREY, T. et WIGLEY, P. « Campylobacter jejuni is not merely a commensal in commercial broiler chickens and affects bird welfare ». *mBio* [en ligne]. Juillet 2014, Vol. 5, n° 4, p. e01364-01314. DOI [10.1128/mBio.01364-14](https://doi.org/10.1128/mBio.01364-14)
- 293- FITZGERALD, C. « Campylobacter ». *Clinics in Laboratory Medicine* [en ligne]. Juin 2015, Vol. 35, n° 2, p. 289-298. DOI [10.1016/j.cll.2015.03.001](https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.03.001)
- 294- ROSENQUIST, H., NIELSEN, N. L., SOMMER, H. M., NØRRUNG, B. et CHRISTENSEN, B. B. « Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic Campylobacter species in chickens ». *International Journal of Food Microbiology* [en ligne]. Mai 2003, Vol. 83, n° 1, p. 87-103. DOI [10.1016/s0168-1605\(02\)00317-3](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00317-3)
- 295- HWANG, S., YUN, J., KIM, K.-P., HEU, S., LEE, S. et RYU, S. « Isolation and characterization of bacteriophages specific for Campylobacter jejuni ». *Microbiology and Immunology* [en ligne]. Octobre 2009, Vol. 53, n° 10, p. 559-566. DOI [10.1111/j.1348-0421.2009.00163.x](https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2009.00163.x)
- 296- ATTERBURY, R. J., DILLON, E., SWIFT, C., CONNERTON, P. L., FROST, J. A., DODD, C. E. R., REES, C. E. D. et CONNERTON, I. F. « Correlation of Campylobacter bacteriophage with reduced presence of hosts in broiler chicken ceca ». *Applied and Environmental Microbiology* [en ligne]. Août 2005, Vol. 71, n° 8, p. 4885-4887. DOI [10.1128/AEM.71.8.4885-4887.2005](https://doi.org/10.1128/AEM.71.8.4885-4887.2005)

- 297- WAGENAAR, J. A., VAN BERGEN, M. A. P., MUELLER, M. A., WASSENAAR, T. M. et CARLTON, R. M. « Phage therapy reduces *Campylobacter jejuni* colonization in broilers ». *Veterinary Microbiology* [en ligne]. Août 2005, Vol. 109, n° 3-4, p. 275-283. DOI [10.1016/j.vetmic.2005.06.002](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.06.002)
- 298- LOC CARRILLO, C., ATTERBURY, R. J., EL-SHIBINY, A., CONNERTON, P. L., DILLON, E., SCOTT, A. et CONNERTON, I. F. « Bacteriophage therapy to reduce *Campylobacter jejuni* colonization of broiler chickens ». *Applied and Environmental Microbiology* [en ligne]. Novembre 2005, Vol. 71, n° 11, p. 6554-6563. DOI [10.1128/AEM.71.11.6554-6563.2005](https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.6554-6563.2005)
- 299- EL-SHIBINY, A., SCOTT, A., TIMMS, A., METAWEA, Y., CONNERTON, P. et CONNERTON, I. « Application of a group II *Campylobacter* bacteriophage to reduce strains of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* colonizing broiler chickens ». *Journal of Food Protection* [en ligne]. Avril 2009, Vol. 72, n° 4, p. 733-740. DOI [10.4315/0362-028x-72.4.733](https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.4.733)
- 300- CARVALHO, C. M., GANNON, B. W., HALFHIDE, D. E., SANTOS, S. B., HAYES, C. M., ROE, J. M. et AZEREDO, J. « The in vivo efficacy of two administration routes of a phage cocktail to reduce numbers of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* in chickens ». *BMC Microbiology* [en ligne]. Septembre 2010, Vol. 10, p. 232. DOI [10.1186/1471-2180-10-232](https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-232)
- 301- KITTLER, S., FISCHER, S., ABDULMAWJOOD, A., GLÜNDER, G. et KLEIN, G. « Effect of Bacteriophage Application on *Campylobacter jejuni* Loads in Commercial Broiler Flocks ». *Applied and Environmental Microbiology* [en ligne]. American Society for Microbiology, Décembre 2013, Vol. 79, n° 23, p. 7525-7533. DOI [10.1128/AEM.02703-13](https://doi.org/10.1128/AEM.02703-13)
- 302- HAMMERL, J. A., JÄCKEL, C., ALTER, T., JANZCYK, P., STINGL, K., KNÜVER, M. T. et HERTWIG, S. « Reduction of *Campylobacter jejuni* in Broiler Chicken by Successive Application of Group II and Group III Phages ». *PLOS ONE* [en ligne]. Public Library of Science, Décembre 2014, Vol. 9, n° 12, p. e114785. DOI [10.1371/journal.pone.0114785](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114785)
- 303- RICHARDS, P. J., CONNERTON, P. L. et CONNERTON, I. F. « Phage Biocontrol of *Campylobacter jejuni* in Chickens Does Not Produce Collateral Effects on the Gut Microbiota ». *Frontiers in Microbiology* [en ligne]. Frontiers, 2019, Vol. 10. [Consulté le 7 août 2020]. DOI [10.3389/fmicb.2019.00476](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00476)
- 304- USHANOV, L., LASAREISHVILI, B., JANASHIA, I. et ZAUTNER, A. E. « Application of *Campylobacter jejuni* Phages : Challenges and Perspectives. » *Animals* [en ligne]. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, Février 2020, Vol. 10, n° 2, p. 279. DOI [10.3390/ani10020279](https://doi.org/10.3390/ani10020279)
- 305- HAKEEM, M. J. et LU, X. « Survival and Control of *Campylobacter* in Poultry Production Environment ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [en ligne]. 2021, Vol. 10, p. 904. DOI [10.3389/fcimb.2020.615049](https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.615049)
- 306- NOLAN, L. K., VAILLANCOURT, J.-P., BARBIERI, N. L. et LOGUE, C. M. « Colibacillosis ». Dans : *Diseases of Poultry* [en ligne]. [S. l.] : John Wiley & Sons, Ltd, 2020, p. 770-830. [Consulté le 7 septembre 2021]. ISBN 978-1-119-37119-9. DOI [10.1002/9781119371199.ch18](https://doi.org/10.1002/9781119371199.ch18)

- 307- BARROW, P., LOVELL, M. et BERCHIERI, A. « Use of Lytic Bacteriophage for Control of Experimental Escherichia coli Septicemia and Meningitis in Chickens and Calves ». *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology* [en ligne]. American Society for Microbiology, Mai 1998, Vol. 5, n° 3, p. 294-298. DOI [10.1128/CDLI.5.3.294-298.1998](https://doi.org/10.1128/CDLI.5.3.294-298.1998)
- 308- HUFF, W. E., HUFF, G. R., RATH, N. C., BALOG, J. M., XIE, H., MOORE, P. A. et DONOGHUE, A. M. « Prevention of Escherichia coli Respiratory Infection in Broiler Chickens with Bacteriophage (SPR02)1 ». *Poultry Science* [en ligne]. Avril 2002, Vol. 81, n° 4, p. 437-441. DOI [10.1093/ps/81.4.437](https://doi.org/10.1093/ps/81.4.437)
- 309- HUFF, W. E., HUFF, G. R., RATH, N. C., BALOG, J. M. et DONOGHUE, A. M. « Prevention of Escherichia coli infection in broiler chickens with a bacteriophage aerosol spray ». *Poultry Science* [en ligne]. Octobre 2002, Vol. 81, n° 10, p. 1486-1491. DOI [10.1093/ps/81.10.1486](https://doi.org/10.1093/ps/81.10.1486)
- 310- HUFF, W. E., HUFF, G. R., RATH, N. C., BALOG, J. M. et DONOGHUE, A. M. « Evaluation of aerosol spray and intramuscular injection of bacteriophage to treat an Escherichia coli respiratory infection ». *Poultry Science* [en ligne]. Juillet 2003, Vol. 82, n° 7, p. 1108-1112. DOI [10.1093/ps/82.7.1108](https://doi.org/10.1093/ps/82.7.1108)
- 311- HUFF, W E, HUFF, G R, RATH, N C, BALOG, J M et DONOGHUE, A M. « Therapeutic efficacy of bacteriophage and Baytril (enrofloxacin) individually and in combination to treat colibacillosis in broilers ». *Poultry science* [en ligne]. Décembre 2004, Vol. 83, n° 12, p. 1944-1947. DOI [10.1093/ps/83.12.1944](https://doi.org/10.1093/ps/83.12.1944)
- 312- HUFF, W. E., HUFF, G. R., RATH, N. C. et DONOGHUE, A. M. « Immune interference of bacteriophage efficacy when treating colibacillosis in poultry ». *Poultry Science* [en ligne]. Mai 2010, Vol. 89, n° 5, p. 895-900. DOI [10.3382/ps.2009-00528](https://doi.org/10.3382/ps.2009-00528)
- 313- OLIVEIRA, A., SERENO, R. et AZEREDO, J. « In vivo efficiency evaluation of a phage cocktail in controlling severe colibacillosis in confined conditions and experimental poultry houses ». *Veterinary Microbiology* [en ligne]. Décembre 2010, Vol. 146, n° 3-4, p. 303-308. DOI [10.1016/j.vetmic.2010.05.015](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.05.015)
- 314- TSONOS, J., OOSTERIK, L. H., TUNTUFYE, H. N., KLUMPP, J., BUTAYE, P., DE GREVE, H., HERNALSTEENS, J.-P., LAVIGNE, R. et GODDEERIS, B. M. « A cocktail of in vitro efficient phages is not a guarantee for in vivo therapeutic results against avian colibacillosis ». *Veterinary Microbiology* [en ligne]. Juillet 2014, Vol. 171, n° 3-4, p. 470-479. DOI [10.1016/j.vetmic.2013.10.021](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.10.021)
- 315- EL-GOHARY, F. A., HUFF, W. E., HUFF, G. R., RATH, N. C., ZHOU, Z. Y. et DONOGHUE, A. M. « Environmental augmentation with bacteriophage prevents colibacillosis in broiler » *Poultry Science* [en ligne]. Novembre 2014, Vol. 93, n° 11, p. 2788-2792. DOI [10.3382/ps.2014-04282](https://doi.org/10.3382/ps.2014-04282)
- 316- BOULIANNE, M., UZAL, F. A. et OPENGART, K., 2020. « Clostridial Diseases ». In : *Diseases of Poultry* [en ligne]. S.l. : John Wiley & Sons, Ltd. pp. 966-994. [Consulté le 9 septembre 2021]. ISBN 978-1-119-37119-9. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119371199.ch22>.

- 317- SEAL, B. S., 2013. « Characterization of bacteriophages virulent for *Clostridium perfringens* and identification of phage lytic enzymes as alternatives to antibiotics for potential control of the bacterium » Présenté au sein de : *Tomorrow's Poultry : Sustainability and Safety Symposium at the Poultry Science Association's annual meeting in Athens, Georgia, July 9, 2012*. In : *Poultry Science*. 1 février 2013. Vol. 92, n° 2, pp. 526-533. DOI [10.3382/ps.2012-02708](https://doi.org/10.3382/ps.2012-02708).
- 318- MILLER, R. W., SKINNER, E. J., SULAKVELIDZE, A., MATHIS, G. F. et HOFACRE, C. L., 2010. « Bacteriophage therapy for control of necrotic enteritis of broiler chickens experimentally infected with *Clostridium perfringens* ». In : *Avian Diseases*. mars 2010. Vol. 54, n° 1, pp. 33-40. DOI [10.1637/8953-060509-Reg.1](https://doi.org/10.1637/8953-060509-Reg.1).
- 319- HEO, S., KIM, M., KWON, M., LEE, H. et KIM, G.-B., 2018. « Inhibition of *Clostridium perfringens* using Bacteriophages and Bacteriocin Producing Strains ». In : *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. février 2018. Vol. 38, n° 1, pp. 88-98. DOI [10.5851/kosfa.2018.38.1.88](https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.38.1.88).
- 320- ZIMMER, M., VUKOV, N., SCHERER, S. et LOESSNER, M. J., 2002. « The murein hydrolase of the bacteriophage phi3626 dual lysis system is active against all tested *Clostridium perfringens* strains ». In : *Applied and environmental microbiology*. 1 novembre 2002. Vol. 68, n° 11, pp. 5311-5317. DOI [10.1128/aem.68.11.5311-5317.2002](https://doi.org/10.1128/aem.68.11.5311-5317.2002).
- 321- NARIYA, H., MIYATA, S., TAMAI, E., SEKIYA, H., MAKI, J. et OKABE, A., 2011. « Identification and characterization of a putative endolysin encoded by episomal phage phiSM101 of *Clostridium perfringens* ». In : *Applied Microbiology and Biotechnology*. juin 2011. Vol. 90, n° 6, pp. 1973-1979. DOI [10.1007/s00253-011-3253-z](https://doi.org/10.1007/s00253-011-3253-z).
- 322- GERVASI, T., HORN, N., WEGMANN, U., DUGO, G., NARBAD, A. et MAYER, M. J., 2014. « Expression and delivery of an endolysin to combat *Clostridium perfringens* ». In : *Applied Microbiology and Biotechnology*. mars 2014. Vol. 98, n° 6, pp. 2495-2505. DOI [10.1007/s00253-013-5128-y](https://doi.org/10.1007/s00253-013-5128-y).
- 323- SURESH, G., DAS, R. K., KAUR BRAR, S., ROUISSI, T., AVALOS RAMIREZ, A., CHORFI, Y. et GODBOUT, S., 2018. « Alternatives to antibiotics in poultry feed: molecular perspectives ». In : *Critical Reviews in Microbiology*. mai 2018. Vol. 44, n° 3, pp. 318-335. DOI [10.1080/1040841X.2017.1373062](https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1373062).
- 324- WANG, J. P., YAN, L., LEE, J. H. et KIM, I. H., 2013. « Evaluation of Bacteriophage Supplementation on Growth Performance, Blood Characteristics, Relative Organ Weight, Breast Muscle Characteristics and Excreta Microbial Shedding in Broilers ». In : *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. avril 2013. Vol. 26, n° 4, pp. 573-578. DOI [10.5713/ajas.2012.12544](https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12544).
- 325- UPADHAYA, S. D., AHN, J. M., CHO, J. H., KIM, J. Y., KANG, D. K., KIM, S. W., KIM, H. B. et KIM, I. H., 2021. « Bacteriophage cocktail supplementation improves growth performance, gut microbiome and production traits in broiler chickens ». In : *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 16 avril 2021. Vol. 12, n° 1, pp. 49. DOI [10.1186/s40104-021-00570-6](https://doi.org/10.1186/s40104-021-00570-6).

326-ZHAO, P., BAEK, H. et KIM, I.-S., 2012. « Effects of Bacteriophage Supplementation on Egg Performance, Egg Quality, Excreta Microflora, and Moisture Content in Laying Hens ». In : *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 1 juillet 2012. Vol. 25, pp. 1015-20. DOI [10.5713/ajas.2012.12026](https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12026).

LA PHAGOTHÉRAPIE : PRINCIPE ET POTENTIELS INTÉRÊTS EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE

Auteur

VEDRINE Baptiste

Résumé

Les bactériovirus, plus souvent appelés bactériophages, sont des virus infectant spécifiquement les bactéries. Découverts au cours des années 1910 par les travaux de Frederic Twort et Félix d'Hérelle, leur potentiel intérêt en médecine a très vite été compris. L'usage thérapeutique des bactériophages, la phagothérapie, connut un véritable essor jusqu'aux années 1940. La découverte des antibiotiques, des querelles scientifiques et une mauvaise compréhension de ces virus ont conduit à leur oubli en occident et en France, pays de leur découverte. Cependant, les phénomènes d'antibiorésistance impose aujourd'hui un usage plus raisonné de ces derniers et, face aux échecs thérapeutiques, la recherche mondiale explore de nouvelles alternatives dans la lutte antibactérienne. Grâce aux travaux du génie génétique, où ils se sont révélés des éléments clefs dans la compréhension du génome, les bactériophages sont aujourd'hui mieux compris. A travers un travail bibliographique, nous étudions les bactériophages et leur potentiels intérêts en médecine vétérinaire. Une grande importance est apportée à la biologie de ces virus qui est mise en corrélation avec leurs propriétés pharmacologiques. La dernière partie est consacrée à leur potentiels intérêts en médecine vétérinaire. Si des résultats encourageants sont obtenus pour un usage local des phages, notamment dans le cadre des pyodermites et otites canines ou des mammites bovines, leur usage pour le traitement du portage chronique des salmonelles ou de *E. coli* 0157/H7 semble plus difficile. Des recherches complémentaires sont nécessaires avant de déterminer définitivement si leur utilisation thérapeutique en routine est possible.

Mots-clés

Virologie, Bactériophages, Antibiorésistance, Thérapie

Jury

Président du jury	:	Pr	JARRAUD Sophie
1 ^{er} assesseur	:	Dr	LEGROS Vincent
2 ^{ème} assesseur	:	Dr	LAABERKI Maria-Halima