



Qu'est-ce que la phagothérapie ?

What is phagotherapy ?

Alain Dublanchet

Médecin-biologiste honoraire des Hôpitaux
Ancien chef du laboratoire de microbiologie du centre hospitalier de Villeneuve Saint-Georges
adublanchet@noos.fr

Résumé

Tout **virus** se multiplie dans une cellule vivante qui peut être celle d'un mammifère, d'une plante ou encore d'un procaryote (bactérie et archée). Un virus qui a pour **hôte une bactérie** est nommé **bactériophage (phage)**. Un phage est très généralement spécifique d'une espèce bactérienne, voire uniquement de quelques souches d'une espèce. Dans la nature, les phages sont présents partout où il y a des bactéries qui sont les hôtes d'au moins un phage. La thérapeutique qui utilise les phages pour traiter les infections bactériennes est appelée **phagothérapie**. Les phages ont été découverts pendant la Première Guerre Mondiale à l'Institut Pasteur de Paris et la phagothérapie a été utilisée pour la première fois dès 1919 en France. De très nombreuses maladies bactériennes, cutanées, oculaires, ORL, digestives, osseuses, urinaires, pulmonaires, ont été traitées avec plus ou moins de succès par des phages préparés de manière artisanale ou même commercialisés. Mondialement très utilisée durant deux décennies, la phagothérapie a été remplacée dans les années 40 par l'antibiothérapie que l'on pensait être la solution définitive pour lutter contre les infections bactériennes. Cependant depuis quelques années, l'extension des résistances fait redouter un retour à l'ère pré-antibiotique. A la lumière des connaissances récentes, la réintroduction des phages dans l'arsenal thérapeutique paraît aujourd'hui envisageable. Mais avant tout il est nécessaire de disposer d'un médicament qui doit répondre aux normes modernes de fabrication. Ce n'est qu'après avoir évalué le bénéfice-risque d'un médicament de nature biologique, que la phagothérapie pourra être utilisée en substitution ou en complément de l'antibiothérapie.

Mots clés

Infection bactérienne ; Résistance aux antibiotiques ; Antibiothérapie ; Bactériophage ; Phagothérapie

Abstract

*All **viruses** multiply in a living cell that can be that of a mammal, a plant or a prokaryote (bacterium and archaea). A virus infecting a bacterium is named **bacteriophage (phage)**. A phage is in most cases specific for one bacterial species, and sometimes even for limited strains within a species. In nature, phages are present everywhere where there are bacteria which can host at least a phage. The therapy using phages to treat bacterial infections is called **phage therapy**. Phages were discovered during World War I at the Pasteur Institute and Phage therapy was used for the first time in France in 1919. Since that time many bacterial diseases of the skin, eye, digestive tract, bone, urinary tract, and lung... have been treated with more or less success with phages as commercial drug products or even prepared through an artisanal way. While it had been widely used through the world during two decades, phage therapy was later replaced by antibiotic therapy, thought to be the ultimate solution to fight bacterial infections. In recent years, however, progression of antibiotic resistance threatens to get us back to the pre-antibiotic era. In the light of recent discoveries, the reintroduction of phages in the therapeutic armamentarium seems today possible. But, above all, it is absolutely mandatory to develop medicinal products that meet modern manufacturing standards. Phage therapy – a medicine containing a biological active ingredient- will possibly be used in substitution or in addition to antibiotic therapy once its risk benefit is adequately assessed.*

Keywords

Bacterial infection; Antibiotic resistance; Antibiotic therapy; Bacteriophage; Phage therapy



Introduction

En France, Félix d'Hérelle, a décrit en 1917 [1] un phénomène particulier à partir des coprocultures de dysentériques évoluant vers la convalescence. Il pressentit la nature corpusculaire et non chimique de cette manifestation par la présence de plages claires au sein des nappes bactériennes (*Shigella dysenteriae*) développées en 24 heures sur les cultures. Il en conclut que la guérison de la maladie est provoquée par un « *microbe invisible doué de propriétés antagonistes vis-à-vis du bacille de Shiga* ». F. d'Hérelle appela ce « mangeur de bactéries », **bactériophage** (aujourd'hui souvent appelé **phage**). Dès 1919, il montrait que l'administration orale d'un phage provoque la guérison des entérites bactériennes (à shigelle ou salmonelle) aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Plus encore, il affirmait, que les déjections d'un convalescent, par transmission directe, protège les proches contre la maladie (« immunité » contagieuse). Aujourd'hui, on connaît plusieurs milliers de phages différents tous exclusivement parasites de bactéries. De nombreuses infections bactériennes ont été traitées par des phages et de tels traitements constituent la **phagothérapie**. Jusqu'à la découverte des antibiotiques, la phagothérapie a connu un énorme succès dans le monde entier. Mais la connaissance de la physiologie des phages était succincte, la préparation des produits mal contrôlée, les schémas thérapeutiques non codifiés et des échecs furent rapportés. Confrontée à l'antibiothérapie, d'emploi plus facile, la phagothérapie fut progressivement abandonnée dans les pays occidentaux, mais toutefois maintenue dans les pays du bloc soviétique.

Depuis deux ou trois décennies, nous assistons à l'extension de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques, responsables d'échecs thérapeutiques, tandis que les nouveaux antibiotiques réellement innovants sont rares. Ces impasses thérapeutiques de plus en plus fréquentes font craindre un retour à l'ère pré-antibiotique [2]. Les phages, prédateurs naturels de bactéries, pourraient-ils constituer une réponse à cette situation ? Certains, confortés par la découverte de propriétés jusque-là insoupçonnées des phages, le pensent et tentent de réhabiliter la phagothérapie [3]. Mais aujourd'hui, tout médicament doit répondre aux normes en vigueur. Une réévaluation doit être faite avec une approche appropriée tant d'un point de vue expérimental que réglementaire.

Les phages pourraient alors être utilisés dans de nombreuses applications tant thérapeutiques que prophylactiques, pour la santé humaine, animale ou dans le domaine phytosanitaire.

Les bactériophages - Histoire naturelle

Définition

Les phages sont des virus et comme tous virus se reproduisent aux dépens de cellules vivantes. Un phage ne peut utiliser que les constituants d'une bactérie, celle-ci appelée bactérie-hôte. La spécificité d'hôte caractérise un phage par la reconnaissance d'un groupe restreint de bactéries (gamme d'hôtes) appartenant à la même espèce, voire de quelques souches d'une seule espèce, rarement plusieurs espèces voisines.

Classification [4]

A l'instar de nombreux virus, les phages sont structurellement composés d'une capsid de nature protéique qui assure la protection d'un acide nucléique (ARN ou ADN, simple ou double brin). Des éléments supplémentaires sont parfois observés : une queue, une enveloppe ou des spicules. D'après leur morphologie et en tenant compte de leur génome (ADN ou ARN, simple ou double brin), la taxonomie est établie par le Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV). Les virus bactériens connus aujourd'hui, ont pour hôte 179 genres bactériens et sont regroupés dans 10 familles. Un seul ordre (*Caudovirales*) rassemble trois des familles (*Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae*) auxquelles appartiennent 95 % des phages décrits. Les autres phages sont répartis dans 7 autres familles isolées (Tableau 1). Les phages d'intérêt pour la phagothérapie appartiennent très majoritairement à deux familles seulement (*Myoviridae* et *Siphoviridae*). Un appendice caudal, contractile ou non, assure l'injection du génome viral dans la bactérie. La Figure 1 illustre la morphologie typique d'un bactériophage appartenant à la famille des Siphoviridae.



Tableau 1. Classification des bactériophages d'après Ackermann [4]

Ordre	Famille	Morphologie	Acide Nucléique	Nombre
Caudoviridale	<i>Myoviridae</i>		ADN double brin	1312
	<i>Siphoviridae</i>			3262
	<i>Podoviridae</i>			771
	<i>Corticoviridae</i>		ADN double brin	32
	<i>Tectiviridae</i>		ADN double brin	19
	<i>Plasmaviridae</i>		ADN double brin	5
	<i>Inoviridae</i>		ADN simple brin	66
	<i>Microviridae</i>		ADN simple brin	38
	<i>Cystoviridae</i>		ARN double brin	3
	<i>Leviviridae</i>		ARN simple brin	38

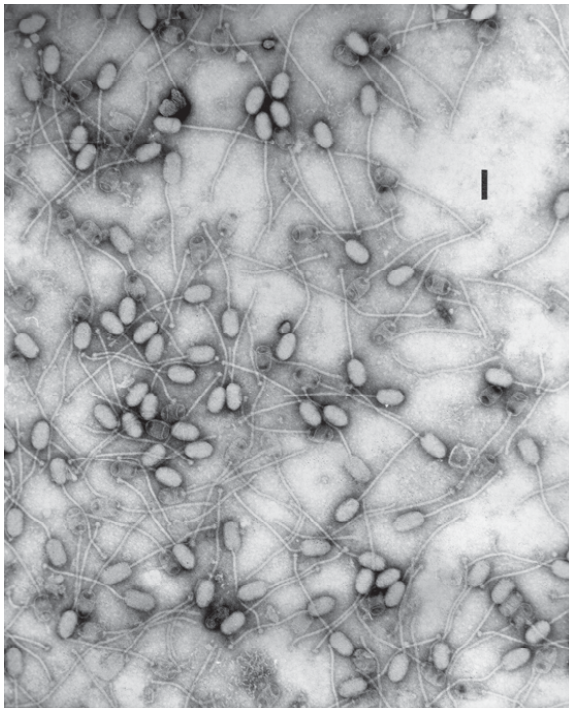


Figure 1
Bactériophage spécifique de Staphylococcus aureus obtenue au microscope électronique après coloration négative par l'acétate d'uranyle. Il s'agit du bactériophage A3 appartenant à la famille des Siphoviridae). Le grossissement est de 92 400, le trait noir correspond à une échelle de 100 nanomètres.
 Cliché : Hans Wolfgang Ackermann

Grande distribution et étroite spécificité

Actuellement, environ 6 000 phages différents ont été étudiés qui, au mieux, ne représenteraient que 10 % de l'ensemble des variétés présentes sur le globe. Numériquement, les phages sont les entités biologiques les plus abondantes, estimées à 10^{31} , 10 fois plus que l'ensemble des bactéries. On trouve des phages dans tous les milieux (eaux, sols, individus, plantes, etc.) hébergeant des bactéries qui assurent leur pérennité au cours de cycles reproductifs.

Un phage est inféodé à certaines souches d'une espèce bactérienne (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, par exemple), rarement plusieurs espèces et exceptionnellement à plusieurs genres. En revanche, une bactérie est souvent reconnue par plusieurs phages différents. C'est cette étroite spécificité qui est à la base du lysotypage utilisé encore aujourd'hui en épidémiologie.



Reproduction des phages. Les cycles [5]

La reproduction d'un phage est assurée par la bactérie-hôte selon deux principaux modes appelés **cycle lytique** et **cycle lysogénique**.

Un **phage tempéré** est capable d'insérer son acide nucléique (**prophage**) dans un chromosome bactérien et se réplique (cycle lysogénique) en même temps que le génome de la bactérie hôte. Il peut avoir la capacité de rompre les cycles lysogéniques et initier occasionnellement des cycles lytiques selon les caractéristiques de l'hôte et l'influence de stimuli variés. C'est au cours de cette rupture que le génome du phage est susceptible d'emporter une fraction du génome bactérien pour transmettre des gènes particuliers éventuellement indésirables (résistance, virulence, etc.) dans une autre bactérie-hôte, de même espèce ou phylogénétiquement voisine. Un tel phage possède des activités enzymatiques particulières (**intégrase**) qui assurent l'insertion de son génome dans l'hôte bactérien. Ces phages sont utilisés au laboratoire comme transducteurs de gènes.

Seuls les **phages virulents** qui tuent les bactéries à l'issue d'un cycle lytique sont utilisés en phagothérapie. Parmi les phages connus à ce jour, 80 % sont lytiques. Bien entendu, les phages thérapeutiques strictement lytiques doivent être dépourvus d'intégrase, ce que l'analyse moléculaire (séquençage) de leur génome permet de vérifier. Dans un cycle lytique, on reconnaît un certain nombre d'étapes :

- ▶ **reconnaissance** d'un motif spécifique (récepteur) à la surface de la bactérie ;
- ▶ **adsorption et fixation** de la particule virale sur la bactérie ;
- ▶ **injection** dans le cytoplasme bactérien de l'acide nucléique phagique au travers de la paroi bactérienne perméabilisée par des enzymes préexistantes sur le phage (queue ou capsid) ;
- ▶ **expression et réplication** des différents éléments du phage (ac. nucléique, protéines structurales et fonctionnelles) produits par un détournement du métabolisme bactérien ;
- ▶ **assemblage** de plusieurs dizaines de particules dans le cytoplasme bactérien ;
- ▶ **libération** des virions assurée par des **holines**, qui perforent la membrane, et des **endolysines** (bactéries à Gram négatif) qui hydrolysent le peptidoglycane de la paroi cellulaire (bactéries à Gram positif).

Pour la majorité des bactéries, un cycle lytique est effectué en moins d'une heure. La phase d'internalisation des phages qui s'étend de l'injection à la lyse des bactéries est appelée **période de latence**. La quantité (« **burst-size** ») moyenne de phages produits à l'identique est de l'ordre de 100. Les nouveaux phages rencontrent les bactéries voisines et surviennent d'autres cycles lytiques. Ainsi, le nombre de phages augmente de façon exponentielle tandis que le nombre des bactéries diminue rapidement. En l'absence de bactérie, le processus s'arrête et le phage est éliminé. Il est facile de visualiser l'effet d'un bactériophage *in vitro* en observant soit l'éclaircissement d'un bouillon troublé par la croissance d'une bactérie ou encore mieux par l'apparition de plages claires de lyse à la surface d'une gélose ensemencée par cette même bactérie (Fig. 2).

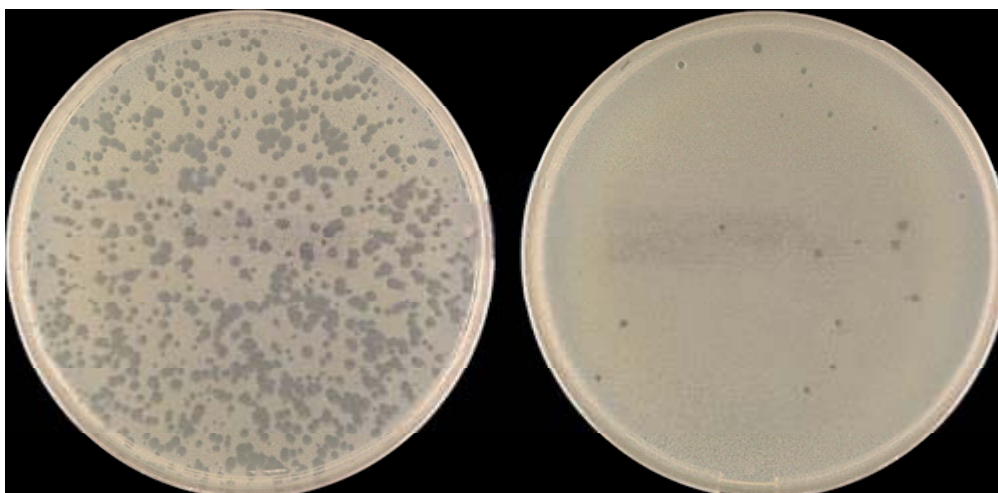


Figure 2

Les plages claires observées ont été provoquées par la lyse d'un bactériophage sur une souche de *Staphylococcus aureus* (technique de la double couche de gélose) étalée à la surface d'un milieu gélosé coulé dans une boîte de Pétri. A gauche, la suspension a été diluée à 10^{-6} , les plages sont innombrables. A droite, avec la même suspension diluée à 10^{-7} , on dénombre 15 plages. On peut en déduire que la suspension initiale comporte 15×10^7 bactériophages par millilitre, concentration requise pour un traitement.
Cliché : Alain Dublanquet.



Coévolution phages-bactéries [6]

Il serait réducteur de n'envisager les phages que du point de vue de leur reproduction aux dépens de leur proie. Depuis l'apparition de la vie sur terre (3 ou 4 milliards d'années), les protagonistes (phages et bactéries) entretiennent des rapports étroits qui assurent un équilibre permanent de l'un par l'autre avec une succession de modifications, source de transformations continues. Comme au cours de toute réplication génomique, il se produit (spontanément et à des taux variables) des erreurs de copie (appelées mutations) du matériel génétique bactérien ou phagique. Pour une bactérie, le hasard d'une mutation peut, par exemple, modifier des récepteurs phagiques présents à sa surface. La bactérie devient alors résistante au phage. Un phage, par le même processus, est capable de s'adapter aux stratégies de résistance bactérienne.

Sous l'influence de mutations successives, bactéries et phages évoluent dans un balancement dynamique continu qui favorise alternativement le développement de l'un ou l'autre des acteurs. Ainsi, dans la nature, au sein des **micro-écosystèmes**, les protagonistes se transforment au fil d'une **coévolution antagoniste** [7]. Cette coévolution est à l'origine du développement de la diversité, de la spécialisation, de l'adaptation, de la virulence et de l'activité phage-bactérie [8]. Les différentes tactiques utilisées par les phages pour parvenir à parasiter leur cible sont multiples et observées à toutes les étapes du cycle : modification des sites de fixation, levée de l'inhibition de l'adsorption ou de la pénétration, modification des restrictions, systèmes CRISPR-Cas (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Associated Proteins*), infection avortée, etc. Une revue récente [9] a fait l'inventaire des mécanismes connus.

Les études de ces mécanismes ont amélioré notre compréhension de la biologie des phages et devraient permettre d'anticiper le développement d'éventuelles résistances aux bactériophages thérapeutiques par les bactéries. Une utilisation limitée de la phagothérapie devrait en tout état de cause réduire ce risque. Mais dans la perspective d'une utilisation mal maîtrisée des phages, le même désastre que l'on connaît avec les antibiotiques pourrait se produire [6, 10, 11]. Il existe de nouveaux outils (ex : la métagénomique) qui devraient permettre d'étudier et peut-être même de prévoir les conséquences et d'en contrôler l'évolution [12]. Car avec l'introduction massive de phages thérapeutiques et/ou prophylactiques, on peut se demander si la coévolution naturellement équilibrée pourra se perpétuer durablement. Aujourd'hui, on fait l'hypothèse qu'il sera toujours possible d'isoler un phage lytique pour une bactérie pathogène. Mais peut-on en être certain ? [13].

Plus positivement, la biologie moléculaire, à l'essor de laquelle les phages ont largement contribué, a dévoilé et précisé chez certains d'entre eux plusieurs potentialités supplémentaires qu'il serait judicieux d'exploiter dans une perspective thérapeutique. Nous aborderons deux d'entre elles, les mieux étudiées : interaction avec les biofilms et synergie avec les antibiotiques.

Phages et biofilms

Les études bactériologiques au laboratoire (*in vitro*) se font dans des tubes et des boîtes. Dans de telles conditions, les bactéries se développent de manière optimale, généralement séparées les unes des autres, libres et indépendantes. C'est le mode de vie appelé **planctonique**, qui n'est cependant que rarement rencontré hors des laboratoires. Que ce soit à l'état commensal, saprophyte ou pathogène, les conditions sont souvent hostiles. Pour se prémunir des agressions physiques et/ou chimiques, les bactéries communiquent entre-elles (**quorum sensing**) et participent activement à l'élaboration d'un environnement protecteur [14] dans un mode de vie **sessile**. En présence d'une surface, des bactéries isolées y adhèrent, se développent forment des microcolonies, s'accrochent entre elles et aux surfaces adjacentes, sécrètent des exopolysaccharides élaborant progressivement une matrice dans laquelle se trouvent les cellules bactériennes, ainsi que de l'eau et des éléments divers provenant du milieu environnant. Cet ensemble hétérogène constitue ce que l'on appelle un **biofilm**. *In vivo*, de nombreuses bactéries pathogènes produisent une telle structure. Dans les **infections chroniques**, les bactéries qui produisent des biofilms et acquièrent une résistance aux antibiotiques sont dites **persistantes** et échappent aux défenses de l'hôte [15]. Mais en 1998, Hughes [16] a découvert que des phages peuvent s'attaquer aux biofilms à l'aide de dépolymérase, pour débusquer ces bactéries persistantes. Mieux encore, il semblerait possible de prévenir la formation du biofilm ou d'attaquer les anciens biofilms [17]. Tous les phages ne sont pas efficaces mais il existe des tests *in vitro* qui pourraient permettre de s'en assurer car on peut imaginer l'intérêt d'une telle propriété. Elle suscite de nombreux travaux et on lira une revue de la littérature concernant l'utilisation de phages en tant qu'agents de prévention ou d'éradication de biofilm [18]. En association avec des antibiotiques comme le céfotaxime [19] ou la rifampicine [20] l'action s'opposant à l'installation des biofilms pourrait être encore supérieure, synergique.

**Tableau 2. Avantages et inconvénients comparés de la phagothérapie et de l'antibiothérapie**

	PHAGOTHÉRAPIE	ANTIBIOTHÉRAPIE
Mode d'action et Pharmacologie	Les phages se multiplient au foyer infectieux, disparaissent avec les bactéries. Une dose unique est théoriquement suffisante. Le cycle de reproduction est variable selon le phage, la pharmacocinétique est mal connue → applications limitées aux foyers accessibles localisés (plaies)	Les antibiotiques (ATB) sont métabolisés in vivo et ont une diffusion variable selon les tissus La pharmacocinétique est bien connue pour les ATB → les modes d'administration (dose, rythme, durée) sont précisés
Spécificité	Un phage ne s'attaque qu'à l'espèce bactérienne pathogène ciblée → respect des flores commensales	Un antibiotique à large spectre est actif sur plusieurs espèces bactériennes → non-respect des flores commensales (diarrhée, mycoses)
Effets secondaires	Rares effets secondaires (fièvre, céphalée) si la suspension de phages est purifiée	Nombreux effets secondaires (digestifs, allergiques, neurologiques, rénaux, cardiaques, tendineux, ...)
Impact environnemental	1- Peu de risque si les phages sont naturels 2- Risque avec les phages modifiés génétiquement	Risque d'autant plus important que le spectre des ATB est large et leur emploi massif (utilisation dans l'élevage)
Limites	1- La bactérie pathogène doit être isolée 2- Absence de centre spécialisé	1- Les contreindications connues (toxicité) 2- Les résistances (R) aux ATB
Resistance	1- La R bactérienne aux phages peut apparaître en cours de traitement → utiliser plusieurs phages (« cocktail ») 2- Les phages restent actifs sur les bactéries R aux ATB et ne les sélectionnent pas	1- Les R des bactéries aux ATB sont en augmentation pour toutes les espèces et pour toutes les classes d'ATB partout dans le monde 2- Les R sont souvent multiples
Production et coût	1- Les phages naturels sont peu coûteux et rapidement utilisables → intérêt pour les pays à faibles ressources 2- Avec des phages génétiquement modifiés → coût important, brevet possible, délai, disponibilités ?	1. La mise sur le marché d'un nouvel ATB est très longue et très coûteuse → coût excessif pour les pays en voie de développement 2. Désintérêt actuel de l'industrie pharmaceutique
Efficacité	1- L'efficacité est prouvée dans de nombreuses études exp ^{les} animales 2- Les études exp ^{les} humaines récentes rigoureuses rares sont limitées aux phases I/II	1- L'efficacité est reconnue si les indications sont bien posées 2- Echec si la bactérie est méconnue et/ou R 3- Les études exp ^{les} rigoureuses sont nombreuses avec AMM
Indications	Les indications sont mal définies et il n'existe aucune standardisation pour l'utilisation thérapeutique des phages	La prescription des ATB est standardisée, les normes et indications bien établies (référentiels)
Réglementation	Les phages en tant que biomédicaments sont absents des textes de la Santé Publique (France et UE)	Les règlements sont bien adaptés à toutes les étapes de la fabrication comme à l'utilisation des ATB



Phages et antibiotiques

Comme pour les virus, les antibiotiques n'ont pas d'activité anti-phage. En revanche, il a été montré que l'association de certains antibiotiques avec certains phages est éventuellement synergique.

Dès 1945 [21] la synergie entre un phage et un antibiotique, en l'occurrence entre la pénicilline G à dose sub-inhibitrice et un phage lytique anti-staphylocoque, a été constatée par de nombreux articles publiés en français jusque dans les années 60 à l'Institut Pasteur de Paris (série de 8 articles parus entre 1947 et 1951 sous le titre général : *Antibiotiques et lyse bactériophagique*) et en Roumanie ou encore en Russie, heureusement maintenant traduits [22]. Mais précisons que cette synergie est propre à chaque couple phage-antibiotique. Il y a quelques années, une équipe française a présenté une observation fortuite *in vitro* d'un phénomène qui va dans ce sens [23] suggérant l'induction des phages par des bêta-lactamines et des quinolones. Depuis, des travaux ont confirmé, par exemple, que l'amoxicilline [24], la ceftriaxone [25], l'enrofloxacin [26] mais aussi la vancomycine [27], la gentamicine [28] ou encore le linézolide [29], parfois à des concentrations sub-inhibitrices, ont des propriétés antibactériennes supérieures à celles des phages ou des antibiotiques utilisés seuls. Signalons qu'une autre piste de recherche pour suppléer les antibiotiques serait les endolysines produites par les phages à la fin de leur cycle (voir ci-dessus), qui détruisent le peptidoglycane de la paroi des bactéries à Gram positif. Purifiées, de telles lysines phagiques se sont révélées synergiques respectivement avec la daptomycine ou la vancomycine sur un pneumocoque [30] ou un staphylocoque [27]. Ces synergies phage-antibiotique fortes pourraient s'expliquer par l'addition de deux actions enzymatiques d'origine phagique, agissant sur la paroi et sur le biofilm [17], qui viendraient renforcer l'action de l'antibiotique [19], [20]. Nous pouvons aussi spéculer sur un autre avantage de la thérapie combinée qui serait sa capacité à contrôler la formation de mutants résistants qui se développent facilement en utilisant les phages ou les antibiotiques seuls.

Comparaison phagothérapie et antibiothérapie. Avantages et inconvénients

Bien qu'il soit de moins en moins justifié de considérer uniquement la phagothérapie comme une simple solution de remplacement de l'antibiothérapie, il est légitime de comparer leurs avantages et inconvénients puisque ces deux traitements ont la même finalité, combattre les maladies infectieuses bactériennes. Résumés dans le tableau 2, ils représentent le consensus actuel [31] que la multitude des traitements appliqués par le passé confirme.

Les principaux avantages sont :

- ▶ effet bactéricide rapide ;
- ▶ augmentation de la quantité du principe actif au cours du traitement ;
- ▶ absence de perturbation des flores commensales ;
- ▶ efficacité indépendante de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques ;
- ▶ absence d'effet toxique propre.

Les principaux inconvénients sont :

- ▶ spécificité étroite qui interdit les traitements « probabilistes » ;
- ▶ protéines étrangères qui peuvent provoquer des réactions de sensibilisation ;
- ▶ apparition de résistance (s) bactérienne(s) en cours de traitement.

Phagothérapie - indications cliniques

Depuis 1922, date à laquelle la première publication relate un essai thérapeutique par les phages [32], on peut affirmer que presque toutes les infections bactériennes, quelle que soit leur localisation, pourraient être traitées par les phages. D'importantes séries ont été rapportées, notamment dans les pays de l'est européen et en France, avec des succès attribués à la phagothérapie [33, 34]. Le pragmatisme prévalait alors. Mais la démonstration est insuffisante au regard des exigences actuelles car les études cliniques courantes aujourd'hui sont parfaitement codifiées (randomisées, en double aveugle, avec lots témoins, etc.). Avec les développements récents de la recherche fondamentale sur les bactériophages, des propriétés connues ont été confirmées et explicitées tandis que de nouvelles ont été mises en évidence permettant d'envisager la phagothérapie sur des bases moins empiriques que par le passé.



Infections gastro-intestinales

Historiquement, les gastro-entérites bactériennes ont été les premières infections traitées avec succès : shigellose, salmonellose, puis choléra en Inde. Aujourd'hui, ces maladies ne constituent pas la première préoccupation dans les pays dont l'hygiène est développée. En revanche, dans les pays où l'accès à l'eau potable est difficile ou lors de conflit, les épidémies sont parfois très meurtrières. L'administration *per os* de phages est facile (après alcalinisation de l'estomac) et sans effet secondaire. Il a été montré expérimentalement récemment [35] qu'une préparation pharmaceutique spécifique commercialisée couramment en Russie (Intesti-Phage, MicoGen), constituée d'un cocktail de 18 phages est parfaitement tolérée. Une étude expérimentale pilotée par la firme suisse Nestlé a été envisagée au Bangladesh [36] pour traiter des volontaires.

Le microbiote intestinal qui est constitué par l'ensemble des micro-organismes répartis le long du tube digestif est très étudié. Pour chaque individu, sa composition est variable selon la localisation intestinale mais aussi dans le temps et en fonction du régime alimentaire. Il est considéré comme un véritable organe dont le rôle commence seulement à être exploré. Ce n'est pas le seul, mais c'est le microbiote certainement le plus étudié actuellement [37] et son analyse laisse entrevoir d'éventuelles interventions pour traiter certaines pathologies en corrigeant ponctuellement les dysfonctionnements du micro-système intestinal. Les perturbations comme celles consécutives à un traitement antibiotique ou à un régime déséquilibré, ont longtemps été interprétées au niveau de la population bactérienne. Avec environ ses 10^{15} bactériophages, si on soupçonne depuis longtemps le **phagème** intestinal constitué de bactériophages tempérés mais aussi lytiques de participer à la diffusion des résistances aux antibiotiques, on connaît moins les contributions de ce phagème au maintien d'un équilibre convenable du microbiote dans son ensemble [38]. Les bactériophages pourraient aussi protéger la muqueuse intestinale en s'associant au mucus intestinal. La capacité d'adaptation de cette population virale participerait encore à un mécanisme communautaire pour la protection de la microflore intestinale en préservant sa robustesse fonctionnelle au cours du stress aux antibiotiques [39].

Les gastro-entérites bactériennes ont été traitées massivement et avec succès, semble-t-il, pendant de nombreuses décennies mais les traitements ont été généralement appliqués de manière empirique. Depuis quelques années, des études expérimentales ont été conduites avec de nombreux modèles animaux. Il a été décrit tout dernièrement un modèle simple qui utiliserait la sangsue médicinale (tube digestif fonctionnellement comparable à celui de l'humain) qui serait, si son intérêt se confirme, particulièrement intéressant pour de telles études [40]. Dans l'ensemble, les bactéries les plus étudiées sont celles que l'on rencontre dans les pays occidentaux *Campylobacter*, *E. coli*, etc. La bonne tolérance des bactériophages par voie digestive ne surprend pas mais il a été souligné qu'un paramètre déterminant pourrait être le rapport *in situ* entre le nombre de bactéries pathogènes et celui des bactériophages (que l'on désigne par MOI pour Multiplicity Of Infection). Il est sans doute difficile de maîtriser un MOI optimal en pratique thérapeutique. Cette incertitude pourrait expliquer certains échecs observés [41]. Chez l'animal, de nombreuses démonstrations d'efficacité ont été réalisées notamment en aquaculture et dans les élevages aviaires. En l'absence de médicaments autorisés, les études expérimentales humaines manquent quant à elles pour évaluer l'efficacité de la phagothérapie individuelle et encore plus au cours d'épidémies.

L'utilisation de bactériophages capables de lyser *Clostridium difficile* pourrait être une solution pour traiter ou prévenir la colite pseudomembraneuse [42] mais aucune souche de bactériophage spontanément strictement lytique pour *C. difficile* n'a encore été isolée. Des risques de lysogénéisation ont été signalés, qui incitent à la prudence [43]. Le choléra a été très largement combattu par le passé dans les pays où sévissent des épidémies. Aujourd'hui, les bactériophages pourraient expliquer les cycles épidémiques du choléra [44] sont largement étudiés aussi bien expérimentalement chez l'animal, le lapin [45] que dans son milieu naturel, l'eau [46]. Les bactériophages sont étroitement associés à l'évolution bactérienne et participent au développement de la pathogénicité. L'existence de *Helicobacter pylori* a été reconnue il y a 20 ans dans les pathologies gastriques, mais peu de bactériophages spécifiques [47] ont été étudiés à ce jour. L'un d'entre eux, stable pour une large gamme de pH (2,5 à 10), confirme qu'il est adapté à l'acidité de l'estomac humain. Il est lytique pour 63,6 % des souches d'*H. pylori* [48]. Aucun essai *in vivo* ne semble avoir encore été tenté tant en prophylaxie qu'en thérapeutique mais pourrait être prometteur [49]. Des modèles animaux existent, mais ne seraient pas suffisamment fiables.

Hors ces applications thérapeutiques « classiques », il est envisagé de débarrasser le tube digestif des sujets hébergeant des bactéries réputées pour être à l'origine d'infections nosocomiales à souches multi-résistantes (*Klebsiella pneumoniae* NDM ou *E. coli* O104:H4 par exemple). Ce domaine d'applications potentielles ouvre des perspectives particulièrement attractives [50]. Enfin, signalons qu'il a été découvert que les maladies inflammatoires intestinales sont caractérisées par un métagenome (y compris le phagème) modifié par rapport à celui d'intestins normaux. Toutefois, à ce jour, le constat d'une différence par rapport à l'intestin de sujets sains ne permet pas de préciser le rôle des phages [51] comme cause ou conséquence des modifications observées.



Infections des voies respiratoires

Ces infections, sous leur forme chronique ou récidivante, sont une préoccupation médicale importante en raison du taux élevé de mortalité des patients du fait de souches multirésistantes. Parmi les maladies les plus préoccupantes, signalons la mucoviscidose habituellement surinfectée par des souches muqueuses de *Pseudomonas-aeruginosa*, résistantes à de nombreux agents antimicrobiens et capables de former des biofilms. Ces infections sont devenues très difficiles à traiter. Une étude expérimentale, conduite chez la souris, a montré qu'une solution contenant un phage virulent, introduit par voie nasale empêchait le développement d'une forme mortelle d'infection pulmonaire, avec un taux de survie de 100 %, alors que tous les animaux témoins mourraient. Le taux de survie était de 95 %, 75 % et 25 % respectivement lorsque les phages étaient introduits 2, 4 et 6 h après l'infection. L'inhalation semble être efficace pour délivrer les phages aux poumons car de nombreux phages peuvent être, lyophilisés sous forme de poudre que des inhalateurs peuvent propulser au sein de microparticules [52]. Des bactériophages capables d'agir conjointement sur la bactérie et le mucus, ainsi que certains avants, seraient-ils la solution pour sortir des difficultés thérapeutiques [53] ?

La dilatation des bronches ou les pneumonies chroniques relèvent de la même approche thérapeutique. Des études *in situ* de l'activité des phages sur les infections aiguës du parenchyme ont été développées avec des méthodes élégantes utilisant des bactéries fluorescentes. Ainsi, il a été observé expérimentalement que l'efficacité démontrée *in vitro*, bien que nécessaire, n'est pas suffisante pour assurer l'efficacité *in vivo* probablement à cause des interactions négatives du microbiote de l'hôte [54] et des bactéries persistantes des biofilms qui confèrent une résistance aux antibiotiques et aux défenses immunitaires. Ainsi, la voie d'administration demeure l'un des problèmes dans l'optimisation du traitement d'une infection des voies respiratoires, parce que les bactéries peuvent résider dans les macrophages ou que des colonies bactériennes sont protégées par des couches de mucus profondes. L'inhalation semble être efficace pour déposer les bactériophages dans l'appareil pulmonaire [55]. L'introduction des bactériophages, par l'aérosol sous forme de poudre sèche contenant des bactériophages incorporés dans des microparticules pourrait avoir des avantages supplémentaires [52]. Elle constitue en effet une voie non invasive permettant un traitement ambulatoire à faible coût qui permet d'atteindre les bactéries y compris dans les macrophages du fait que de nombreux bactériophages peuvent être stabilisés pendant des années à l'état solide.

Infections ostéoarticulaires (IOA)

Ces infections doivent être envisagées dans trois contextes différents : l'infection osseuse dite « native » sur un os sans matériel, l'infection osseuse avec matériel dont les prothèses articulaires et l'infection du « pied diabétique ». Ces types d'infections constituent un problème en constante augmentation et seraient une indication privilégiée de la phagothérapie. La première étude économico-épidémiologique d'importance [56] évalué qu'en France, en 2008, 28 453 patients étaient atteints d'une IOA, ce qui avait entraîné un coût direct de 259 M€. Les échecs thérapeutiques (absence de réponse des traitements conventionnels bien conduits) ne sont pas rares et sont extrêmement coûteux pour la société. De plus, du fait d'une invalidité très prolongée, source de problèmes socio-économiques majeurs, des surcoûts importants ne sont pas comptabilisés.

L'IOA « native »

En l'absence de matériel, sans être facile à traiter, l'IOA est probablement celle qui a plus de chance de guérison sous traitement conventionnel adapté. Toutefois, il faut prendre en compte deux facteurs majeurs que sont : la mauvaise diffusion des antibiotiques dans l'os et la fréquence importante des résistances aux antibiotiques (67 %, 16 % et 16 % respectivement pour les staphylocoques, les bactéries à Gram négatif et les streptocoques [56]). *Staphylococcus aureus* représente la bactérie la plus souvent impliquée dans les infections prolongées. L'installation d'un biofilm par les souches bactériennes semblerait contrariée par certains bactériophages. Plus encore, il a été montré dans une étude expérimentale *in vivo* que la combinaison **débridement** et bactériophage serait un atout supplémentaire pour une évolution favorable [57] surtout en association avec un antibiotique comme par exemple la gentamicine [58]. Enfin, l'utilisation d'une souche de *S. aureus* fluorescente qui vient d'être publiée [59], sera un outil très utile pour ce type d'étude dans des modèles animaux.

Prothèses articulaires

Les prothèses articulaires (hanche, genou), qui, avec le vieillissement des populations, seront de plus en plus fréquentes, s'infectent dans environ 2,5 % des cas, majoritairement avec *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM). Les antibiotiques diffusent mal dans le tissu osseux et comme il s'agit



généralement d'infections subaiguës ou chroniques, la constitution d'un biofilm sur le matériel rend l'action des antibiotiques encore plus improbable. Le traitement d'une IOA avec matériel est lourd, prolongé et nécessite, au moins temporairement la dépose des prothèses avant traitement. L'utilisation de bactériophages ayant une activité lytique sur la bactérie et capables d'empêcher, voire d'attaquer le biofilm, pourrait peut-être permettre d'éviter cet inconvénient. Nous avons fait ce pari, à titre compassionnel dans quelques cas avec succès. Des études semblent apporter la confirmation que cela n'est probablement pas utopique [60] mais mériteraient d'être confirmées par des travaux randomisés et en double aveugle.

Une étude nous apparaît comme particulièrement démonstrative et nous la rapportons avec plus de détails [61]. Il s'agit d'un modèle d'infection osseuse (tibia avec implant) chez le rat pour deux types d'infections SARM et *P. aeruginosa*. Chaque type d'infection comportait deux groupes de quarante-huit rats, divisés en quatre sous-groupes ; un sous-groupe a reçu un bactériophage spécifique de la bactérie, un autre a été traité seulement par un antibiotique pendant quatorze jours (teicoplanine pour le sous-groupe SARM ou imipenem+cilastatine+amikacine pour le sous-groupe *P. aeruginosa*) ; un autre sous-groupe a reçu à la fois des antibiotiques et le bactériophage spécifique et enfin, un dernier sous-groupe n'a reçu aucun traitement. Les bactériophages ont été appliqués localement : 0,1 ml d'une suspension à 10^7 /ml de bactériophages trois jours consécutifs. Tous les animaux ont été tués quinze jours après le début du traitement et le tibia prélevé. Les résultats ont été évalués par culture et analyses microscopiques (optique et électronique). Une analyse très complète a conclu que la phagothérapie adaptée associée à un traitement antibiotique approprié permettait de dissoudre le biofilm pour les deux espèces bactériennes avec un effet plus prononcé sur le modèle avec *S. aureus* que sur celui avec *P. aeruginosa*.

Infections du pied chez les diabétiques

Troisième contexte, les infections du pied chez les diabétiques. On estime que dans la population diabétique (3,5 millions en France, 350 millions dans le monde), 15 % à 25 % des patients présenteront au cours de leur vie une ulcération des membres inférieurs. Les complications évolutives liées au « pied diabétique » constituent une préoccupation dans la mesure où il peut y avoir une participation osseuse. La récurrence est habituelle et 40 à 80 % s'infectent avec un risque d'amputation très élevé (> 13 000 amputations en 2007) et un pronostic est très sombre (> 50 % de nouvelle amputation dans les 5 ans et 58 % de survie dans les 5 ans). Le traitement conventionnel est peu efficace (50 % seulement de succès) d'autant qu'il s'agit souvent de SARM ou de *P. aeruginosa* multi-résistant. L'efficacité de la phagothérapie a été proposée et étudiée dans des modèles animaux diabétiques (rat et porc). Avec ces modèles, la combinaison des traitements donnant les meilleurs résultats et un ou plusieurs bactériophages en association avec un antibiotique (linézolide) [29] ou un débridement [62]. Les auteurs du travail précédent viennent de montrer l'intérêt d'un cocktail de bactériophages actifs à la fois sur les bactéries (*S. aureus*, *P. aeruginosa* et *Acinetobacter*) et les biofilms [63].

Signalons qu'une étude multicentrique subventionnée (PHOSA) devrait être menée en France à partir de 2015. Un consortium associant des firmes (Pherecydes Pharma, Biofilm Control et Vivexia), le Centre Hospitalier Intercommunal de Villeneuve-Saint-Georges et le Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI) a été constitué. Le projet commun visant à la mise au point d'un cocktail de bactériophages lytiques efficace contre les IOA provoquées par *S. aureus* et *S. epidermitis*, est soutenu par l'État (Fonds Unique Interministériel).

ORL, stomatologie et ophtalmologie

Peu de travaux récents ont concerné les infections bactériennes de la sphère ORL, comme celles de la bouche, ou les infections oculaires. Pour la sphère ORL cependant, dans le cadre des otites moyennes externes à *P. aeruginosa*, des essais cliniques expérimentaux chez 10 chiens effectués selon des normes modernes ont été réalisés il y a quelques années [64]. Les résultats ont montré que l'administration dans l'oreille d'un mélange de six bactériophages conduit à la lyse du *P. aeruginosa* sans toxicité apparente, et constitue un traitement efficace facile à utiliser. Il y a plusieurs années, à titre compassionnel nous avons traité, chez une jeune fille, une otite externe chronique à *S. aureus* dont la forme évolutive était préoccupante. La solution de bactériophages russe utilisée s'est montrée efficace en 72 heures (sédation des violentes douleurs et de la suppuration). La guérison, confirmée par l'étude bactériologique a été obtenue en 3 semaines et a permis une greffe cutanée. Les rhinosinusites chroniques constituent un ensemble de pathologies fréquentes difficiles à traiter par les moyens conventionnels. Une étude a évalué l'activité *in vitro* d'un cocktail de bactériophages spécifiques contre 66 souches *S. aureus* isolées de patients [65] : 94 % des souches étaient sensibles au cocktail et la masse de biofilm constituée a été



réduite. Un tel cocktail aurait donc le potentiel de traiter ce type d'infection. La microbiologie buccale est complexe. Elle est encore mal explorée mais commence à l'être d'un point de vue métagénomique [66]. C'est ainsi que les parodontites sont caractérisées par la présence de nombreux bactériophages lytiques dans les biofilms sans savoir s'ils sont la cause ou la conséquence de la pathologie. La stomatologie sera, à ne pas en douter, une spécialité qui devrait s'intéresser au rôle joué par les bactériophages tant pour expliquer l'état normal que les situations pathologiques et étudier la plaque dentaire [67]. La phagothérapie pourrait avoir un intérêt dans cette spécialité. Des applications devraient être rapidement envisagées en ophtalmologie car une étude a montré que, non seulement les bactériophages sont bien tolérés par la muqueuse oculaire, mais qu'ils permettent au moins expérimentalement de traiter des infections à *P. aeruginosa* chez le rat [68]. Comme il existe peu de références concernant cette spécialité, on pourra consulter avec intérêt une mini-revue [69].

Infections cutanées

Historiquement la furonculose a été la première pathologie à être traitée empiriquement et souvent avec succès par des bactériophages. Le microbiote de la peau commence à être exploré, mais ces études n'incluent pas encore systématiquement les bactériophages. La grande diversité des micro-organismes qui colonisent la peau met en évidence des caractéristiques uniques telles que la spécificité des sites, la dynamique temporelle et les variations interpersonnelles [70]. On entrevoit déjà que des perturbations des microbiotes des surfaces (peau et muqueuses) sont associées à la progression de nombreuses maladies dermatologiques. Une meilleure connaissance des interactions entre les microorganismes - dont les bactériophages - de la peau avec leur hôte, fournira de solides outils pour comprendre, traiter et prévenir les maladies dermatologiques s'il est possible d'intervenir spécifiquement au niveau de ces interactions [71]. Ce n'est que récemment que des études expérimentales ont été conduites *in vitro* sur de la peau pour connaître plus précisément les interactions bactériophages-bactéries. Elles pourraient fournir une base pour la sélection du protocole le plus approprié pour les expériences *in vivo* [72] avec une souche de *P. aeruginosa* multi-résistante mais aussi le *S. aureus* et encore *Propionibacterium acnes* [73]. Les plaies de grands brûlés sont aussi une cible privilégiée pour les surinfections [74] notamment à *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ou encore *K. pneumoniae*. Le taux de mortalité élevé chez ces patients a amené à réévaluer les méthodes conventionnelles utilisées dans leur traitement. L'application topique de produits comportant des phages, ou leur utilisation sous forme de particules actives adsorbées sur des polymères (PhageBioderm), ont été développées dans les centres de recherche spécialisés et ont montré de bons résultats. Une étude multicentrique européenne (PhagoBurn), soutenue par le ministère de la Défense français devrait être initiée dès que les solutions de bactériophages adaptées à *E. coli* et à *P. aeruginosa* seront disponibles. Enfin, les plaies de guerres souvent infectées avec *Acinetobacter baumannii* ont souligné la nécessité de trouver des alternatives à l'antibiothérapie [75].

Infections urinaires et génitales

Les infections à *E. coli* des voies urinaires sont des infections courantes traitées par des antibiotiques. Comme pour toutes les bactéries, au cours des années, sont apparues des souches résistantes aux antibiotiques. Ces souches sont capables de former des biofilms ce qui complique le traitement surtout en présence de sonde. Expérimentalement, il a été observé que des bactériophages peuvent préserver les cathéters urinaires de la colonisation par *P. aeruginosa* [76] et il a été aussi montré [77] que trois bactériophages réduisent significativement le biofilm formé par une souche pathogène. De nombreux succès ont été rapportés dans les pays de l'Europe de l'Est (Pologne) et la Russie mais les études cliniques contrôlées permettant de démontrer tout le potentiel des phages dans les infections urinaires sont absentes dans les pays occidentaux. Sans doute n'est-ce pas une urgence pour que la recherche ne se soit pas encore intéressée au problème. Une petite série polonaise rapporte le traitement par voie rectale de trois prostatites chroniques à *Enterococcus faecalis* [78]. L'intérêt de cette indication a été largement discuté par les mêmes auteurs dans une revue [79]. Signalons que nous avons participé au traitement par phagothérapie d'une infection urinaire en 2011 [80]. La phagothérapie des infections vaginales, quant à elles, ne semble pas pour le moment d'actualité. Les études du microbiome dans la vaginose, encore rares, soulèvent encore plus de questions qu'elles n'en résolvent, en raison de l'étiologie probablement multifactorielle de la vaginose et du manque d'un modèle animal fiable de cette maladie.

Infections diverses : endocardite, septicémie, méningite, péritonite

Il a été bien établi au fil des expériences passées que les bactériophages pourraient être administrés sans conséquence par toutes les voies possibles, y compris injectables (intra-veineux, rachidien, péritoine).



Des péritonites et des méningites ont été traitées avec succès par injections locales de bactériophages dans le passé. Les endocardites pourraient peut-être constituer un objectif. Mais en théorie, la localisation de cette infection semble mettre la bactérie à l'abri d'une lyse. De plus, il vient d'être démontré que la responsabilité des antibiotiques pourrait être engagée dans la pathogénie des endocardites par le truchement des bactériophages [81]. Cette suspicion provient de l'étude d'une souche d'*E. faecalis* hébergeant 6 prophages. Ces prophages transmettent aux bactéries la propriété d'adhérence aux plaquettes sanguines humaines, ce qui pourrait favoriser la colonisation des valves cardiaques. Plus encore, en tuant les bactéries, un antibiotique (ciprofloxacine) induit la libération massive des prophages ce qui pourrait favoriser la dissémination de cette propriété à d'autres bactéries.

Infections à mycobactéries

Les infections à mycobactéries nécessiteront une approche particulière car ce genre bactérien présente des particularités (multiplication lente et intracellulaire). En pathologie humaine et dans nos contrées, c'est avant tout le bacille de la tuberculose qui retient l'attention. Malgré le fait que de nombreux mycobactériophages (bactériophages anti-mycobactérie) soient décrits, il n'y a pas de projets pour une application thérapeutique à brève échéance [82]. On peut penser que l'extension de la résistance de *Mycobacterium tuberculosis* sera une motivation dès que la phagothérapie des pyogènes sera opérationnelle. Il existe d'autres mycobactérioses. Une pathologie très répandue en Afrique, l'ulcère de Buruli (*Mycobacterium ulcerans*), a fait l'objet d'une étude expérimentale [83] dans un modèle de souris. Etant donné l'épidémiologie de cette infection, la phagothérapie utilisée par voie topique serait une solution intéressante. Une autre espèce particulière du genre *Mycobacterium* (dû à *Mycobacterium avium paratuberculosis* ou MAP) provoque des pertes économiques considérables en infectant les cheptels ruminants. De plus, cette bactérie pourrait être à l'origine de maladies intestinales inflammatoires via la consommation de lait et de viande d'animaux contaminés. Si tel est le cas, l'isolement des mycobactériophages en ferait peut-être des agents thérapeutiques efficaces à grand échelle [84].

Introduction de la phagothérapie

En France comme en Europe, tout médicament doit être conforme à la réglementation en vigueur qui encadre sa **production** et son **évaluation**. La caractérisation et la détermination de la qualité nécessitent une combinaison d'essais physico-chimico-biologiques. Les phages utilisés pour soigner sont, par nature et d'après le Code de la Santé Publique, des médicaments. Comme tout médicament de nature biologique (biomédicament), cela entraîne une réglementation particulière, en raison des paramètres et de constantes du produit plus difficiles à définir, à garantir et à maîtriser.

Production

Les normes de production d'un médicament figurent dans le guide de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF ou en anglais *GMP* pour *Good Manufacturing Practices*) d'émanation européenne. Actuellement, seules les thérapies cellulaires et géniques ont été clairement envisagées par ce guide. Quelques experts du monde occidental tentent de faire valoir l'introduction d'une réglementation adaptée aux bactériophages. Le débat est en cours, il est donc encore difficile de préjuger de son issue. Deux courants se profilent [85].

Le premier envisage une **production classique** sur le schéma des spécialités pharmaceutiques « **prêtes à utiliser** » ce qui en ferait un médicament prêt à l'emploi disponible comme l'est un antibiotique. Il s'agirait de mélanges de bactériophages (appelés « cocktails ») dirigés contre les bactéries les plus fréquentes (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Entérobactéries*, etc.) ou destinés à une pathologie particulière. Le Laboratoire du Bactériophage commercialisa pendant près de 50 ans (1930 à 1976) cinq spécialités : Bacté-staphy-phage®, Bacté-pyo-phage®, Bacté-coli-phage®, Bacté-intesti-phage®, et Bacté-rhino-phage®. Des auteurs [86] qui envisagent ce retour de la phagothérapie selon ce schéma classique ont tenté d'en définir les conditions et posé les bases des exigences d'un produit de qualité industrielle. L'un des problèmes, et non des moindres, pour une commercialisation de tels produits réside dans la propriété intellectuelle qui protégerait les firmes s'engageant dans cette voie. On comprend pourquoi les grandes firmes pharmaceutiques ne s'engagent pas, pour le moment, dans ce domaine, déjà peu motivées pour la recherche coûteuse de nouveaux antibiotiques.



Le deuxième est la « **préparation adaptée** » à un besoin spécifique, parce que la bactérie à traiter est une espèce inhabituelle ou résistante aux bactériophages de la production classique. La phagothérapie à ses débuts était pratiquée avec des phages isolés de la nature en fonction des besoins et au cas par cas. Ainsi, les phages, patiemment sélectionnés par l'expérience au cours de plusieurs décennies, ont permis de constituer empiriquement des collections conservées dans des centres comme les Instituts Pasteur (France : Paris et Lyon). En s'adressant à ces centres, il était possible de faire préparer « **sur mesure** » la quantité de phages nécessaire à un traitement particulier à condition d'adresser au centre la bactérie responsable de l'infection. Cette préparation avait pour avantage d'entraîner (exalter) par des passages sériés le ou les phages sélectionnés. Cette approche est encore pratiquée ainsi dans certains pays de l'Est de l'Europe (Pologne, Géorgie et Russie). Malheureusement, dans les pays occidentaux, les collections ont disparu. Il serait nécessaire de les reconstituer et de les mettre à disposition dans des biobanques.

Il restera à préciser, surtout dans le cas de produits commercialisés, la stabilité et la conservation, les formes et présentations (vectorisation) et les dosages.

Evaluation

L'étape qui vient après la production et seulement si le label GMP a été attribué est l'étude des effets positifs et négatifs sur un organisme vivant tel que l'être humain. Quatre phases doivent être successivement franchies pour obtenir l'AMM (Autorisation de Mise sur le Marché). Cependant, la nature même d'un biomédicament ne permet pas de répondre à certaines données qui découlent de la pharmacologie [87-89], dont la **pharmacocinétique** qui étudie les effets de l'organisme sur le médicament son absorption, son métabolisme et son excrétion et la **pharmacodynamie** qui étudie les effets d'un médicament sur l'organisme auquel on l'administre.

Les phages se multiplient en présence des bactéries au site de l'infection et disparaissent avec les bactéries cibles. Ils sont donc autorépliquants et autolimitants. Cependant, la reproduction d'un phage est mal connue *in vivo*, variable non seulement d'un phage à l'autre mais aussi selon la bactérie-cible et en fonction de l'environnement. Il est apparu ces dernières années que la compréhension des interactions phages-bactéries était essentielle. Des disciplines nouvelles sont apparues ces dernières années sous l'impulsion de chercheurs qui étudient les microécosystèmes. Les études génétiques qui analysent à haut débit les microbiotes sont complétées par des études morphologiques inédites grâce à l'utilisation de nouvelles techniques microscopiques [90]. Cela permet d'observer les interactions phages-bactéries directement même dans leur milieu naturel. On comprend qu'il soit essentiel de connaître finement les dynamiques hôte-phage quand on développe la phagothérapie.

Ces avancées devraient permettre de définir et caractériser de nombreux paramètres et variables : indications, posologie, modes, voies et fréquence d'administration, durée du traitement, association à d'autres traitements, précautions d'emploi, etc. Devant cette accumulation d'inconnues, la question qui prévaut est de savoir comment lever les obstacles qui s'opposent aux applications pratiques. Dans les pays occidentaux, ils commencent à être identifiés et il apparaît qu'un effort coordonné par le secteur de la Santé Publique sera nécessaire pour évaluer le potentiel de la phagothérapie [91]. En réalité, une dose de pragmatisme et un changement de paradigme semblent être nécessaires pour débloquer la situation.

Conclusion et perspectives

Devant le constat d'une progression continue des résistances bactériennes aux antibiotiques et la raréfaction des nouvelles molécules, en 2012, l'Organisation Mondiale de la Santé a déclaré qu'une ère post-antibiotique est à redouter. Le risque pour la santé publique que des agents d'infections banales aujourd'hui soient à l'origine de catastrophes majeures demain, commande le développement de stratégies complémentaires et/ou alternatives. La phagothérapie représente l'une d'entre elles car avec l'acquisition de nouvelles connaissances, il semble sérieusement envisageable de réhabiliter et d'utiliser cette ancienne thérapeutique qui pourrait bouleverser notre façon de traiter les maladies infectieuses. Mais pour que la phagothérapie redevienne une réalité, les recherches doivent concentrer leurs efforts pour mieux comprendre la biologie des phages, leur comportement dans l'environnement naturel comme dans le corps humain, ainsi que les paramètres qui influent sur leurs interactions avec l'hôte bactérien, afin d'expliquer les grandes différences parfois observées entre les résultats des études *in vitro* et *in vivo*.



De plus, l'introduction des bactériophages comme agents thérapeutiques et/ou prophylactiques, si elle a lieu, nécessite que soit développé parallèlement un cadre réglementaire pour définir les critères d'une production qui doit aujourd'hui répondre aux bonnes pratiques de fabrication (BPF ou GMP). Le concept « *One Health* » qui envisage de définir une approche intégrée repose essentiellement sur le renforcement des collaborations entre la santé humaine, la santé animale et la gestion de l'environnement. En effet, dans la perspective d'un développement durable il serait regrettable d'utiliser les bactériophages sans précaution. Il est temps de discuter des approches possibles dans une coopération internationale multidisciplinaire réunissant microbiologistes, écologistes des microsystèmes et évolutionnistes, médecins infectiologues, chirurgiens, etc. Quoiqu'il en soit, il est peu probable que la phagothérapie se substitue à l'antibiothérapie car les antibiotiques sont trop utiles pour qu'on puisse s'en passer. Mais les phages devraient être un complément utile dans la lutte contre les infections. Les bactéries ont un tel potentiel qu'il sera à l'avenir, à ne pas en douter, plus que jamais nécessaire d'associer les armes à notre disposition pour lutter contre elles.

Références

1. d'Herelle F. Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences* 1917;165:373-5.
2. Zucca M, Savoia D. The post-antibiotic era: promising developments in the therapy of infectious diseases. *Int J Biomed Sci*, 2010;6(2):77-86.
3. Wittebole X, De Roock S, Opal SM. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence* 2013; 4(8):1-10.
4. Ackermann HW, Prangishvili D. Prokaryote viruses studied by electron microscopy. *Arch Virol* 2012;157(10):1843-9. doi: 10.1007/s00705-012-1383-y.
5. Debarbieux L. Attaquer les bactéries avec des virus. *La Recherche* 2010. HS(41): 42-5.
6. Williams HT. Phage-induced diversification improves host evolvability. *BMC Evol Biol* 2013;13(1):17. doi: 10.1186/1471-2148-13-17.
7. Dennehy JJ. What Can Phages Tell Us about Host-Pathogen Coevolution? *Int J Evol Biol* 2012;2012:396165. doi: 10.1155/2012/396165.
8. Hall AR, Scanlan PD, Buckling A. Bacteria-phage coevolution and the emergence of generalist pathogens. *Am Nat* 2011;177(1):44-53. doi: 10.1086/657441.
9. Samson JE, Magadan AH, Sabri M, Moineau S. Revenge of the phages: defeating bacterial defences. *Nat Rev Microbiol* 2013;11(10):675-87. doi: 10.1038/nrmicro3096.
10. Krylov VN. Use of live phages for therapy on a background of co-evolution of bacteria and phages. *International Research Journal of Microbiology* 2011;2(9):315-332.
11. Meaden S, Koskella B. Exploring the risks of phage application in the environment. *Front Microbiol* 2013;4: 358. doi: 10.3389/fmicb.2013.00358.
12. Labrie SJ, Samson JE, Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nature reviews. Microbiology* 2010;8(5):317-27. doi: 10.1038/nrmicro2315.
13. Koskella B, Meaden S. Understanding bacteriophage specificity in natural microbial communities. *Viruses* 2013;5(3):806-23. doi: 10.3390/v5030806.
14. Hoyland-Kroghsbo NM, Maerkedahl RB, Svenningsen SL. A quorum-sensing-induced bacteriophage defense mechanism. *MBio* 2013;4(1): e00362-12. doi: 10.1128/mBio.00362-12.
15. Balaban NQ, Gerdes K, Lewis K, McKinney JD. A problem of persistence: still more questions than answers? *Nat Rev Microbiol* 2013;11(8):587-91.
16. Hughes KA, Sutherland IW, Jones MV. Biofilm susceptibility to bacteriophage attack: the role of phage-borne polysaccharide depolymerase. *Microbiology* 1998;144:3039-47.
17. Verma V, Harjai K, Chhibber S. Structural changes induced by a lytic bacteriophage make ciprofloxacin effective against older biofilm of *Klebsiella pneumoniae*. *Biofouling*, 2010. 26(6): 729-37. doi: 925734307 [pii]10.1080/08927014.2010.511196.
18. Abedon ST. Bacteriophages and Biofilms: Ecology, Phage Therapy, Plaques, in *Biofilms: Formation, Development and Properties*, William C. Bailey, Editor 2011, Nova Science Publishers: Hauppauge, New York. p. 1-58.
19. Ryan EM, Alkawareek MY, Donnelly RF, Gilmore BF. Synergistic phage-antibiotic combinations for the control of *Escherichia coli* biofilms in vitro. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012;65(2):395-8. doi: 10.1111/j.1574-695X.2012.00977.x.
20. Rahman M, Kim S, Kim SM, Seol SY, Kim J. Characterization of induced *Staphylococcus aureus* bacteriophage SAP-26 and its anti-biofilm activity with rifampicin. *Biofouling* 2011; 27(10):1087-93. doi: 10.1080/08927014.2011.631169.
21. Himmelweit F. Combined action of penicillin and bacteriophage on staphylococci. *The Lancet* 1945;246(6361):104-5.
22. Kutateladze M, Adamia R. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends Biotechnol* 2010;28(12):591-5. doi: 10.1016/j.tibtech.2010.08.001.
23. Comeau AM, Tetart F, Trojet SN, Prere MF, Krisch HM. La « synergie phages-antibiotiques » : un enjeu pour la phagothérapie. *Médecine/Sciences* 2008;24(5):449-51. doi: 00/00/0C/5F/ [pii].
24. Bedi M, Verma V, Chhibber S. Amoxicillin and specific bacteriophage can be used together for eradication of biofilm of *Klebsiella pneumoniae* B5055 *World J Microbiol Biotechnol* 2009;25(7):1145-51. doi: 10.1007/s11274-009-9991-8.



25. Knezevic P, Curcin S, Aleksic V, Petrusic M, Vlaski L. Phage-antibiotic synergism: a possible approach to combatting *Pseudomonas aeruginosa*. *Research in microbiology* 2013;164(1):55-60. doi: 10.1016/j.resmic.2012.08.008.
26. Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Donoghue AM. Therapeutic efficacy of bacteriophage and Baytril (enrofloxacin) individually and in combination to treat colibacillosis in broilers. *Poultry Science* 2004;83(12):1944-7.
27. Schuch R, Lee HM, Schneider BC, Sauve KL, Law C, Khan BK, et al. Combination Therapy with Lysin CF-301 and Antibiotic is Superior to Antibiotic Alone for Treating MRSA-Induced Murine Bacteremia. *J Infect Dis* 2014. doi: 10.1093/infdis/jit637.
28. Kirby AE. Synergistic Action of Gentamicin and Bacteriophage in a Continuous Culture Population of *Staphylococcus aureus*. *PLoS One* 2012; 7(11):e51017. doi:10.1371/journal.pone.0051017.
29. Chhibber S, Kaur T, Sandeep K. Co-Therapy Using Lytic Bacteriophage and Linezolid: Effective Treatment in Eliminating Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Diabetic Foot Infections. *PLoS One* 2013;8(2):e56022. doi: 10.1371/journal.pone.0056022.
30. Vouillamoz J, Entenza JM, Giddey M, Fischetti VA, Moreillon P, Resch G. Bactericidal synergism between daptomycin and the phage lysin Cpl-1 in a mouse model of pneumococcal bacteraemia. *Int J Antimicrob Agents* 2013;42(5):416-21. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2013.06.020.
31. Loc Carrillo C, Abedon ST. Pros and Cons of Phage Therapy. *Bacteriophage* 2011;1(2):111-4. doi: 10.4161/bact.1.2.14590.
32. Bruynoghe R, Maisin J. Essais de thérapeutique au moyen du bactériophage. *C R Seances Soc Biol Fil* 1922;85:1120-1.
33. Chanishvili N. A literature review of the practical application of bacteriophage research 2011, New York: Nova Science Publishers.
34. Vieu J-F, Guillermet F, Minck R, Nicolle P. Données actuelles sur les applications thérapeutiques des bactériophages. *Bull Acad Natl Med* 1979;1(163):61-6.
35. McCallin S, Alam Sarker S, Barretto C, Sultana S, Berger B, Huq S, et al. Safety analysis of a Russian phage cocktail: From MetaGenomic analysis to oral application in healthy human subjects. *Virology* 2013;443(2):187-96. doi: 10.1016/j.virol.2013.05.022.
36. Sarker SA, McCallin S, Barretto C, Berger B, Pittet AC, Sultana S, et al. Oral T4-like phage cocktail application to healthy adult volunteers from Bangladesh. *Virology* 2012;434(2):222-32. doi: 10.1016/j.virol.2012.09.002.
37. Norman. Kingdom-Agnostic Metagenomics and the Importance of Complete Characterization of Enteric Microbial Communities. *Gastroenterology* 2014;146:1459-69.
38. Dalmaso M, Hill C, Ross RP. Exploiting gut bacteriophages for human health. *Trends Microbiol* 2014;22(7):399-405. doi: 10.1016/j.tim.2014.02.010.
39. Modi SR, Lee HH, Spina CS, Collins JJ. Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome. *Nature* 2013;499(7457):219-22. doi: 10.1038/nature12212.
40. Maltz MA, Bomar L, Lapierre P, Morrison HG, McClure EA, Sogin ML, et al. Metagenomic Analysis of the Medicinal Leech Gut Microbiota. *Front Microbiol* 2014. 5:151. doi: 10.3389/fmicb.2014.00151
41. Maura D, Debarbieux L. On the interactions between virulent bacteriophages and bacteria in the gut. *Bacteriophage* 2012;2(4): 229-33.
42. Meader E, Mayer M, Steverding D, Carding SR, Narbad A. Evaluation of bacteriophage therapy to control *Clostridium difficile* and toxin production in an in vitro human colon model system. *Anaerobe*, 2013. 22: 25-30. doi: 10.1016/j.anaerobe.2013.05.001.
43. Zucca M, Scutera S, Savoia D. Novel avenues for *Clostridium difficile* infection drug discovery. *Expert Opin Drug Discov* 2013;8(4):459-77. doi: 10.1517/17460441.2013.770466.
44. Faruque S. Role of Phages in the Epidemiology of Cholera, in *Cholera Outbreaks*, GB Nair and Y Takeda, Editors. 2014, Springer Berlin Heidelberg. p. 165-180.
45. Jaiswal A, Koley H, Ghosh A, Palit A, Sarkar B. Efficacy of cocktail phage therapy in treating *Vibrio cholerae* infection in rabbit model. *Microbes Infect*, 2013;15(2):152-6. doi: 10.1016/j.micinf.2012.11.002.
46. Maina AN, Mwaura FB, Oyugi J, Goulding D, Toribio AL, Kariuki S. Characterization of *Vibrio cholerae* Bacteriophages Isolated from the Environmental Waters of the Lake Victoria Region of Kenya. *Curr Microbiol* 2014;68(1): 64-70. doi: 10.1007/s00284-013-0447-x.
47. Lehours P, Vale FF, Bjursell MK, Melefors O, Advani R, Glavas S, et al. Genome sequencing reveals a phage in *Helicobacter pylori*. *MBio* 2011;2(6): e00239-11. doi: 10.1128/mBio.00239-11.
48. Uchiyama J, Takeuchi H, Kato S, Gamoh K, Takemura-Uchiyama I, Ujihara T, et al. Characterization of *Helicobacter pylori* bacteriophage KHP30. *Appl Environ Microbiol* 2013;79(10):3176-84. doi: 10.1128/AEM.03530-12.
49. Zou Q-H, Wei W. Phage Therapy: Promising For *H.pylori* Infection. *Clin Microbiol* 2013;2(4).
50. Merabishvili M, De Vos D, Verbeken G, Kropinski AM, Vandenheuvel D, Lavigne R, et al. Selection and Characterization of a Candidate Therapeutic Bacteriophage That Lyses the *Escherichia coli* O104:H4 Strain from the 2011 Outbreak in Germany. *PLoS One* 2012;7(12): e52709. doi: 10.1371/journal.pone.0052709.
51. Wagner J, Maksimovic J, Farries G, Sim WH, Bishop RF, Cameron DJ, et al. Bacteriophages in Gut Samples From Pediatric Crohn's Disease Patients: Metagenomic Analysis Using 454 Pyrosequencing. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19(8):1598-608. doi: 10.1097/MIB.0b013e318292477c.
52. Vandenheuvel D, Singh A, Vandersteegen K, Klumpp J, Lavigne R, Van den Mooter G. Feasibility of spray drying bacteriophages into respirable powders to combat pulmonary bacterial infections. *Eur J Pharm Biopharm* 2013;84(3):578-82. doi: 10.1016/j.ejpb.2012.12.022.
53. Brussow H. *Pseudomonas* biofilms, cystic fibrosis, and phage: a silver lining? *MBio* 2012;3(2): e00061-12. doi: 10.1128/mBio.00061-12.
54. Henry M, Lavigne R, Debarbieux L. Predicting in vivo efficacy of therapeutic bacteriophages used to treat pulmonary infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57(12):5961-8. doi: 10.1128/AAC.01596-13.
55. Debarbieux L, Leduc D, Maura D, Morello E, Criscuolo A, Grossi O, et al. Bacteriophages can treat and prevent *Pseudomonas aeruginosa* lung infections. *JID* 2010;201:1096-104.



56. Grammatico-Guillon L, Baron S, Gettner S, Lecuyer A-I, Gaborit C, Rosset P, et al. Surveillance hospitalière des infections ostéo-articulaires en France : analyse des données médico-administratives, PMSI 2008. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* 2013;(4-5):39-44.
57. Seth AK, Geringer MR, Nguyen KT, Agnew SP, Dumanian Z, Galiano RD, et al. Bacteriophage therapy for *Staphylococcus aureus* biofilm-infected wounds: a new approach to chronic wound care. *Plast Reconstr Surg* 2013;131(2):225-34. doi: 10.1097/PRS.0b013e31827e47cd.
58. Chen C, Chen Y, Wu P, Chen B. Update on new medicinal application of gentamicin: Evidence-based review. *J Formos Med Assoc* 2014;113(2):72-82. doi: 10.1016/j.jfma.2013.10.002.
59. Plaut RD, Mocca CP, Prabhakara R, Merkel TJ, Stibitz S. Stably luminescent *Staphylococcus aureus* clinical strains for use in bioluminescent imaging. *PLoS One* 2013;8(3): e59232. doi: 10.1371/journal.pone.0059232.
60. Kaur S, Harjai K, Chhibber S. Bacteriophage Mediated Killing of *Staphylococcus aureus* In Vitro on Orthopaedic K Wires in Presence of Linezolid Prevents Implant Colonization. *PLoS One* 2014;9(3): e90411. doi: 10.1371/journal.pone.0090411.
61. Yilmaz C, Colak M, Yilmaz BC, Ersoz G, Kutateladze M, Gozlugol M. Bacteriophage therapy in implant-related infections: an experimental study. *J Bone Joint Surg Am* 2013;95(2):117-25. doi: 10.2106/JBJS.K.01135.
62. Mendes JJ, Leandro C, Corte-Real S, Barbosa R, Cavaco-Silva P, Melo-Cristino J, et al. Wound healing potential of topical bacteriophage therapy on diabetic cutaneous wounds. *Wound Repair Regen*, 2013;21(4):595-603. doi: 10.1111/wrr.12056.
63. Mendes JJ, Leandro C, Mottola C, Barbosa R, Silva FA, Oliveira M, et al. In vitro design of a novel lytic bacteriophage cocktail with therapeutic potential against organisms causing diabetic foot infections. *J Med Microbiol* 2014;63(Pt 8):1055-65. doi: 10.1099/jmm.0.071753-0.
64. Hawkins C, Harper D, Burch D, Anggard E, Soothill J. Topical treatment of *Pseudomonas aeruginosa* otitis of dogs with a bacteriophage mixture: A before/after clinical trial. *Vet Microbiol* 2010;146(3-4):309-13. doi:10.1016/j.vetmic.2010.05.014.
65. Drilling A, Morales S, Jardeleza C, Vreugde S, Speck P, Wormald PJ. Bacteriophage reduces biofilm of *Staphylococcus aureus* ex vivo isolates from chronic rhinosinusitis patients. *Am J Rhinol Allergy* 2014;28(1):3-11. doi: 10.2500/ajra.2014.28.4001.
66. Ly M, Abeles SR, Boehm TK, Robles-Sikisaka R, Naidu M, Santiago-Rodriguez T, et al. Altered oral viral ecology in association with periodontal disease. *MBio* 2014;5(3):e01133-14. doi: 10.1128/mBio.01133-14.
67. Al-Jarbou AN. Genomic library screening for viruses from the human dental plaque revealed pathogen-specific lytic phage sequences. *Curr Microbiol* 2012;64(1):1-6. doi: 10.1007/s00284-011-0025-z.
68. Fukuda K, Ishida W, Uchiyama J, Rashel M, Kato S, Morita T, et al. *Pseudomonas aeruginosa* Keratitis in Mice: Effects of Topical Bacteriophage KPP12 Administration. *PLoS One* 2012;7(10): e47742. doi: 10.1371/journal.pone.0047742.
69. Górski A, Targonska M, Borysowski J, Weber-Dabrowska B. The potential of phage therapy in bacterial infections of the eye. *Ophthalmologica* 2009;223(3):162-5. doi: 10.1159/000193293.
70. Hannigan GD, Grice EA. Microbial ecology of the skin in the era of metagenomics and molecular microbiology. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013;3(12): a015362. doi: 10.1101/cshperspect.a015362.
71. Schommer NN, Gallo RL. Structure and function of the human skin microbiome. *Trends Microbiol*, 2013;21(12):660-8. doi: 10.1016/j.tim.2013.10.001.
72. Vieira A, Silva YJ, Cunha A, Gomes NC, Ackermann HW, Almeida A. Phage therapy to control multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* skin infections: in vitro and ex vivo experiments. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31(11):3241-9. doi: 10.1007/s10096-012-1691-x.
73. Marinelli LJ, Fitz-Gibbon S, Hayes C, Bowman C, Inkeles M, Loncaric A, et al. *Propionibacterium acnes* bacteriophages display limited genetic diversity and broad killing activity against bacterial skin isolates. *MBio* 2012;3(5): e00279-12. doi: 10.1128/mBio.00279-12.
74. Hoff-Lenczewska D, Kawecki M, Glik J, Klama-Baryla A, Nowak M. The potential of bacteriophages in the treatment of burn wounds. *Pol Przegl Chir* 2013;85(10):615-8. doi: 10.2478/pjs-2013-0092.
75. Mihu MR, Martinez LR. Novel therapies for treatment of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* skin infections. *Virulence* 2011;2(2):97-102.
76. Liao KS, Lehman SM, Tweardy DJ, Donlan RM, Trautner BW. Bacteriophages are synergistic with bacterial interference for the prevention of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation on urinary catheters. *J Appl Microbiol* 2012;113(6):1530-9. doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05432.x.
77. Chibeu A, Lingohr EJ, Masson L, Manges A, Harel J, Ackermann HW, et al. Bacteriophages with the ability to degrade uropathogenic *Escherichia coli* biofilms. *Viruses*, 2012. 4(4): 471-87. doi: 10.3390/v4040471.
78. Letkiewicz S, Miedzybrodzki R, Fortuna W, Weber-Dabrowska B, Gorski A. Eradication of *Enterococcus faecalis* by phage therapy in chronic bacterial prostatitis--case report. *Folia Microbiologica*, 2009;54(5):457-61. doi: 10.1007/s12223-009-0064-z.
79. Letkiewicz S, Miedzybrodzki R, Klak M, Jonczyk E, Weber-Dabrowska B, Gorski A. The perspectives of the application of phage therapy in chronic bacterial prostatitis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2010;60(2):99-112. doi: 10.1111/j.1574-695X.2010.00723.x.
80. Khawaldeh A, Morales S, Dillon B, Alavidze Z, Ginn AN, Thomas L, et al. Bacteriophage therapy for refractory *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infection. *J Med Microbiol* 2011;60(11):1697-700. doi: 10.1099/jmm.0.029744-0.
81. Matos RC, Lapaque N, Rigottier-Gois L, Debarbieux L, Meylheuc T, Gonzalez-Zorn B, et al. *Enterococcus faecalis* prophage dynamics and contributions to pathogenic traits. *PLoS Genet* 2013;9(6): e1003539. doi: 10.1371/journal.pgen.1003539.
82. Hatfull GF, Science Education Alliance Phage Hunters Advancing G, Evolutionary Science P, KwaZulu-Natal Research Institute for T, Course HIVMG, University of California-Los Angeles Research Immersion Laboratory in V, et al. Complete Genome Sequences of 63 Mycobacteriophages. *Genome Announc* 2013;1(6). doi: 10.1128/genomeA.00847-13.



83. Trigo G, Martins TG, Fraga AG, Longatto-Filho A, Castro AG, Azeredo J, et al. Phage Therapy Is Effective against Infection by *Mycobacterium ulcerans* in a Murine Footpad Model. *PLoS Negl Trop Dis* 2013;7(4): e2183. doi: 10.1371/journal.pntd.0002183.
84. Basra S, Anany H, Brovko L, Kropinski AM, Griffiths MW. Isolation and characterization of a novel bacteriophage against *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis. *Arch Virol* 2014;159(10):2659-74. doi: 10.1007/s00705-014-2122-3.
85. Pirnay JP, De Vos D, Verbeken G, Merabishvili M, Vaneechoutte M, Zizi M, et al. The Phage Therapy Paradigm: « Prêt à Porter » or « Sur-mesure »? *Pharmaceutical Research* 2011;28(4):934-7.
86. Skurnik M, Pajunen M, Kiljunen S. Biotechnological challenges of phage therapy. *Biotechnol Lett* 2007;29(7):995-1003. doi: 10.1007/s10529-007-9346-1.
87. Chan BK, Abedon ST. Phage therapy pharmacology phage cocktails. *Adv Appl Microbiol* 2012;78:1-23. doi: 10.1016/B978-0-12-394805-2.00001-4.
88. Abedon S. Phage therapy pharmacology: calculating phage dosing. *Adv Appl Microbiol* 2011; 77:1-40. doi: 10.1016/B978-0-12-387044-5.00001-7.
89. Abedon ST, Thomas-Abedon C. Phage Therapy Pharmacology. *Curr Pharm Biotechnol* 2010;11(1):28-47.
90. Chaturongakul S, Ounjai P. Phage-host interplay: examples from tailed phages and Gram-negative bacterial pathogens. *Front Microbiol* 2014;5:442. doi: 10.3389/fmicb.2014.00442.
91. Brussow H. What is needed for phage therapy to become a reality in Western medicine? *Virology* 2012;434(2):138-42. doi: 10.1016/j.virol.2012.09.015.

Liens d'intérêt : aucun