



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie

**Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et
À l'Environnement « LAMAABE »**

**Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Option : Microbiologie Fondamentale**

Etude de l'activité antibactérienne de certains phages sur les bactéries multirésistantes

Présenté par : GHLIS Fatima Zohra

GHEMADI Douaa

Soutenu le : **24 / 06 / 2026**, devant le jury composé de :

MEZIANI Zahera	Docteur	Présidente	Université de Tlemcen
RAHMOUN Malika	Docteur	Examinatrice	Université de Tlemcen
REBIAHI Sid Ahmed	Professeur	Encadrant	Université de Tlemcen

2025-2026

Remerciements

Nos premiers remerciements s'adressent à Dieu le Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la patience et le courage nécessaires pour mener à bien l'élaboration de ce mémoire.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadrant, Professeur Rebiahi Sid Ahmed, pour avoir accepté d'encadrer ce travail. Nous le remercions sincèrement pour sa disponibilité, ses conseils pertinents, sa rigueur scientifique ainsi que pour le temps et les efforts qu'il nous a consacrés tout au long de ce projet. Ce travail témoigne de sa confiance, de son soutien constant et de son accompagnement précieux. Nous lui exprimons ici notre profond respect et notre reconnaissance.

Nos remerciements s'adressent également à la présidente du jury, Docteur Meziani Zahera , pour avoir accepté de présider les travaux de soutenance.

Nous remercions aussi l'examinatrice, Docteur Rahmoun Malika, pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'évaluer, ainsi que pour ses remarques constructives et ses suggestions pertinentes qui ont contribué à enrichir ce mémoire.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à Monsieur Belyagoubi Larbi, pour son aide et son soutien tout au long de ce travail.

Nous adressons également nos sincères remerciements à l'ensemble des membres du laboratoire de recherche LAMAABE, pour leur accueil, leur disponibilité et leur aide précieuse tout au long de la réalisation de ce travail.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers **Allah**, le Tout-Puissant, pour m'avoir accordé la santé, la patience, la persévérance et le savoir nécessaires à l'accomplissement de ce mémoire. Sans Sa volonté et Sa bénédiction, ce travail n'aurait pu voir le jour.*

***À mes parents**, piliers de ma vie, dont l'amour inconditionnel, les sacrifices et le soutien indéfectible m'ont toujours portée et guidée. Vous avez été ma force dans les moments difficiles, mon refuge dans les instants de doute et la source de ma détermination. Que Dieu vous protège et vous récompense pour tout ce que vous avez accompli pour moi.*

***À ma sœur**, Sihem, pour ton affection, ton soutien constant et les précieux moments que nous partageons. Merci d'avoir toujours cru en moi et d'avoir été présente à chaque étape de mon parcours.*

***À mes frères**, pour votre présence et votre soutien tout au long de cette aventure.*

***À ma nièce**, Sirine, cette petite étoile qui illumine ma vie par son sourire et son innocence. Que ton avenir soit rempli de bonheur, de réussite et de belles réalisations.*

***À mon binôme**, Fatima Zohra, partenaire exceptionnelle avec qui j'ai partagé cette belle aventure académique. Grâce à notre collaboration, notre persévérance et notre engagement, nous avons surmonté les défis et mené ce travail à son terme. Je te remercie pour ton sérieux, ta patience et ton implication.*

Je dédie ce travail avec respect, gratitude et affection à tous ceux qui ont contribué à ma réussite et marqué mon parcours de vie.

Douaa

Dédicaces

*Tout d'abord, je tiens à remercier **ALLAH**, le Tout-Puissant et le Miséricordieux, de m'avoir accordé le courage, la force, la patience et surtout la santé nécessaire à l'accomplissement de ce travail.*

*Je dédie ce mémoire à **mes chers parents**, qui ont toujours été ma plus grande source de soutien, d'amour et d'inspiration. Quels que soient les mots que j'emploie, ils ne sauraient exprimer toute ma gratitude envers vous. Votre affection, votre bienveillance et vos sacrifices ont fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Que Dieu vous protège et vous accorde une longue vie remplie de bonheur.*

*À **mon frère et à ma sœur**, pour votre soutien indéfectible tout au long de cette aventure. Merci pour votre présence réconfortante, vos encouragements constants et votre amour inconditionnel qui m'ont donné la force d'avancer dans les moments les plus difficiles.*

*À **mon binôme, Douaa**, pour ton sérieux, ta patience, ton implication et ton esprit de collaboration. Ce mémoire est le fruit de nos efforts conjoints, de notre persévérance et de notre détermination. Merci d'avoir partagé cette expérience enrichissante à mes côtés et d'avoir contribué à rendre ce parcours plus agréable et plus mémorable.*

Je dédie ce travail avec amour, respect et gratitude à tous ceux qui ont marqué mon parcours et contribué à ma réussite.

Fatima Zohra

ملخص

يُعدُّ تزايد انتشار البكتيريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية وتراجع فعالية العلاجات المتاحة أحد أبرز التحديات التي تواجه الصحة العمومية في الوقت الراهن. وفي هذا السياق، تبرز العاثيات البكتيرية (البكتيريوفاجات) كخيار علاجي واعد بفضل قدرتها على إصابة البكتيريا واستهدافها بشكل نوعي. هدفت هذه الدراسة إلى عزل عاثيات بكتيرية من عينات بيئية وتقييم نشاطها المضاد للبكتيريا تجاه سلالات بكتيرية متعددة المقاومة للمضادات الحيوية.

تم عزل العاثيات باستخدام تقنية الطبقة المزدوجة من الأغار، كما تم تقييم نشاطها المضاد للبكتيريا بواسطة اختبار الحساسية للعاثيات. وقد أظهرت النتائج وجود عاثيات حائلة للبكتيريا ذات نشاط ضد سلالات الإشريكية القولونية، والكليسيلا الرئوية، والبروتيتوس ميرابيليس، في حين لم يُسجَل أي نشاط تجاه السلالات الأخرى المختبرة. وعلى الرغم من أن اختبار الفاغوغرام لم يُظهر مناطق تحلل واضحة، فإن تقنية الطبقة المزدوجة من الأغار أكدت وجود عاثيات نشطة.

تُبرز هذه النتائج الإمكانيات الواعدة للعاثيات البكتيرية كعوامل مضادة للبكتيريا، وتفتح آفاقاً مستقبلية لتطوير مقاربات علاجية مبتكرة يمكن أن تُسهم في استكمال أو تعزيز الاستراتيجيات الحالية لمكافحة العدوى الناجمة عن البكتيريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية، العاثيات البكتيرية، العلاج بالعاثيات، النشاط الحالّ للبكتيريا.

Abstract

The increasing prevalence of multidrug-resistant (MDR) bacteria and the declining effectiveness of antibiotics represent a major public health challenge. In this context, bacteriophages have emerged as a promising alternative due to their ability to specifically infect bacterial hosts. The aim of this study was to isolate bacteriophages from environmental samples and evaluate their antibacterial activity against multidrug-resistant bacterial strains.

Phage isolation was performed using the double-layer agar technique, and phage activity was assessed by phagogram analysis. The results revealed the presence of lytic bacteriophages active against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis*, whereas no activity was observed against the other tested strains. Although the phagogram did not reveal visible lysis zones, the double-layer agar method confirmed the presence of active phages.

These findings highlight the potential of bacteriophages as antibacterial agents and provide promising prospects for the future development of innovative therapeutic approaches aimed at complementing and strengthening current strategies for combating infections caused by multidrug-resistant bacteria.

Keywords: multidrug-resistant bacteria; bacteriophages; phage therapy; lytic activity.

Résumé

L'augmentation des bactéries multirésistantes (BMR) et la diminution de l'efficacité des antibiotiques constituent un défi majeur pour la santé publique. Dans ce contexte, les bactériophages apparaissent comme une alternative prometteuse grâce à leur capacité à infecter spécifiquement les bactéries. Ce travail avait pour objectif d'isoler des bactériophages à partir d'échantillons environnementaux et d'évaluer leur activité antibactérienne contre des souches bactériennes multirésistantes.

L'isolement phagique a été réalisé par la technique de double couche agar et l'activité des phages a été évaluée par phagogramme. Les résultats ont révélé la présence de bactériophages lytiques actifs contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis*, tandis qu'aucune activité n'a été observée contre les autres souches testées. Bien que le phagogramme n'ait montré aucune zone de lyse, la méthode de la double couche a confirmé la présence de phages actifs.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel des bactériophages comme agents antibactériens et ouvrent des perspectives intéressantes pour le développement futur d'approches thérapeutiques innovantes visant à compléter ou à renforcer les stratégies actuelles de lutte contre les infections causées par les bactéries multirésistantes.

Mots-clés : Bactéries multirésistantes, bactériophages, phagothérapie, activité lytique.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

ملخص

Abstract

Résumé

Liste d'abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
Recherche bibliographique	4
Chapitre 01 Les bactériophages	5
1. Définition structurée des bactériophages	6
2. Historique.....	6
3. Morphologie et structure des bactériophages.....	6
4. Classification des bactériophages.....	8
5. CYCLES DE VIE DES PHAGES.....	11
5.1. Cycle lytique.....	11
5.2. Cycle lysogénique.....	12
5.3. Cycle pseudolysogénique	13
5.4. Cycle chronique	13
6. Abondance, habitats et rôle écologique des bactériophages	13
Chapitre 2 : Les bactéries multirésistantes	14
1. Définition des bactéries multirésistantes	15
2. Types de résistances.....	15
2.1. Résistance naturelle	15
2.2. Résistance acquise	15

3.	Mécanismes de Résistance aux Antibiotiques.....	16
3.1.	Inactivation enzymatique des antibiotiques	16
3.2.	Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique.....	17
3.3.	La Diminution de la Perméabilité Membranaire	17
3.4.	Pompes d'efflux	17
4.	Les pathogènes prioritaires multirésistants	19
5.	Les biofilms et la résistance aux antibiotiques.....	20
6.	Les Stratégies de Lutte contre l'antibiorésistance.....	21
6.1.	Usage Raisonné des Antimicrobiens.....	21
6.2.	Surveillance de la résistance aux antibiotiques	21
6.3.	L'Approche "Une seule santé" (One Health)	22
6.4.	La phagothérapie face au défi de l'antibiorésistance	22
	Chapitre 3 La phagothérapie.....	23
1.	Définition de la phagothérapie	24
2.	Origine de la phagothérapie	24
3.	Principe d'utilisation de la phagothérapie	24
4.	Les bactériophages face aux bactéries multirésistantes (BMR).....	25
4.1.	Spécificité d'hôte et sélection des phages	25
4.2.	Phages virulents et phages tempérés.....	25
4.3.	Cocktails de phages	26
4.4.	Combinaison phagothérapie et CRISPR-Cas	26
4.5.	Action sur le biofilm	27
4.6.	Synergie phage antibiotique	28
5.	Efficacité et succès dans le monde	29
6.	Domaines d'application des bactériophages.....	30
6.1.	Médecine humaine.....	30
6.2.	Agriculture.....	30

6.3.	Agroalimentaire	31
6.4.	Médecine vétérinaire.....	31
6.5.	Biotechnologie et recherche scientifique	31
7.	Limites de la phagothérapie	31
8.	Utilisation de la métagénomique et l'intelligence artificielle	32
8.1.	Rôle de la métagénomique en phagothérapie	32
8.2.	Intelligence artificielle et métagénomique dans la phagothérapie.....	33
8.3.	Principaux outils utilisés en métagénomique et en IA.....	33
	Matériel et méthodes	34
1.	Matériel.....	35
1.1.	Matériel biologique.....	35
1.2.	Matériels non biologiques	35
1.3.	Milieux de cultures	35
2.	Repiquage et purification bactériennes.....	36
2.1.	Revivification et enrichissement	36
2.2.	Isolement sur milieux sélectifs	37
3.	Coloration de Gram	38
4.	Prélèvement des échantillons et site de collecte.....	39
5.	Prétraitement des échantillons.....	41
6.	Mise en culture et détection des phages	43
7.	Phagogramme par diffusion sur disque	44
8.	Préparation du lysat à partir des plages de lyse.....	45
9.	Conservation des bactériophages	46
	Résultats et discussion.....	47
1.	Caractérisation phénotypique des souches bactériennes étudiées.....	48
2.	Résultats de double couche agar	51
	Conclusion	62

Références bibliographiques.....	62
Annexes	62

Liste d'abréviations

ABC	ATP-Binding Cassette
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARN	Acide Ribonucléique
ASM	American Society for Microbiology
BHIB	Brain Heart Infusion Broth
BLSE	β -Lactamases à Spectre Étendu
BMR	Bactéries Multirésistantes
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
IA	Intelligence Artificielle
KPC	Klebsiella pneumoniae Carbapenemase
LB	Luria-Bertani (ou Luria Broth)
LMAABE	Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement
MATE	Multidrug And Toxic Compound Extrusion
MDR	Multidrug-Resistant
MFS	Major Facilitator Superfamily
MH	Mueller-Hinton
NDM-1	New Delhi Metallo- β -Lactamase-1
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PAS	Phage-Antibiotic Synergy (Synergie Phage-Antibiotique)
PBP2a	Penicillin-Binding Protein 2a
PCR	Polymerase Chain Reaction
PHASTER	Phage Search Tool Enhanced Release
RND	Resistance-Nodulation-Division
SARM	Staphylococcus aureus Résistant à la Méthicilline
SM	Solution de Maintien (Tampon SM)

SMR	Small Multidrug Resistance
STAMP	Standardized Treatment and Monitoring Protocol
Tris-HCl	Tris(hydroxyméthyl)aminométhane Hydrochloride
VIBRANT	Virus Identification By iteRative ANnoTation
VREfm	Vancomycin-Resistant Enterococcus faecium

Liste des figures

Figure 1 : structure de bactériophages.....	7
Figure 2 : Principales familles de bactériophage.	9
Figure 3 : Cycle lytique et cycle lysogénique d'un bactériophage.	12
Figure 4 : Mécanismes d'acquisition de la résistance au sein des bactéries.	16
Figure 5 : Cibles bactériennes et mécanisme de résistance aux antibiotiques	18
Figure 6 : Protocole d'ingénierie génétique des bactériophages via le système CRISPR-Cas9.	27
Figure 7 : Le phénomène de « synergie phages-antibiotiques » (PAS) dans l'environnement (A) et en phagothérapie (B).	28
Figure 8 : Étape d'ensemencement pour la revivification des souches	37
Figure 9:Ensemencement par épuisement sur gélose	37
Figure 10 : Système de filtration par une pompe à vide.....	41
Figure 11 : Ensemencement par écouvillonnage pour le phagogramme.....	45
Figure 12 : Plages de lyse observées par la méthode de double couche d'agar.....	54
Figure 13 : Absence de plages de lyse observée par la méthode de double couche d'agar pour les échantillons environnementaux négatifs.	56
Figure 14 : Résultats du phagogramme sur tapis bactérien de Escherichia coli et Pseudomonas aeruginosa après 24h d'incubation à 37°C.....	59
Figure 15 : Résultat de la préparation des lysats phagiques	61
Figure 16 : Conservation des lysats phagiques dans les micro-tubes stériles.	61

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des bactériophages basée sur la taxonomie de l'ICTV,.....	10
Tableau 2: Milieux de culture utilisés pour l'isolement et la culture des souches bactériennes	36
Tableau 3 : Origine, sites et dates de collecte des échantillons	39
Tableau 4 : Méthodes de traitement des échantillons d'eau usée et de sol utilisées pour la récupération des bactériophages.	42
Tableau 5 : Résultats de l'observation macroscopique et microscopique des souches bactériennes étudiées.....	48
Tableau 6 : Activité phagique des échantillons environnementaux selon l'origine du milieu et les souches bactériennes testées.....	52

Introduction

L'antibiorésistance constitue aujourd'hui l'une des plus grandes menaces pour la santé publique mondiale. L'émergence et la dissémination de bactéries multirésistantes (BMR) compromettent l'efficacité des antibiotiques, longtemps considérés comme la pierre angulaire du traitement des infections bactériennes. Cette situation est particulièrement préoccupante dans les établissements de santé, où les infections nosocomiales causées par des bactéries telles qu'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ou encore *Staphylococcus aureus* sont de plus en plus difficiles à traiter en raison de leur résistance à plusieurs familles d'antibiotiques (OMS, 2024). L'augmentation continue de ces résistances réduit les options thérapeutiques disponibles, entraîne une inefficacité croissante des traitements et contribue à l'augmentation de la morbidité, et la mortalité (Murray et *al.*, 2022; Ho et *al.*, 2025).

Face à ce problème de santé mondiale, la recherche de solutions alternatives ou complémentaires aux antibiotiques est devenue une nécessité. Parmi les approches les plus prometteuses figurent les bactériophages, ou phages, des virus capables d'infecter spécifiquement les bactéries. Découverts au début du XXe siècle, les bactériophages sont considérés comme les entités biologiques les plus abondantes de la biosphère (Clokier et *al.*, 2011). Ils sont présents dans une grande diversité d'environnements, notamment les eaux usées, les sols, les eaux naturelles, les sources thermales ainsi que le microbiote humain et animal. Grâce à leur capacité à infecter et à lyser spécifiquement certaines bactéries, les phages suscitent un intérêt croissant comme agents de biocontrôle et comme alternative potentielle dans la lutte contre les bactéries multirésistantes (Kortright et *al.*, 2019).

L'exploration des écosystèmes naturels à la recherche de nouveaux bactériophages constitue ainsi une étape essentielle pour identifier des phages capables de cibler efficacement les bactéries pathogènes résistantes. Les différents milieux environnementaux représentent des réservoirs potentiels de diversité phagique encore insuffisamment explorés et susceptibles d'abriter des phages présentant un intérêt thérapeutique.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude ; l'objectif principal de notre travail est d'isoler des bactériophages à partir de différents écosystèmes de l'Ouest algérien, notamment les eaux usées, l'eau thermale et le sol, puis d'évaluer leur activité antibactérienne vis-à-vis d'une collection de souches bactériennes cliniques multirésistantes.

Ce travail vise ainsi à contribuer à la valorisation des ressources phagiques locales et à explorer le potentiel des bactériophages environnementaux comme alternative aux antibiotiques contre des bactéries pour lesquelles les options thérapeutiques deviennent de plus en plus limitées.

Recherche bibliographique

Chapitre 01

Les bactériophages

1. Définition structurée des bactériophages

Les bactériophages (ou phages en abrégé ; du grec *phagein*, signifiant « manger » (Madiga et Martinko, 2007) représentent des virus qui infectent spécifiquement les bactéries (Koskella et Brockhurst, 2014; Ansaldi et *al.*, 2020). Ils n'ont pas la capacité d'infecter les cellules eucaryotes.

Ce terme est utilisé de manière plus générale pour désigner les virus qui infectent les Eubactéries et les Archées (Clokie et *al.*, 2011).

Ce sont des parasites obligatoires (Kutter et *al.*, 2004), comme tous les virus, Ils n'ont pas d'activité métabolique autonome et utilisent la machinerie biosynthétique de la cellule hôte qu'ils infectent pour se répliquer (Preux, 2013).

2. Historique

L'histoire des bactériophages remonte au début du vingtième siècle, période pendant laquelle l'observation de zones dépourvues de bactéries dans des cultures bactériennes a signalé la destruction de certaines d'entre elles. (En 1915), Frederick Twort observe déjà ce phénomène, mais il le considère initialement comme une réaction chimique. Plusieurs années plus tard, en 1917, Félix d'Hérelle comprend qu'il s'agit d'un agent invisible capable de détruire les bactéries et lui attribue le nom de bactériophage. Il réussit ensuite à identifier plusieurs phages actifs qui luttent contre diverses bactéries, puis conçoit rapidement leur application dans le domaine médical (Ravat et *al.*, 2015).

3. Morphologie et structure des bactériophages

Les bactériophages présentent une grande diversité de formes et de tailles, reflétant leur adaptation à différents hôtes bactériens et environnements. Malgré cette variabilité morphologique, leur organisation générale repose sur plusieurs structures spécialisées assurant la protection du matériel génétique, la reconnaissance de la cellule hôte et le transfert du génome viral lors de l'infection. Les phages à queue constituent le groupe le plus abondant et le mieux caractérisé parmi les bactériophages décrits (Sanz-Gaitero et *al.*, 2019; White et Orlova, 2020).

La Figure 1 représente un modèle permettant de mieux comprendre l'organisation d'un bactériophage.

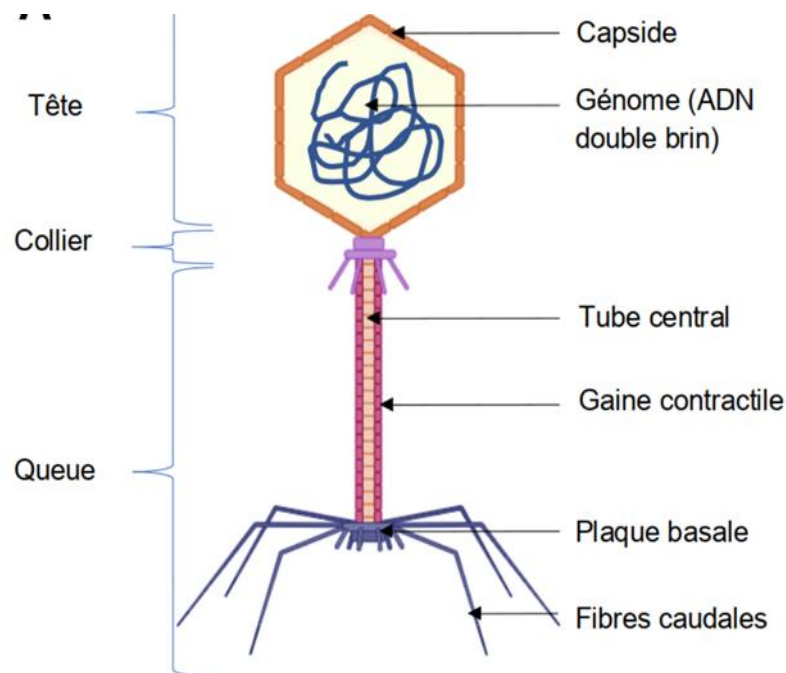


Figure 1 : structure de bactériophages (Ramette, 2021).

Le génome viral : Le matériel génétique des bactériophages peut être constitué d'ADN ou d'ARN, sous forme simple ou double brin selon le type de phage. Ce génome renferme l'ensemble des informations nécessaires à la réplication virale, à la synthèse des protéines phagiques et à la production de nouvelles particules virales au sein de la cellule hôte (Sanz-Gaitero et *al.*, 2019)

La capside : Le génome viral est contenu dans une capside protéique dont le rôle principal est d'assurer sa protection contre les agressions physiques, chimiques et enzymatiques du milieu extérieur. Chez la majorité des bactériophages, cette capside présente une symétrie icosaédrique, bien que des formes hélicoïdales ou plus complexes puissent également être observées selon les groupes phagiques(Sanz-Gaitero et *al.*, 2019; White et Orlova, 2020).

La queue : Chez les phages à queue, la capside est reliée à une structure spécialisée appelée queue, qui constitue un élément essentiel du processus infectieux. Cette structure permet la reconnaissance de la cellule hôte grâce à un appareil d'adsorption localisé à son extrémité, composé notamment de fibres caudales et de protéines de fixation. Après l'attachement à la surface bactérienne, la queue assure le transfert du génome viral vers le cytoplasme de l'hôte.

Selon les phages, elle peut être courte, longue et flexible ou encore contractile, traduisant une importante diversité structurale et fonctionnelle (Duda et Huet, 2016; White et Orlova, 2020).

Outre ces éléments fondamentaux, certains bactériophages possèdent des structures additionnelles, telles que des membranes lipidiques internes ou externes ainsi que diverses protéines complémentaires. Ces composants peuvent intervenir dans la reconnaissance de l'hôte, la stabilité de la particule virale ou l'optimisation du processus infectieux, contribuant ainsi à la diversité structurale observée au sein du monde phagique (Sanz-Gaitero et *al.*, 2019).

4. Classification des bactériophages

La classification des bactériophages s'effectue principalement via les analyses génomiques et phylogénétiques, qui offrent une meilleure fiabilité que les classifications morphologiques anciennes, grâce à leur capacité à prendre en compte la similarité et la structure des génomes viraux (Adriaenssens et Brister, 2017).

Le Comité international de taxonomie des virus (ICTV) s'appuie sur une taxonomie hiérarchique fondée sur la similitude de l'ADN, des protéines et la phylogénie, fréquemment mise à jour afin d'intégrer les nouvelles données (Turner et *al.*, 2024).

Autrefois, les bactériophages à queue étaient classés dans l'ordre des Caudovirales, qui regroupait environ 96 % des phages identifiés (Ackermann, 2003) et comprenait trois familles majeures définies par la morphologie de leur queue : les Siphoviridae ($\approx 60\%$), à queue longue et flexible ; les Myoviridae ($\approx 25\%$), à queue contractile ; et les Podoviridae ($\approx 15\%$), à queue courte (Sharp, 2001).

Cependant, cette classification a été remise en question, ces groupes ne reflétant pas fidèlement les relations évolutives réelles (Turner et *al.*, 2023). L'ICTV a donc remplacé cet ordre par la classe Caudoviricetes, fondée sur les données génomiques, au sein de laquelle de nombreuses nouvelles familles ont été créées pour mieux représenter la diversité et les relations phylogénétiques des bactériophages (Turner et *al.*, 2021).

La figure 2 présente les principaux types de bactériophages en fonction de leur organisation structurale et génomique :

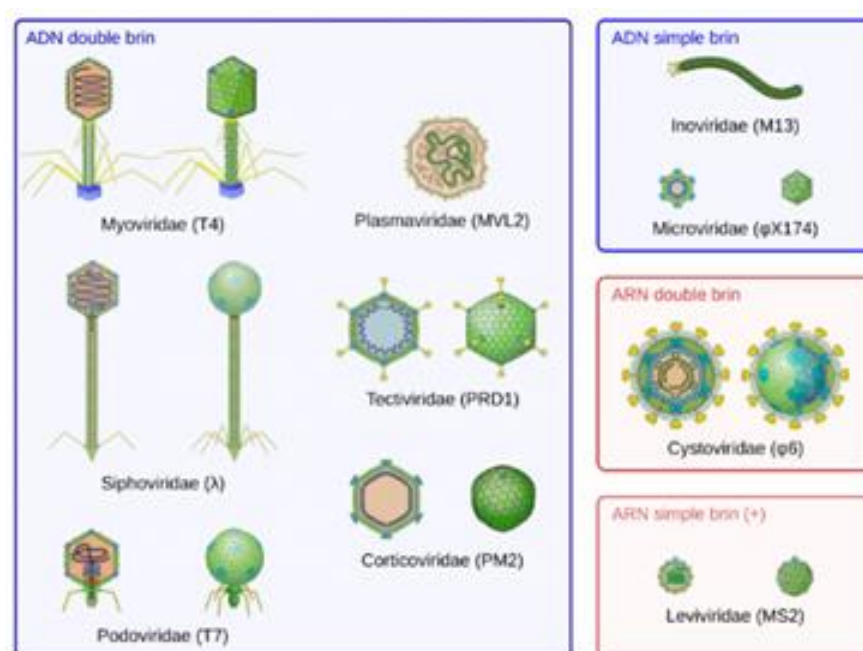
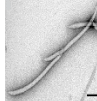
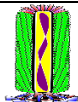
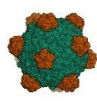
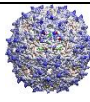


Figure 2 : Principales familles de bactériophage (Ramette, 2021).

Le Tableau 1 présente une classification des bactériophages selon la taxonomie de l'ICTV (Zhu et *al.*, 2022), en les regroupant en fonction de la nature de leur matériel génétique (ADN ou ARN, simple ou double brin), de leur ordre, de leurs familles, de leurs genres, ainsi que de leurs bactéries hôtes et de quelques exemples représentatifs de phages (Zhu et *al.*, 2022).

Tableau 1 : Classification des bactériophages basée sur la taxonomie de l'ICTV,
(Zhu et *al.*, 2022).

Ordre	Famille	Genres (nombre de genre)	Bactérie hôte	Exemple de phage	Morphologie
ADN double brin					
Caudovirales	Myoviridae	T4-like viruses (87)	<i>E. coli</i>	T4	
	Siphoviridae	P2-like viruses	<i>Entérobactéries</i>	P2	
		λ -like viruses (210)	<i>E. coli</i>	λ	
	Podoviridae	T7-like viruses (48)	<i>E. coli</i>	T7	
Ligamenvirales	Rudoviridae	Rudivirus (7)	<i>Sulfolobus</i>	Sulfolobus virus SIRV5	
	Lipothrixviridae	Lipothrixvirus (3)	<i>Thermoproteus</i>	Sulfolobus virus SIFV	
ADN simple brin					
Tubulavirales	Inoviridae	Inovirus (7)	<i>E. coli</i>	M13 phage	
Petitvirales	Microviridae	Microvirus (6)	<i>E. coli</i>	Escherichia virus phiX174	
ARN double brin					
Mindivirales	Cystoviridae	Cystovirus (1)	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonas virus phi6	
ARN simple brin					
Norzivirales	Fiersviridae	Fiersvirus (185)	<i>E. coli</i>	MS2 phage	

5. CYCLES DE VIE DES PHAGES

Les phages présentent généralement quatre cycles de vie: le cycle lytique, le cycle lysogénique, le cycle pseudolysogénique et l'infection chronique(Olszak et *al.*, 2017).

5.1. Cycle lytique

En ce qui concerne les phages virulents, ils adoptent un mode lytique (Makky et *al.*, 2021), ils ont la capacité d'infecter les cellules bactériennes et d'initier le cycle lytique. Pendant ce processus, ils se multiplient à l'intérieur de la cellule hôte, ce qui conduit finalement à la rupture cellulaire et à la libération de phages descendants. Ce processus diminue le nombre de cellules bactériennes vivantes et peut être utilisé pour cibler des bactéries pathogènes spécifiques(Ngene et Umar, 2025).

Selon Ibrahim et Aranjani (2026), ce cycle se déroule en cinq phases clés, commençant par l'adsorption jusqu'à la lyse finale de la bactérie (Figure 3).

Adsorption et reconnaissance de l'hôte : Le phage s'attache à des récepteurs spécifiques sur la surface de la bactérie (lipopolysaccharides, acides teichoïques ou pili). Cette étape assure un ciblage précis du virus.

Injection de l'ADN : Le phage utilise des structures caudales spécifiques ou des enzymes pour percer la paroi et la membrane bactériennes, injectant de ce fait son matériel génétique directement dans le cytoplasme de l'hôte.

Phase de réplication (Biosynthèse) : Le phage prend le contrôle de la machinerie cellulaire bactérienne, Il reprogramme la cellule, favorisant la production de composants viraux, dégradant fréquemment l'ADN bactérien et réorientant les ressources énergétiques.

Phase d'assemblage : Le matériel génétique nouvellement formé est emballé dans des capsides neuves. Les composants structurels restants (queues, fibres) sont assemblés pour former des particules virales entières.

Lyse cellulaire et libération : Les enzymes codées par le phage (endolysines et holines) détruisent la paroi cellulaire de l'intérieur. La cellule éclate, libérant les nouveaux virions qui vont ensuite infecter les populations bactériennes voisines (Ibrahim et Aranjani, 2026) .

5.2. Cycle lysogénique

Les phages tempérés sont caractérisés par leur capacité à adopter un cycle lysogénique (Figure 3), généralement observé chez des bactéries hôtes stables. Dans cette voie, le génome viral s'intègre dans celui de la bactérie sous forme de prophage et se transmet verticalement lors des divisions cellulaires de l'hôte ; on appelle « décision de maintien » la décision lysogénique, car les prophages subsistent après leur intégration, soit comme composantes du génome bactérien, soit sous forme de plasmide ou de gènes linéaires indépendants du génome bactérien (Les lysogènes sont capables d'incorporer leur ADN de façon aléatoire ou à des emplacements précis, connus sous le nom de « sites d'attachement », soit par le biais de la transposition, soit par la recombinaison des sites. Il est possible que certains phages ne fusionnent pas leurs gènes, mais les maintiennent en dehors, soit sous forme d'épisomes, soit sous forme de gènes linéaires qui sont exprimés en même temps que les gènes bactériens (Makky et *al.*, 2021).

La figure 3 représente les différentes étapes du cycle lytique et du cycle lysogénique chez les bactériophages :

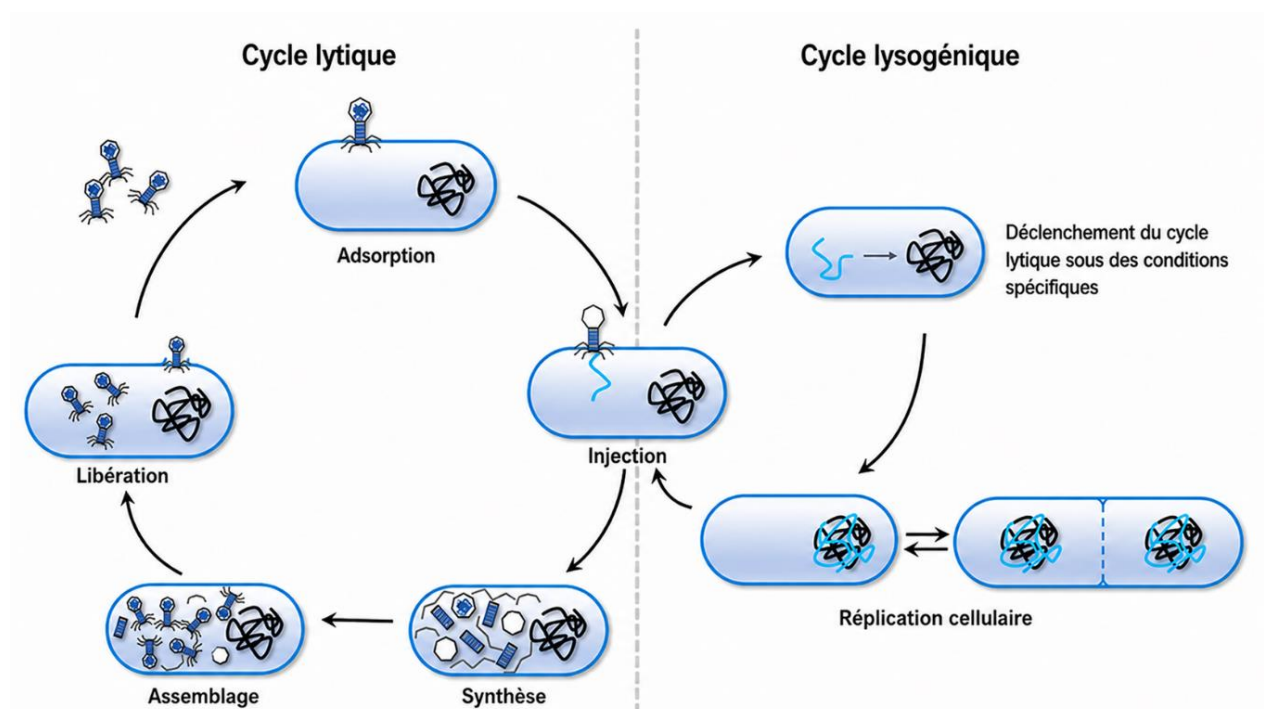


Figure 3 : Cycle lytique et cycle lysogénique d'un bactériophage (Lin et *al.*, 2022).

5.3. Cycle pseudolysogénique

La pseudolysogénie est une phase où un bactériophage reste bloqué dans la cellule hôte sans engager ni cycle lytique ni lysogénie stable, le génome viral étant maintenu intact sans dégradation. Cette situation s'associe souvent à des conditions défavorables, notamment la carence en nutriments, et se termine lorsque les conditions redeviennent favorables, entraînant soit une lysogénie, soit un cycle lytique. Malgré sa longue connaissance, son rôle a souvent été négligé, bien qu'il soit actuellement considéré comme un facteur essentiel dans les interactions phage-hôte(Łoś et Węgrzyn, 2012).

5.4. Cycle chronique

L'infection chronique représente une forme de réplication spécifique, propre aux phages filamenteux de la famille des Inoviridae, ces derniers étant des phages à ADN simple brin rangés sous l'ordre des Tubulavirales(Venturini et *al.*, 2022).

À l'inverse des cycles lytique et lysogénique, ce genre d'infection engendre une production continue de particules virales sans entraîner la lyse de la cellule bactérienne. Les phages filamenteux possèdent une grande capacité à contribuer au transfert horizontal de matériel génétique, et nombre d'entre eux contiennent des gènes liés à la virulence. Du fait de leurs propriétés biologiques, les phages filamenteux sont généralement considérés comme n'étant pas appropriés pour une application en thérapie par les phages(Venturini et *al.*, 2022).

6. Abondance, habitats et rôle écologique des bactériophages

Les bactériophages sont les entités biologiques les plus abondantes de la biosphère, avec une population mondiale estimée entre 10^{30} et 10^{32} particules, surpassant en nombre la totalité des bactéries de dix à cent fois(Ravat et *al.*, 2015).

En tant que parasites obligatoires, leur distribution suit celle de leurs hôtes bactériens sédiments marins, sols, sous-sol profond mais s'étend également aux milieux extrêmes tels que déserts et neiges vierges, ainsi qu'au tube digestif humain qui héberge plus d'une centaine de types phagiques distincts(Clokie et *al.*, 2011).

Sur le plan écologique, les phages régulent la biodiversité microbienne en assurant au moins la moitié de la mortalité bactérienne journalière, contribuant ainsi au recyclage des nutriments et au contrôle des épidémies bactériennes, comme l'illustrent les travaux de Faruque sur le choléra(Ravat et *al.*, 2015).

Chapitre 2 :

Les bactéries

multirésistantes

1. Définition des bactéries multirésistantes

Une bactérie est classée comme multirésistante lorsqu'elle a accumulé des mécanismes de résistance contre diverses familles d'antibiotiques, au point de ne rester sensible qu'à un nombre limité d'agents antimicrobiens utilisables en thérapeutique. En pratique, une bactérie est considérée multirésistante lorsqu'elle présente une résistance acquise à au moins un antibiotique appartenant à trois familles distinctes, ou plus (Magiorakos et *al.*, 2012).

2. Types de résistances

2.1. Résistance naturelle

Appelée aussi résistance intrinsèque, est définie comme la capacité naturelle et propre à certaines espèces bactériennes de résister à l'action de certains antibiotiques, indépendamment de toute exposition préalable ou acquisition de gènes de résistance (Munita et Arias, 2016).

Elle est liée à des caractéristiques structurelles ou fonctionnelles constantes de la bactérie, telles que l'absence de la cible de l'antibiotique, une faible perméabilité de la membrane externe ou la présence de systèmes d'efflux (Blair et *al.*, 2015).

Ce genre de résistance est considéré comme prévisible et exprimé uniformément par tous les membres d'une espèce bactérienne (Munita et Arias, 2016).

2.2. Résistance acquise

La résistance acquise correspond à l'apparition d'une résistance chez une souche initialement sensible, suite à des modifications génétiques, par la mutation ou l'acquisition de gènes de résistance (Figure 4). Par conséquent, elle ne s'applique qu'à certaines souches spécifiques d'une espèce bactérienne donnée (Courvalin, 1996 ; Honceriu, 2022).

La majorité des résistances bactériennes acquises est liée à l'acquisition de gènes de résistance d'autres bactéries via le transfert horizontal de gènes (Figure 4) (von Wintersdorff et *al.*, 2016).

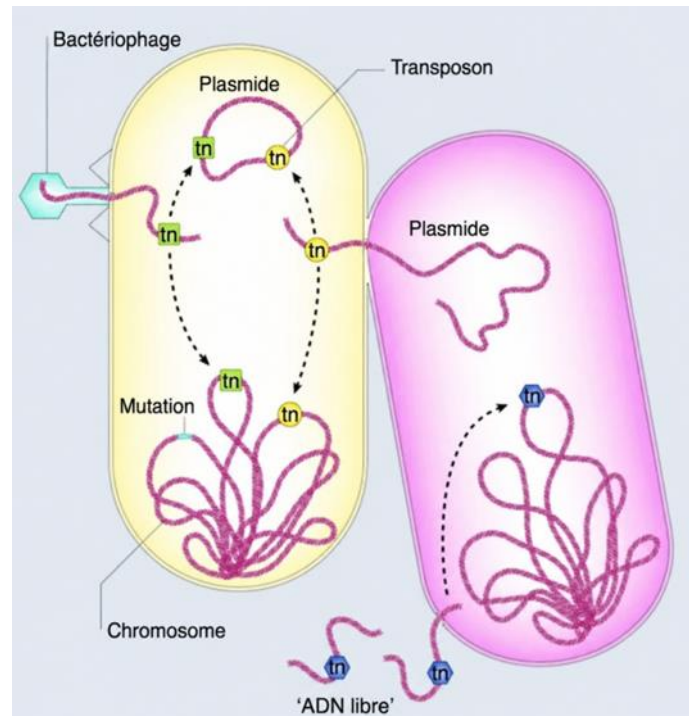


Figure 4 : Mécanismes d'acquisition de la résistance au sein des bactéries.

La transmission verticale (mutation) et la transmission horizontale (transduction, transformation, conjugaison) Les cercles identifiés par « tn » représentent des transposons, éléments génétiques mobiles capables de transporter des gènes de résistance entre le chromosome bactérien, les plasmides et l'ADN libre (Cazaubon, 2018).

3. Mécanismes de Résistance aux Antibiotiques

Les mécanismes de résistance peuvent agir de manière indépendante ou simultanée au sein d'une même souche bactérienne, générant des phénotypes complexes de multirésistance (Figure 5) (Halawa et al., 2023; Birlutiu et Birlutiu, 2025).

3.1. Inactivation enzymatique des antibiotiques

L'inactivation enzymatique est l'un des mécanismes de résistance les plus courants et significatifs sur le plan clinique mis en place par les bactéries (Kalkir et Simsek, 2026).

Grâce à ce processus, la bactérie acquiert le pouvoir d'inactiver l'effet des antibiotiques en sécrétant une enzyme avant même que ceux-ci n'entrent dans le micro-organisme (Munita et Arias, 2016).

Ce type de résistance est représenté principalement par les bêta-lactamases, qui hydrolysent et inactivent les antibiotiques bêta-lactamines (Munita et Arias, 2016).

3.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La modification de la cible permet aux bactéries d'échapper à l'action des antibiotiques en altérant la structure du site de liaison (Belay et *al.*, 2024).

Ce mécanisme, pouvant résulter de mutations génétiques ou d'une modification enzymatique post-traductionnelle, diminue l'affinité de l'antibiotique pour sa cible tout en maintenant les fonctions métaboliques vitales de la bactérie (Blair et *al.*, 2015).

3.3. La Diminution de la Perméabilité Membranaire

La diminution de la perméabilité membranaire représente une première barrière qui freine la pénétration des antibiotiques au sein de la cellule bactérienne. Chez les bactéries à Gram négatif, ce phénomène est principalement lié à une réduction de l'expression des porines ou à des mutations modifiant leur structure, ce qui entraîne une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique et rend son entrée moins efficace à cause de changements de la membrane ou de la paroi (Tenover, 2006; Sinha, et *al.*, 2026).

3.4. Pompes d'efflux

Les pompes d'efflux sont des protéines membranaires qui expulsent activement les antibiotiques hors de la cellule, réduisant ainsi leur concentration intracellulaire (Blair et *al.*, 2015; Rattanaporn et *al.*, 2024).

Elles peuvent être exprimées de façon constitutive ou induites en réponse à un stress environnemental, à une exposition aux antibiotiques, ou à des mutations entraînant leur surexpression (Kalkir et Simsek, 2026).

Cinq grandes familles de pompes d'efflux :

- La famille Résistance-Nodulation-Division (RND)
 - La superfamille Major Facilitator Superfamily (MFS)
 - La famille Small Multidrug Resistance (SMR)
 - Efflux multirésistant et toxique (MATE)
 - Les transporteurs de type cassette de liaison à l'ATP (ABC)
- (Sinha, et *al.*, 2026).

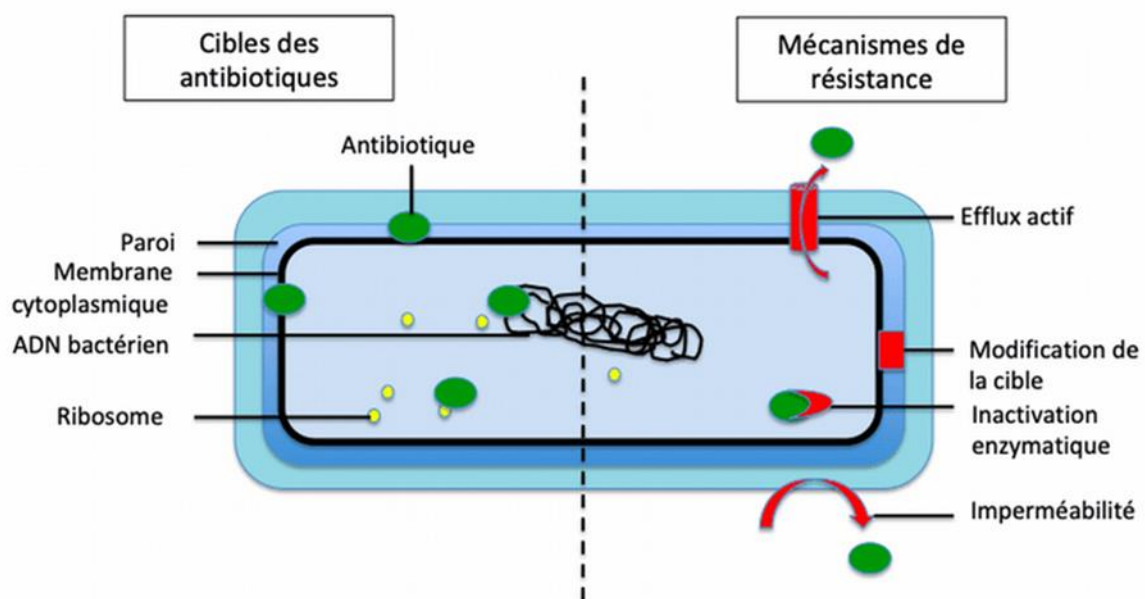


Figure 5 : Cibles bactériennes et mécanisme de résistance aux antibiotiques
(Martin et *al.*, 2019).

Les principaux sites d'action des antibiotiques sont la paroi bactérienne, le ribosome, l'ADN bactérien, la membrane cytoplasmique (Martin et *al.*, 2019).

4. Les pathogènes prioritaires multirésistants

En février 2017, L'organisation mondiale de la Santé (l'OMS) a publié une liste de pathogènes pour lesquels il est urgent de développer de nouveaux agents antimicrobiens afin d'orienter la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques. Parmi les agents pathogènes les bactéries du groupe ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter spp.*) ont désignées comme « prioritaires », ces bactéries résistantes aux antimicrobiens constituent une menace mondiale pour la santé humaine. Elles ont acquis des gènes de résistance aux antimicrobiens, qui réduisent les options thérapeutiques pour les infections graves, augmentent la morbidité et la mortalité liée aux échecs thérapeutiques, ce qui exige une intervention coordonnée à l'échelle mondiale pour surveiller cette résistance. (De Oliveira et al., 2020).

- *Enterococcus faecium* se caractérise par une résistance croissante à l'ampicilline et à la vancomycine (Santajit et Indrawattana, 2016). L'émergence des souches résistantes à la vancomycine (Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*, *VREfm*) constitue une préoccupation majeure en santé publique (Radford-Smith et Anthony, 2025). Cette résistance est principalement liée à l'acquisition de gènes tels que *vanA* et *vanB* (Wei et al., 2024).
- *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), apparu dès 1961 (Simgamsetty et al., 2026), est une bactérie responsable d'infections graves en milieu hospitalier et communautaire (De Oliveira et al., 2020).
Le déterminant central de cette résistance est le gène *mecA*, qui code une protéine (PBP2a) à faible affinité pour les β -lactamines, conférant ainsi une résistance à cette famille d'antibiotiques et compliquant fortement la prise en charge thérapeutique (Simgamsetty et al., 2026).
- *Klebsiella pneumoniae* constitue une menace importante en raison de sa production d'enzymes β -lactamases, notamment les carbapénémases *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) et New Delhi metallo- β -lactamase-1 (NDM-1) conférant une résistance étendue aux β -lactamines, aux aminosides et aux fluoroquinolones (Santajit et Indrawattana, 2016).
- *Acinetobacter baumannii*, est un pathogène associé aux infections nosocomiales et caractérisé par une forte multirésistance aux antibiotiques, notamment aux carbapénèmes (De Oliveira et al., 2020).

Sa persistance dans les environnements hospitaliers est favorisée par des capacités d'adaptation remarquables, notamment sa tolérance à la dessiccation, sa résistance aux désinfectants, sa capacité à former des biofilms et à échapper aux réponses immunitaires, ce qui contribue à sa survie dans des conditions défavorables et à sa dissémination(Goncalves et *al.*, 2025; Sharma et Lakhanpal, 2025).

Par ailleurs, l'émergence de souches résistantes à la colistine, antibiotique de dernier recours, réduit considérablement les options thérapeutiques disponibles et souligne le caractère critique de cette bactérie en santé publique(De Oliveira et *al.*, 2020 ; Sharma et Lakhanpal, 2025).

- *Pseudomonas aeruginosa* présente une résistance aux carbapénèmes résultant principalement de la combinaison de plusieurs mécanismes, notamment la production de la β -lactamase AmpC chromosomique, la diminution de la perméabilité membranaire liée aux porines et la surexpression des pompes à efflux. La production isolée d'AmpC n'est pas suffisante pour conférer une résistance élevée, mais son hyperproduction associée à ces altérations contribue au développement d'une résistance importante (Santajit et Indrawattana, 2016).
- Les espèces *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes* (actuellement *Klebsiella aerogenes*) figurent parmi les entérobactéries les plus fréquemment impliquées dans les infections nosocomiales. Leur résistance aux β -lactamines est principalement liée à la production d'une β -lactamase chromosomique de type AmpC, tandis que l'acquisition fréquente de plasmides porteurs de β -lactamases à spectre étendu (BLSE), ce qui complique leur prise en charge thérapeutique en milieu hospitalier(Anju et *al.*, 2020).

5. Les biofilms et la résistance aux antibiotiques

Les biofilms sont des agrégats de cellules microbiennes adhérant à une surface et enveloppés dans une matrice extracellulaire, considérablement plus résistants aux antimicrobiens que les cellules planctoniques libres (Hall et Mah, 2017).

Cette résistance est multifactorielle : la matrice d'exopolysaccharides et d'ADN extracellulaire limite la diffusion des antibiotiques notamment les aminoglycosides et les molécules de grande taille tout en permettant une meilleure pénétration des bêta-lactamines et quinolones (Shree et *al.*, 2023).

De plus, les gradients de nutriments et d'oxygène au sein du biofilm réduisent l'activité métabolique bactérienne, générant des cellules dormantes peu sensibles aux antibiotiques (Høiby et *al.*, 2010).

S'ajoutent à cela la mutation des sites cibles, l'accumulation d'enzymes dégradantes et la surexpression des pompes d'efflux (Singh et *al.*, 2022). Ces caractéristiques expliquent que 80 % des infections chroniques humaines soient liées aux biofilms, constituant la cause principale du dysfonctionnement des implants médicaux et engendrant une morbidité et mortalité élevées (Singh et *al.*, 2022).

6. Les Stratégies de Lutte contre l'antibiorésistance

6.1. Usage Raisonné des Antimicrobiens

L'usage abusif des antibiotiques est identifié comme un facteur majeur favorisant l'émergence de la résistance aux antibiotiques (Ventola, 2015).

Les programmes de gestion des antimicrobiens visent à perfectionner l'usage des antibiotiques en affinant le choix du médicament, le dosage, la durée et la voie d'administration (Davey et *al.*, 2017). Ces programmes visent à :

- Limiter l'émergence de la résistance aux antimicrobiens
- La sauvegarde des agents antimicrobiens présents et à venir est considérée comme une priorité (Tamma et Cosgrove, 2011).

6.2. Surveillance de la résistance aux antibiotiques

La surveillance de la résistance aux antibiotiques aide à observer l'évolution des profils de résistance et à détecter l'apparition de nouvelles résistances bactériennes ; les données fournies par ces systèmes sont indispensables pour adapter les politiques de prescription et orienter les stratégies de lutte contre l'antibiorésistance (Prestinaci et *al.*, 2015).

Une surveillance intégrée impliquant les secteurs humain, animal et environnemental est recommandée afin d'obtenir une perspective globale de la résistance aux antibiotiques (Delpy et *al.*, 2024).

6.3. L'Approche "Une seule santé" (One Health)

L'approche « One Health » révèle les connexions entre la santé humaine, la santé animale et l'environnement dans le contexte de la résistance aux antibiotiques (McEwen et Collignon, 2018).

L'utilisation des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire contribue à la sélection et à la dissémination des bactéries résistantes (McEwen et Collignon, 2018), rendant nécessaire une coordination entre ces divers domaines pour limiter la diffusion des résistances à l'échelle mondiale (Delpy et *al.*, 2024).

6.4. La phagothérapie face au défi de l'antibiorésistance

La phagothérapie se présente comme une alternative d'avenir incontournable en ciblant spécifiquement les bactéries pathogènes multirésistantes (BMR) sans perturber la flore commensale saine (Kortright et *al.*, 2019). De surcroît, l'utilisation de phages lytiques stricts permet de limiter l'usage global de molécules chimiques en santé humaine et vétérinaire, s'inscrivant ainsi pleinement comme un pilier écologique majeur de l'approche rationnelle « Une seule santé » (Gordillo Altamirano et Barr, 2019).

Chapitre 3

La phagothérapie

1. Définition de la phagothérapie

La phagothérapie est une approche thérapeutique utilisant des agents biologiques naturels phages pour le traitement des infections bactériennes (Abedon et *al.*, 2017), pouvant être appliquée sous une forme personnalisée, étroitement adaptée aux besoins de chaque patient (Zalewska-Piątek, 2023).

Elle met à profit la propriété destructrice, lytique, spécifique de tel ou tel bactériophage vis-à-vis d'une bactérie en situation pathogène (Dublanche, 2017).

La phagothérapie regagne aujourd'hui de l'intérêt en tant qu'alternative prometteuse face à la menace croissante des bactéries multirésistantes aux antibiotiques (Cui et *al.*, 2024).

2. Origine de la phagothérapie

L'histoire de la phagothérapie remonte au début du XX^e siècle, lorsque Frederick William Twort et Felix d'Hérelle découvrirent indépendamment les bactériophages en 1915 et 1917 respectivement (Aswani et Shukla, 2021).

La première utilisation humaine de phages a eu lieu en 1921 à l'hôpital des Enfants-Malades à Paris, où des patients souffrant de dysenterie ont rapidement guéri, ce qui a conduit à l'élaboration de nombreuses préparations commerciales (Dublanche et Fruciano, 2008).

Face à la propagation alarmante de la résistance aux antibiotiques et du déficit en nouvelles molécules en phase de développement, un regain d'intérêt est observé croissant pour l'usage des bactériophages en tant qu'agents antibactériens alternatifs en médecine humaine, poussant ainsi le monde occidental à revisiter et à réévaluer l'ensemble des connaissances accumulées au cours du siècle précédent (Vandamme et Mortelmans, 2019).

3. Principe d'utilisation de la phagothérapie

La phagothérapie est un traitement anti-infectieux expérimental qui repose sur l'utilisation de bactériophages capables d'infecter, de se répliquer et de lyser spécifiquement certaines bactéries. Son principe d'utilisation tient surtout à l'adéquation étroite entre le phage et la souche bactérienne ciblée avant traitement, des tests de sensibilité sont nécessaires pour sélectionner les phages actifs contre l'isolat du patient

(Suh et *al.*, 2022 ; Walter et *al.*, 2024).

Elle est particulièrement envisagée dans les infections réfractaires, multirésistantes ou associées à un biofilm, souvent en complément des antibiotiques, avec lesquels elle peut parfois présenter un effet additif ou synergique (Suh et *al.*, 2022; Walter et *al.*, 2024).

4. Les bactériophages face aux bactéries multirésistantes (BMR)

En raison de l'augmentation inquiétante des infections causées par des bactéries résistantes à de multiples médicaments et de l'épuisement progressif des antibiotiques classiques, la thérapie par les phages s'affirme désormais comme une option de traitement sérieuse. D'après l'OMS, la résistance aux antimicrobiens, si elle n'est pas maîtrisée, pourrait entraîner jusqu'à 10 millions de morts par an d'ici 2050, rendant nécessaire la mise en œuvre de nouvelles stratégies de combat (Alaaeddine et *al.*, 2025).

Dans ce contexte, de multiples stratégies phagiques ont été mises au point afin d'améliorer l'efficacité thérapeutique des bactériophages contre les BMR.

4.1. Spécificité d'hôte et sélection des phages

L'une des caractéristiques les plus essentielles des bactériophages est leur spécificité d'hôte. Chaque phage identifie et s'attache à des récepteurs spécifiques présents sur la membrane bactérienne lipopolysaccharides, protéines de membrane externes, flagelles ou pili qui diffèrent d'une espèce à l'autre, voire d'une souche à une autre au sein de la même espèce. Ce caractère constitue en fait une sorte de « empreinte biologique » du phage, assurant un impact ciblé sans affecter les cellules humaines ni le microbiote commensal, contrairement aux antibiotiques à large spectre souvent à l'origine de dysbiose (Alaaeddine et *al.*, 2025; Kaneko et *al.*, 2026).

4.2. Phages virulents et phages tempérés

Deux catégories importantes de bactériophages ont des impacts thérapeutiques différents. En phagothérapie, Les phages virulents, capables de provoquer une lyse rapide des bactéries hôtes, sont privilégiés en phagothérapie en raison de leur efficacité à diminuer promptement les populations bactériennes tout en minimisant la menace de transfert horizontal de gènes de résistance. En revanche, les phages tempérés incorporent leur génome dans le chromosome bactérien avant de déclencher le cycle lytique, augmentant ainsi le risque de propagation de gènes indésirables et les rendant moins appropriés pour les applications dans le domaine clinique (Panagiotopoulos et *al.*, 2025).

4.3. Cocktails de phages

L'un des obstacles majeurs à la phagothérapie en tant que thérapie unique est l'apparition de bactéries résistantes aux phages. Pour pallier ce problème, il a été suggéré d'utiliser des cocktails mélangeant plusieurs phages, chacun visant des récepteurs différents d'un même hôte bactérien. Les experts recommandent des formulations de deux à dix phages pour maximiser l'efficacité et retarder l'apparition de résistances. Des recherches comparatives ont démontré que les cocktails de phages favorisent l'inactivation des bactéries et limitent le renouvellement des souches résistantes par rapport aux solutions monophasiques, bien qu'un excès de phages dans un cocktail pourrait exercer une pression sélective sur des bactéries non ciblées (Costa et *al.*, 2024).

4.4. Combinaison phagothérapie et CRISPR-Cas

L'association de la phagothérapie et du système d'édition génomique CRISPR-Cas représente une stratégie synergique particulièrement encourageante pour combattre les BMR. Les bactériophages contribuent à l'identification et à l'élimination des bactéries pathogènes, tandis que CRISPR-Cas offre la possibilité de modifier le génome phagique pour contourner les défenses de la bactérie ou désactiver directement les gènes de résistance bactérienne. Cette double approche permet d'augmenter la précision thérapeutique, de protéger le microbiote résidant et de diminuer la menace de développement des résistances, bien qu'il persiste des défis à relever concernant l'acheminement des deux agents aux bactéries visées, spécifiquement au sein des biofilms (Ghazaei, 2026).

La figure 6 illustre le processus de modification génétique des bactériophages via le système CRISPR-Cas9, montrant comment la recombinaison homologue permet de transformer un phage sauvage en un agent thérapeutique optimisé :

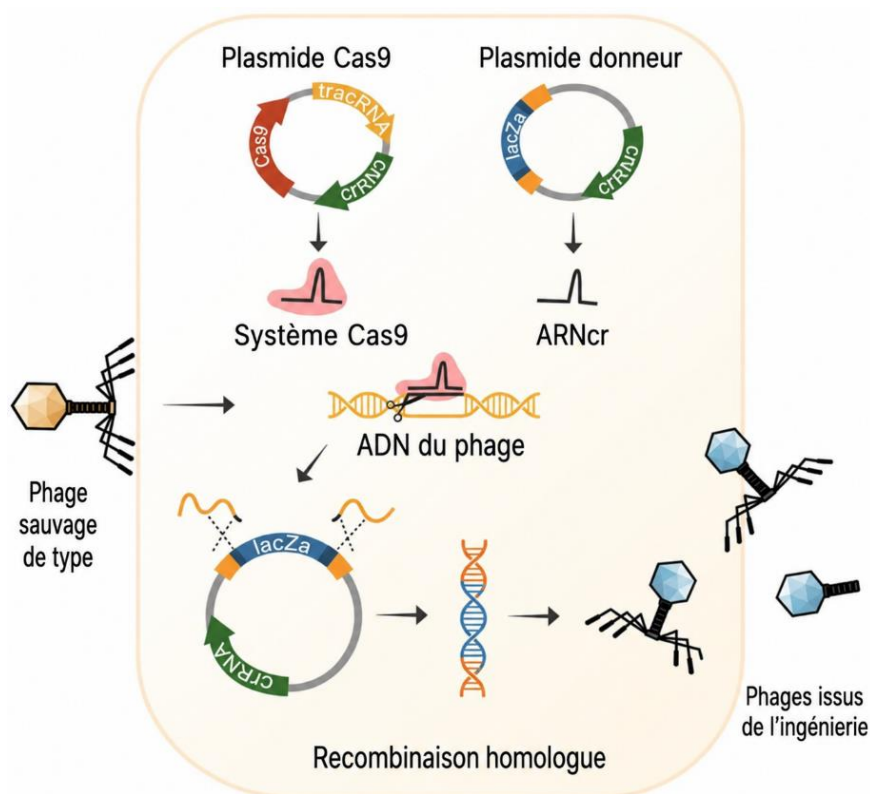


Figure 6 : Protocole d'ingénierie génétique des bactériophages via le système CRISPR-Cas9(Ghazaei, 2026).

4.5. Action sur le biofilm

Les phages peuvent intervenir à deux étapes concernant le biofilm : en le prévenant avant sa formation ou en agissant sur un biofilm déjà formé (Liu et *al.*, 2016; Alkhulaifi, 2017)

Après s'être attachés aux bactéries du biofilm, ils se répliquent et provoquent la lyse des cellules hôtes, libérant ainsi d'autres phages capables d'atteindre d'autres couches du biofilm (Deshpande Kaistha et Devi Umrao, 2016).

Certaines enzymes phagiques agissent également sur le quorum sensing, par exemple via des lactonases, ce qui perturbe la coordination requise pour le maintien du biofilm (Deshpande Kaistha et Devi Umrao, 2016).

Une preuve expérimentale soutient cette notion : un phage lytique a inhibé la formation et détruit des biofilms préformés d'*Acinetobacter baumannii* (Liu et *al.*, 2016).

4.6. Synergie phage antibiotique

La synergie entre le phage et l'antibiotique, connue sous le nom de PAS (Synergie Phage-Antibiotique), repose sur la combinaison de deux fonctions antimicrobiennes complémentaires : le phage cible et détruit les bactéries sensibles, alors que l'antibiotique tire profit de cette fragilisation pour cibler plus efficacement la population restante. Cette thérapie associée génère un effet synergique dans plus de 70% des situations, favorisant une éradication bactérienne supérieure et une diminution de l'apparition des résistances par rapport à l'utilisation de la monothérapie (Kapoor et *al.*, 2024).

Les antibiotiques peuvent être transportés par les phages vers la cellule cible, et les deux agents ciblent différents récepteurs bactériens, rendant le développement de résistance plus compliqué (Diallo et Dublanche, 2022).

Toutefois, cette combinaison sert principalement à restaurer ou prolonger l'activité des antibiotiques devenus moins efficaces. Le choix du phage, de l'antibiotique, de la dose et de l'ordre d'administration est néanmoins crucial (Diallo et Dublanche, 2022; Liu et *al.*, 2022).

La Figure 7 illustre le phénomène de synergie entre les bactériophages et les antibiotiques (PAS), mettant en évidence leurs interactions complémentaires dans l'environnement ainsi que dans le cadre de la phagothérapie.

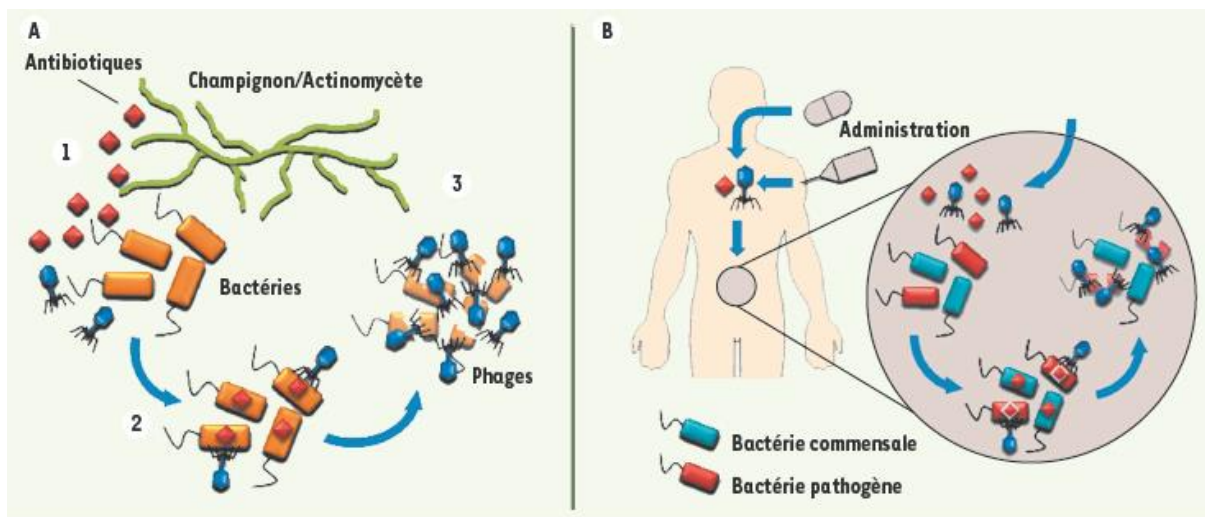


Figure 7 : Le phénomène de « synergie phages-antibiotiques » (PAS) dans l'environnement (A) et en phagothérapie (B)(Comeau et *al.*, 2008).

5. Efficacité et succès dans le monde

Plusieurs expériences cliniques menées à travers le monde ont permis de démontrer l'efficacité réelle de la phagothérapie contre les infections bactériennes difficiles à traiter, avec des taux de succès encourageants rapportés dans différents contextes thérapeutiques (Kim et *al.*, 2025; Sippel et Velimirov, 2025).

En Europe, des rapports de cas et des séries cliniques ont montré des améliorations significatives, avec des taux de succès dépassant 77 % dans des infections chroniques ou réfractaires, telles que les infections ostéo-articulaires, les infections cutanées et les infections associées aux dispositifs médicaux (Haq et *al.*, 2024; Pirnay et *al.*, 2024).

C'est notamment le cas en Belgique, où le Centre de Coordination de Phagothérapie de l'Hôpital militaire Queen Astrid a facilité la phagothérapie dans environ 110 infections difficiles à traiter, avec une amélioration clinique rapportée chez 77,2 % des patients et une éradication bactérienne chez 61,3 % d'entre eux (Pirnay et *al.*, 2024).

Aux Etats-Unis, La phagothérapie a récemment été utilisée comme thérapie d'urgence dans le cadre de soins compassionnels, démontrant son efficacité chez des patients atteints d'infections à bactéries multirésistantes résistantes à tous les antibiotiques disponibles (Anastassopoulou et *al.*, 2024).

Une étude portant sur 20 patients atteints de maladies à *Mycobacterium* résistantes aux médicaments a rapporté des résultats encourageants après administration de phages personnalisés, confirmant l'efficacité de cette approche chez des patients immunodéprimés en impasse thérapeutique (Dedrick et *al.*, 2023).

En Australie : L'étude *Standardized Treatment and Monitoring Protocol* (STAMP) de Phage Australia évalue la sécurité et la faisabilité de la phagothérapie sur plusieurs pathogènes et indications cliniques, incluant les infections respiratoires et urinaires difficiles à traiter, en permettant une sélection personnalisée des phages tout en maintenant une surveillance cohérente entre les patients (Khatami et *al.*, 2022).

6. Domaines d'application des bactériophages

Bien que la phagothérapie constitue l'application principale pour combattre les infections bactériennes, les bactériophages possèdent un potentiel d'application bien plus large, couvrant des domaines variés comme la biotechnologie, l'agriculture et l'environnement (García-Cruz et *al.*, 2023).

6.1. Médecine humaine

Les bactériophages sont surtout étudiés comme alternative ou complément aux antibiotiques pour traiter des infections bactériennes difficiles, surtout dans le contexte de l'antibiorésistance (Fathima et Archer, 2021; Alaaeddine et *al.*, 2025).

Leur utilisation clinique a été rapportée dans les infections respiratoires, urinaires, musculosquelettiques, cardiovasculaires et liées aux dispositifs médicaux (Gallina et *al.*, 2026).

6.2. Agriculture

Les bactériophages sont utilisés comme biopesticides biologiques pour contrôler les bactéries pathogènes des cultures, de l'élevage et de l'aquaculture (Ul Haq et *al.*, 2024).

Ils peuvent aussi réduire la contamination bactérienne dans les plantes, les sols et l'eau, ce qui en fait une option intéressante pour la protection des cultures (Ul Haq et *al.*, 2024; AL-Balawy, 2025).

Leur utilisation a montré des résultats positifs contre plusieurs bactéries phytopathogènes, notamment *Xanthomonas* spp., *Pectobacterium* spp. et *Erwinia amylovora* (Villalpando-Aguilar et *al.*, 2022).

L'application de préparations phagiques sur des cultures comme la tomate, la pomme de terre et les arbres fruitiers permet de réduire l'incidence des maladies bactériennes sans effets négatifs sur les plantes ni l'environnement (Villalpando-Aguilar et *al.*, 2022).

Ces résultats soulignent le potentiel des bactériophages comme alternative durable en agriculture (García-Cruz et *al.*, 2023).

6.3. Agroalimentaire

Les bactériophages sont utilisés comme agents de biocontrôle pour réduire ou éliminer les bactéries pathogènes dans les aliments (Sillankorva et *al.*, 2012).

Ils peuvent aussi servir à désinfecter les surfaces de contact et les environnements de transformation (E et Gummadi, 2024), améliorant ainsi la sécurité sanitaire sans altérer les propriétés des produits (Sillankorva et *al.*, 2012).

6.4. Médecine vétérinaire

L'utilisation des bactériophages en médecine vétérinaire a connu un essor notable, particulièrement pour le traitement des infections bactériennes chez les animaux d'élevage, notamment les bovins et la volaille (Bianchessi et *al.*, 2024).

6.5. Biotechnologie et recherche scientifique

En biotechnologie, les bactériophages sont principalement utilisés comme outils de laboratoire et comme plateformes technologiques pour le développement de vaccins, d'outils de diagnostic et de thérapies géniques (Kutter et *al.*, 2010).

Ils sont également largement employés en biologie moléculaire et en microbiologie pour l'étude des interactions hôte-phage et la compréhension des mécanismes génétiques et évolutifs des microorganismes (Kutter et *al.*, 2010; García-Cruz et *al.*, 2023).

Par ailleurs, les phages contribuent à la découverte de nouveaux agents antimicrobiens et à la remédiation environnementale (García-Cruz et *al.*, 2023).

Dans le secteur agroalimentaire, ils sont utilisés pour la détection de bactéries pathogènes dans les aliments et pour l'assainissement des environnements de transformation, renforçant ainsi la sécurité sanitaire des produits alimentaires (Buttimer et *al.*, 2017).

7. Limites de la phagothérapie

Les limites de la phagothérapie relèvent des aspects biologiques, pharmacologiques et réglementaires. D'un point de vue biologique, la spécificité stricte des phages, ciblant fréquemment une seule espèce ou même une souche spécifique, nécessite une identification précise de l'agent infectieux avant l'intervention, limitant de ce fait toute approche empirique (Lin et *al.*, 2022; Guo et *al.*, 2024).

En outre, l'émergence de résistances bactériennes aux phages, le risque lysogénique associé à certaines souches phagiques, ainsi que la possibilité que la réponse immunitaire de l'hôte neutralise les phages constituent des limites importantes (Lin et *al.*, 2022; Guo et *al.*, 2024).

Du point de vue pharmacologique, la caractérisation des phages en termes de pharmacocinétique et de pharmacodynamique reste insuffisante, en raison d'une variabilité *in vivo* significative qui complique l'optimisation des doses et la standardisation des protocoles thérapeutiques (Nilsson, 2019; Guo et *al.*, 2024). Enfin, la traduction clinique se heurte à des obstacles concrets : complexité de la production et de la purification des préparations, absence d'un cadre réglementaire adapté, financement insuffisant de la recherche et manque d'essais cliniques à large échelle (Nobrega et *al.*, 2015; Le et *al.*, 2022; Sippel et Velimirov, 2025).

8. Utilisation de la métagénomique et l'intelligence artificielle

La métagénomique est une discipline qui permet l'analyse directe du matériel génétique extrait d'un échantillon environnemental complexe, sans recourir à une étape de culture microbienne préalable (Banerjee et *al.*, 2025).

Elle repose sur le séquençage massif de l'ADN total présent dans un milieu donné, qu'il s'agisse du sol, de l'eau, ou du microbiote humain, permettant ainsi d'accéder à l'ensemble des micro-organismes présents, y compris ceux qui demeurent non cultivables en laboratoire (Banerjee et *al.*, 2025).

Cette capacité à explorer la diversité microbienne dans sa globalité constitue l'un des apports les plus significatifs de cette approche par rapport aux méthodes microbiologiques classiques (Kuang et *al.*, 2026).

8.1. Rôle de la métagénomique en phagothérapie

La métagénomique permet d'identifier directement les génomes de bactériophages présents dans des environnements naturels, qui constituent de véritables réservoirs de diversité virale (Zakharevich et *al.*, 2026). Face à la menace croissante des bactéries multirésistantes, cette approche représente aujourd'hui un outil incontournable pour la découverte rapide de phages actifs et spécifiques à visée thérapeutique (Banerjee et *al.*, 2025; Kim et *al.*, 2025).

8.2. Intelligence artificielle et métagénomique dans la phagothérapie

L'intelligence artificielle IA est devenue essentielle pour l'analyse des données métagénomiques, qui sont volumineuses et complexes et nécessitent des méthodes avancées pour leur interprétation efficace (Roy et *al.*, 2024).

Les approches d'apprentissage automatique (*machine learning*) et d'apprentissage profond (*deep learning*) sont utilisées pour améliorer la classification taxonomique, la détection de séquences rares et la prédiction fonctionnelle des gènes (Roy et *al.*, 2024).

Dans le domaine de la phagothérapie, ces techniques permettent également d'analyser de grandes bases de données génomiques afin d'identifier des bactériophages spécifiques et de prédire leurs interactions avec leurs bactéries hôtes, facilitant ainsi la conception de traitements plus efficaces et ciblés (Doud et *al.*, 2025).

Des perspectives émergentes suggèrent que l'IA pourrait aider à concevoir des phages optimisés, à prédire les phage-hôte interactions et à accélérer la sélection des phages thérapeutiques, bien que ces approches soient encore en développement (Doud et *al.*, 2025).

8.3. Principaux outils utilisés en métagénomique et en IA

MEGAHIT / metaSPAdes : logiciels d'assemblage des séquences métagénomiques permettant de reconstruire les génomes à partir de fragments de lecture courts (Li et *al.*, 2015).

VirSorter2 / VIBRANT : outils dédiés à la détection et à l'identification des séquences virales et phagiques au sein de données métagénomiques complexes (Guo et *al.*, 2021).

CheckV : outil d'évaluation de la qualité et de la complétude des génomes viraux assemblés, essentiel pour valider les séquences phagiques identifiées (Nayfach et *al.*, 2021).

PHASTER : plateforme d'annotation fonctionnelle des génomes de bactériophages, permettant d'identifier les gènes codant pour des protéines structurales et fonctionnelles (Arndt et *al.*, 2016).

Outils basés sur l'IA : algorithmes d'apprentissage automatique permettant la prédiction des interactions phage-hôte et la sélection ciblée des phages à potentiel thérapeutique (Roux et *al.*, 2023; Gaborieau et *al.*, 2024).

Matériel et méthodes

Cette étude expérimentale a été réalisée au niveau du Laboratoire LMAABE de l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, dans le cadre d'une démarche visant à isoler et caractériser des bactériophages à partir d'échantillons environnementaux en vue d'évaluer leur activité lytique vis-à-vis de souches bactériennes multirésistantes.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

Les souches bactériennes cliniques ayant fait l'objet de cette étude proviennent de notre laboratoire de recherche.

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Proteus mirabilis*
- *Enterococcus faecalis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Bacillus subtilis*
- *Pseudomonas aeruginosa*

1.2. Matériels non biologiques

L'ensemble du matériel non biologique utilisé au cours de cette étude, incluant la verrerie, les consommables et les équipements de laboratoire, est détaillé en annexe (Annexe 1).

1.3. Milieux de cultures

Les milieux de culture utilisés dans cette étude ont été choisis en fonction de leur adéquation avec les besoins nutritionnels et les caractéristiques de chaque souche bactérienne. Les milieux non sélectifs servent à la culture générale et à l'enrichissement phagique, tandis que les milieux sélectifs et différentiels sont utilisés pour l'isolement et la purification des souches.

L'ensemble de ces milieux est regroupé dans le Tableau 2 :

Tableau 2: Milieux de culture utilisés pour l'isolement et la culture des souches bactériennes

Milieu	Nature	Type
LB	Liquide / Solide	Non sélectif
Mueller-Hinton	Solide	Non sélectif
MacConkey	Solide	Sélectif et différentiel
Chapman	Solide	Sélectif et différentiel
Cétrimide	Solide	Sélectif et différentiel
Bile Esculine	Solide	Sélectif et différentiel

2. Repiquage et purification bactériennes

2.1. Revivification et enrichissement

- Les souches bactériennes préalablement conservées à basse température ont été sorties du congélateur et laissées à température ambiante, afin d'assurer une décongélation progressive limitant tout choc thermique susceptible d'affecter la viabilité cellulaire.
- Un volume de 100 µl de chaque suspension bactérienne a été prélevé de façon aseptique.
- Le prélèvement a ensuite été transféré dans un tube contenant 5 ml de bouillon (Brain Heart Infusion Broth) BHIB (Figure 8) fraîchement préparé.
- Les tubesensemencés ont été placés dans un incubateur à 37°C pendant une durée de 18 à 24 heures, conditions reconnues comme optimales pour permettre aux souches de retrouver leur pleine capacité de croissance.



Figure 8 : Étape d'ensemencement pour la revivification des souches

2.2. Isolement sur milieux sélectifs

- Les cultures ont été ensemencées sur des milieux sélectifs solides par la technique d'épuisement (Figure 9), et ce pour chaque souche sur son milieu correspondant.
- Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Après incubation, les colonies isolées ont été observées et sélectionnées pour les étapes suivantes.



Figure 9:Ensemencement par épuisement sur gélose

3. Coloration de Gram

La coloration de Gram est la technique de coloration différentielle la plus fondamentale en microbiologie (Li et *al.*, 2020).

Cette technique a été réalisée selon le protocole standard recommandé par l’American Society for Microbiology (ASM).

Préalablement à la coloration, un frottis bactérien a été préparé selon les étapes suivantes :

- Prélever une colonie bactérienne fraîchement isolée à l'aide d'une anse stérile.
- Déposer la colonie sur une lame de microscope propre contenant une goutte d'eau stérile.
- Étaler délicatement afin d'obtenir un frottis fin et homogène.
- Laisser sécher le frottis à l'air libre.
- Fixer le frottis par passage rapide à la flamme.

Méthode de coloration :

- Recouvrir la lame de cristal violet pendant environ 1 minute.
- Rincer délicatement à l'eau distillée.
- Appliquer le lugol (mordant) pendant 1 minute afin de fixer le colorant primaire.
- Rincer à l'eau distillée.
- Décolorer à l'aide d'alcool pendant quelques secondes.
- Rincer immédiatement à l'eau distillée pour arrêter la décoloration.
- Appliquer la fuchsine ou de la safranine pendant 1 minute pour la contre-coloration.
- Rincer à l'eau distillée et laisser sécher la lame.
- Observer au microscope optique à immersion (objectif $\times 100$).

4. Prélèvement des échantillons et site de collecte

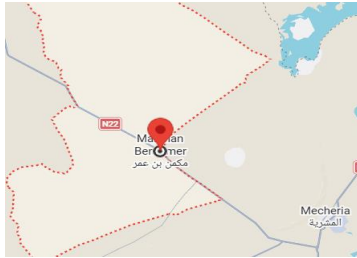
Les bactériophages sont présents de manière universelle dans une grande diversité d'écosystèmes, qu'ils soient naturels ou artificiels (Batinovic et *al.*, 2019). Cependant, leur densité est particulièrement élevée dans les milieux fortement colonisés par les bactéries, comme les eaux usées, qui constituent de véritables réservoirs de diversité virale. En nous appuyant sur ce constat, nous avons sélectionné différents sites de prélèvement afin d'explorer cette richesse écologique et d'augmenter nos chances d'isolement.

Les caractéristiques détaillées de nos échantillons, incluant les sites de collecte ainsi que les dates de prélèvement, sont présentés dans le Tableau 3 :

Tableau 3 : Origine, sites et dates de collecte des échantillons

Échantillon	Date	Heure	Lieu de prélèvement	Localisation
Échantillon "M" Eau usée Mansourah	26/04/2026	15 :00		
Échantillon "K" Eau usée kodiya	26/04/2026	15 :36		
Echantillon" S" Eau usée Sid Daoudi	23/04/2026	10 :00		

Matériel et méthodes

Echantillon "A" Eau usée Al hara	26/04/2026	15 :20		
Echantillon "H" Eau Thermal Hammam ouarka	01/04/2026			
Echantillon "B" Sol Makman Ben Amer	01/04/2026			

5. Prétraitement des échantillons

Dans le cadre de l'isolement des bactériophages, les échantillons environnementaux ont été soumis à un prétraitement. Cette étape vise à réduire les particules solides et les débris organiques, tout en adaptant les échantillons aux conditions d'analyse microbiologique.

Le protocole appliqué diffère selon la nature de l'échantillon (eaux usées polluées et de sol), en tenant compte du type de matrice environnementale.

❖ Filtration

Dans le processus d'isolement des bactériophages, les échantillons ont été soumis à une filtration sur membrane. Cette étape a été réalisée à l'aide d'un filtre à membrane stérile de 0,22 μm , monté sur un système de filtration (Figure 10) de 500 mL équipé d'une pompe à vide (Elois et *al.*, 2023).

La filtration permet de retenir les cellules bactériennes et les débris cellulaires, tandis que les bactériophages, de taille inférieure, traversent la membrane et sont récupérés dans le filtrat destiné aux étapes ultérieures d'isolement, conformément aux protocoles décrits dans la littérature (Elois et *al.*, 2023; Sada et Tessema, 2024).

La Figure 10 présente le système de filtration sous vide utilisé lors du prétraitement des échantillons.



Figure 10 : Système de filtration par une pompe à vide

Le Tableau 4 représente les différentes étapes de traitement des échantillons d'eau usée et de sol mises en œuvre pour la récupération des bactériophages avant leur isolement et leur mise en évidence.

Tableau 4 : Méthodes de traitement des échantillons d'eau usée et de sol utilisées pour la récupération des bactériophages.

	Eau usée	Le sol
Méthode	• Collecter l'échantillon d'eau usée et le transférer dans des tubes de 15 ml. • Une centrifugation a été réalisée à 4 °C pendant 10 minutes à 8000 tr/min afin de séparer les particules solides et les débris cellulaires. • Récupérer délicatement le surnageant obtenu après centrifugation. • Filtrer le surnageant à travers une membrane filtrante de porosité 0,22 µm afin d'obtenir un filtrat exempt de bactéries et contenant uniquement les phages isolés. • Conserver le filtrat à 4°C jusqu'à utilisation (Bonilla et <i>al.</i>, 2016).	• Peser 10 g de sol et le suspendre dans une solution tampon stérile SM buffer (Annexe 2). • Agiter le mélange et laisser sédimenter pendant 2 heures à température ambiante afin de permettre la sédimentation des particules solides (Bonilla et <i>al.</i>, 2016). • Transférer le mélange dans des tubes et centrifuger à 8 000 tr/min pendant 15 min à 4°C pour séparer la phase solide de la phase liquide. • Récupérer délicatement le surnageant obtenu après centrifugation. • Filtrer le surnageant sous vide à travers une membrane filtrante de porosité 0,22 µm afin d'éliminer toute trace bactérienne et d'obtenir un filtrat enrichi en phages (Göller et <i>al.</i>, 2020). • Conserver le filtrat à 4°C jusqu'à utilisation ultérieure.

6. Mise en culture et détection des phages

La détection des bactériophages a été effectuée en suivant le protocole POT (Phage On Tap) (Bonilla et *al.*, 2016) .

Les échantillons ont ainsi été directement soumis à la technique de double couche agar afin de détecter la présence spontanée de phages.

➤ Préparation des souches bactériennes

Pour faciliter la détection des phages, utilisation des bactéries jeunes en pleine croissance. Pour cela, nous avons d'abord réactivé les huit souches de notre collection dans du milieu LB liquide. Les cultures ont été laissées pendant une nuit à 37°C sous agitation pour atteindre la phase exponentielle.

Les souches utilisées sont les suivantes :

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Proteus mirabilis*
- *Enterococcus faecalis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Bacillus subtilis*
- *Pseudomonas aeruginosa*

➤ Méthode de double couche (Double layer agar assay, DLA)

La technique a été réalisée selon les étapes ci-après :

- Une gélose de base à 0,7 % d'agar LB a été coulée en fond de boîte de Pétri et laissée à solidifier à température ambiante (Bonilla et *al.*, 2016).

- Une gélose semi-solide à 0,3 % d'agar LB a été préparée et maintenue en bain-marie à 45°C jusqu'à utilisation (Bonilla et *al.*, 2016).
- 150 µL de suspension phagique et 100 µL de culture bactérienne ont été mélangés dans un tube stérile et laissés en contact pendant 10 minutes afin de permettre l'adsorption des phages (Bonilla et *al.*, 2016).
- Ce mélange a ensuite été incorporé dans 7 mL de gélose semi-solide à 0,3 %, homogénéisé délicatement puis versé sur la gélose de base solidifiée (Bonilla et *al.*, 2016).
- Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures
- La lecture a été effectuée par observation macroscopique toute plage de lyse visible a été interprétée comme un résultat positif (Kropinski et *al.*, 2009).

7. Phagogramme par diffusion sur disque

Le phagogramme sur milieu solide repose sur une approche par diffusion à partir de disques imprégnés de bactériophages, dont le principe est directement inspiré des méthodes conventionnelles d'antibiogramme. Cette technique permet d'évaluer, sur gélose, la susceptibilité d'une souche bactérienne à différents phages, la sensibilité se manifestant par l'apparition de plages de lyse visibles autour des disques après incubation (Skusa et *al.*, 2022 ; Kolenda et *al.*, 2024).

Cette technique a été réalisée selon une méthode standardisée (Skusa et *al.*, 2022).

- Ajuster la densité de la culture bactérienne en calibrant la densité optique (DO) à 0,08–0,1 avant l'ensemencement.
- Préparer des boîtes de Pétri contenant de la gélose LB solide.
- Ensemencer la surface avec la souche bactérienne cible par écouvillonnage (Figure 11).
- Déposer des disques stériles à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile.
- Imprégner chaque disque avec 10 µL de filtrat de l'échantillon.
- Utiliser un disque imprégné de tampon stérile (eau physiologique) comme témoin négatif.
- Incuber les boîtes à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

- La présence d'une zone de lyse autour d'un disque indique la sensibilité de la souche bactérienne au bactériophage contenu dans l'échantillon correspondant (Skusa et *al.*, 2022).



Figure 11 : Ensemencement par écouvillonnage pour le phagogramme

8. Préparation du lysat à partir des plages de lyse

La préparation des lysats phagiques à partir des plages de lyse a été réalisée selon les étapes suivantes :

- Les fragments d'agar prélevés au niveau des plages de lyse isolées ont été déposés dans des tubes à essai contenant 5 mL de bouillon LB (Marashi et *al.*, 2022).
- Les tubes ont ensuite été soumis à une agitation au vortex afin d'assurer une homogénéisation optimale et de favoriser le relargage des particules phagiques dans le milieu liquide (Bonilla et *al.*, 2016).
- Les suspensions ont été incubées à 37 °C sous agitation pendant 30 minutes, permettant une élution efficace des bactériophages dans le bouillon.
- À l'issue de l'incubation, les suspensions ont été centrifugées à 6000 tr/min pendant 10 minutes afin d'éliminer les débris d'agar et les résidus cellulaires bactériens.
- Le surnageant récupéré a été filtré à l'aide d'un filtre à seringue de porosité 0,22 µm, permettant d'éliminer toute contamination bactérienne résiduelle et d'obtenir un lysat phagique clarifié, conservé à 4 °C jusqu'à utilisation (Bichet et *al.*, 2021 ; Marashi et *al.*, 2022).

9. Conservation des bactériophages

Les stocks phagiques ont été conservés pour une utilisation à long terme selon les recommandations de Fortier et Moineau (2009).

- Les lysats phagiques ont été filtrés à travers des filtres à seringue de 0,22 μm afin d'éliminer les résidus bactériens et toute contamination particulaire (Bonilla et *al.*, 2016).
- Les lysats filtrés ont été récupérés dans des tubes Eppendorf stériles de 1,5 mL.
- 900 μL de lysat phagique ont été mélangés avec 100 μL de glycérol dans chaque tube, soit une concentration finale de 10%, utilisé comme agent cryoprotecteur (Golec et *al.*, 2011; Pranata et Waturangi, 2025).
- Les tubes ont été homogénéisés délicatement puis conservés à -80°C pour une conservation à long terme, cette température associée au glycérol ayant démontré une stabilité phagique optimale avec une réduction du titre inférieure à 0,10 log après 24 semaines (Fortier et Moineau, 2009; Pranata et Waturangi, 2025).

Résultats et discussion

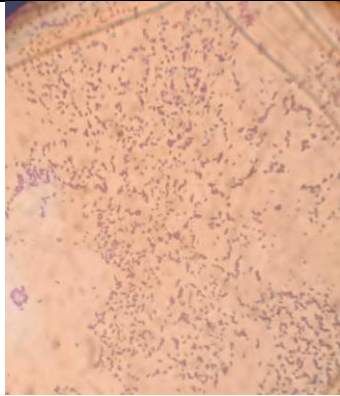
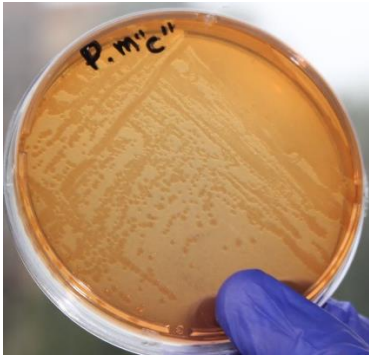
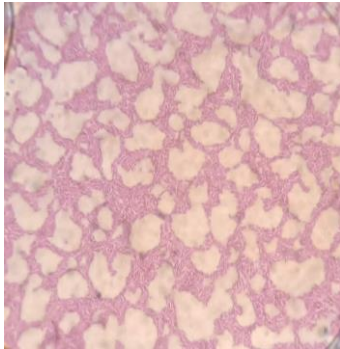
1. Caractérisation phénotypique des souches bactériennes étudiées

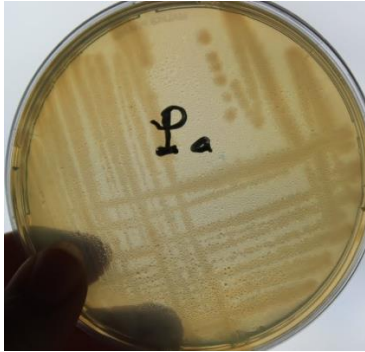
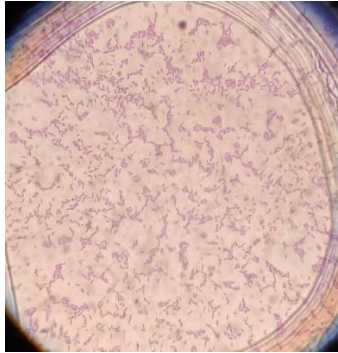
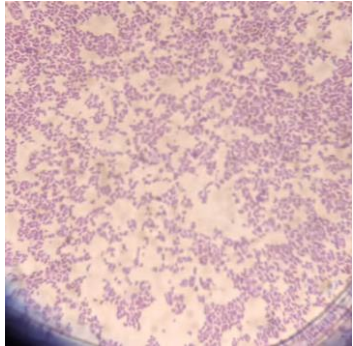
Préalablement aux tests d'activité lytique, l'ensemble des souches bactériennes a fait l'objet d'une étape de purification et d'identification confirmée par coloration de Gram, afin de garantir la pureté et l'identité de chaque souche utilisée et d'assurer la fiabilité des résultats obtenus. Cette démarche est d'autant plus importante que les bactériophages sont reconnus pour leur spécificité d'hôte extrêmement étroite : chaque phage ne reconnaît que des récepteurs précis à la surface bactérienne lipopolysaccharides, protéines membranaires, flagelles ou pili qui varient considérablement d'une espèce à l'autre, voire d'une souche à l'autre au sein d'une même espèce (Hyman et Abedon, 2010; Jia et *al.*, 2023). L'identification des souches hôtes est donc essentielle, car toute confusion aurait pu conduire à des résultats erronés et à une mauvaise interprétation de l'activité lytique observée.

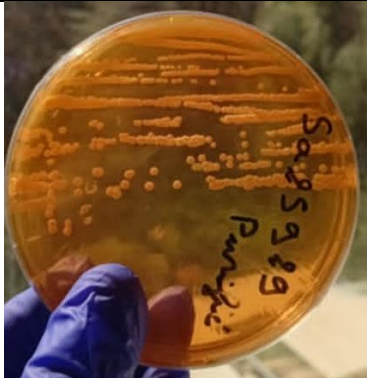
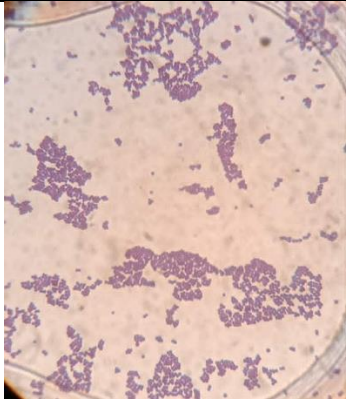
Les observations macroscopiques et microscopiques correspondantes sont présentées dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Résultats de l'observation macroscopique et microscopique des souches bactériennes étudiées

Gram	Souches bactériennes	Aspect macroscopiques	Aspect microscopique
Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	Colonies roses, rondes, lisses 	Bacilles courts 
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colonies roses, larges, mucoïdes, à aspect visqueux,	Bacilles encapsulés

			
	<i>Proteus mirabilis</i>	Colonies incolores, lisses, de taille variable, avec un essaimage envahissant la surface de la gélose 	Bacilles pléomorphes 
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Colonies incolores à blanc-grisâtre, rondes, lisses, 	

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies irrégulières à bords dentelés, plates 	Bacilles fins 
Gram positif	<i>Enterococcus faecalis</i>	Colonies petites, grises à noires, entourées d'un halo noir caractéristique dû à l'hydrolyse de l'esculine 	Coques en chaînettes 
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Colonies jaunes à jaune-dorées, rondes, lisses	Coques en grappes

			
	<i>Bacillus subtilis</i>	Colonies blanc crème, larges, irrégulières, mates, à bords ondulés. 	

2. Résultats de double couche agar

Les bactériophages sont reconnus comme les entités biologiques les plus abondantes de la biosphère, présents dans tous les écosystèmes où des bactéries existent (Clokie et *al.*, 2011). Dans cette étude, six échantillons ont été prélevés depuis trois types de milieux distincts : des zones de rejet d'eaux usées à Sid Daoudi, Al Hara, Kodiya et Mansourah (Wilaya de Tlemcen), une source d'eau thermale au hammam Ouarka et un échantillon de sol à Makman Ben Amar (Wilaya de Naâma). Les résultats obtenus confirment que les eaux usées constituent la source la plus favorable à l'isolement de bactériophages actifs, tandis qu'aucune activité n'a été détectée dans les deux autres milieux.

Résultats et discussion

Les eaux usées municipales, constituées d'un mélange de rejets domestiques et industriels, hébergent une grande diversité de bactéries et de bactériophages associés, représentant ainsi une source privilégiée pour l'isolement de phages actifs contre un large éventail de pathogènes bactériens (Schwarz et Mathieu, 2024).

Les résultats détaillés de l'activité phagique en fonction des échantillons et des souches bactériennes sont présentés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Activité phagique des échantillons environnementaux selon l'origine du milieu et les souches bactériennes testées

	Eaux usées				L'eau thermale	Sol
Souche bactérienne	M (Mansourah)	K (Kodiya)	A (Al Hara)	S (Sid Daoudi)	H (Hammam Ouarka)	B (Makman Ben Amar)
<i>Escherichia coli</i>	+	+	–	–	–	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	–	–	–	–	–
<i>Proteus mirabilis</i>	–	–	+	–	–	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Acinetobacter baumannii</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Bacillus subtilis</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–	–	–	–	–

✓ + : présence de plages de lyse

– : absence de plages de lyse

L'isolement de bactériophages à partir des échantillons environnementaux étudiés a permis de mettre en évidence une activité lytique contre certaines souches bactériennes multirésistantes. Les résultats obtenus montrent la présence de plages de lyse sur *Proteus mirabilis* pour l'échantillon A, sur *Escherichia coli* pour l'échantillon K, ainsi que sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* pour l'échantillon M. Ces observations confirment la présence de bactériophages infectieux capables de reconnaître et de lyser spécifiquement certaines entérobactéries d'intérêt clinique.

Les plages de lyse observées dans cette étude étaient majoritairement de petite taille et présentaient une morphologie punctiforme (Figure 12). Toutefois, cette caractéristique ne traduit pas nécessairement une faible efficacité lytique : selon Abedon et Yin (2009) ainsi que Gallet et *al.* (2011), la taille des plages dépend de plusieurs facteurs, notamment le taux d'adsorption du phage, la durée du cycle infectieux et la capacité des virions à diffuser dans la gélose. Plusieurs explications complémentaires peuvent ainsi rendre compte de la petite taille des plages observées :

- Un taux d'adsorption élevé, qui permet aux phages d'infecter rapidement les bactéries voisines après leur libération ; cette infection localisée limite la diffusion dans la gélose et conduit à la formation de plages compactes (Gallet et *al.*, 2011).
- À l'inverse, un faible taux d'adsorption, ou la réduction de la taille des cellules bactériennes en phase stationnaire tardive, qui diminue la probabilité d'infection et ralentit la propagation des virions, conduisant également à des plages de petite taille (Panteleev et *al.*, 2025).
- Les caractéristiques propres aux souches hôtes multirésistantes utilisées : chez *Klebsiella pneumoniae* notamment, la présence d'une capsule polysaccharidique peut réduire la propagation des virions dans le tapis bactérien (Pan et *al.*, 2017) .
- La dynamique de croissance bactérienne au cours de l'incubation : pendant les 18–24 h de la double couche agar, les bactéries passent progressivement de la phase exponentielle à la phase stationnaire, et la plupart des phages ne pouvant infecter efficacement que des bactéries en croissance active, la taille de la plage se trouve limitée dans le temps dès que la croissance bactérienne ralentit (Santos et *al.*, 2009).

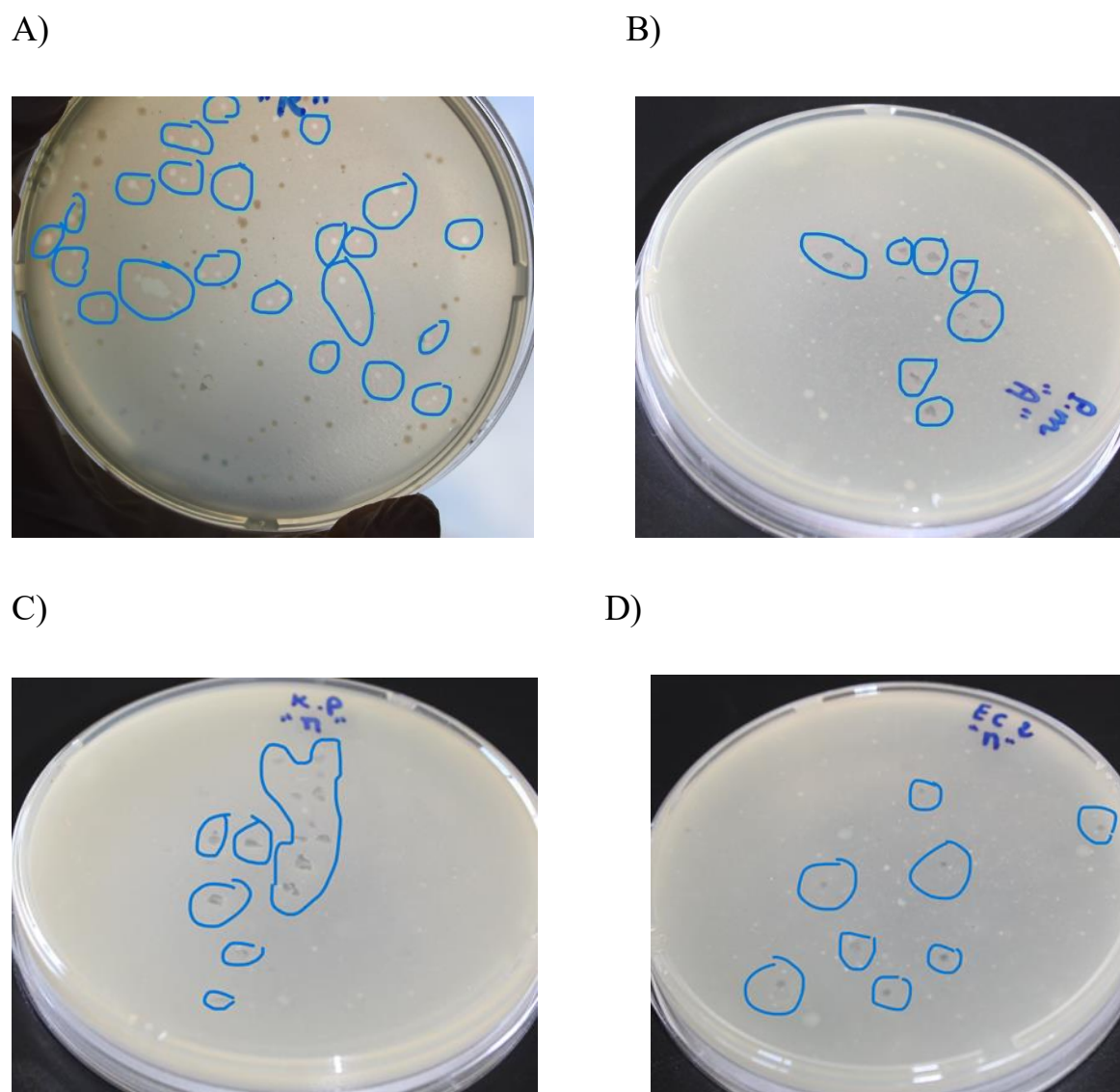


Figure 12 : Plages de lyse observées par la méthode de double couche d'agar.

- (A) Activité lytique contre *Proteus mirabilis* pour l'échantillon A
- (B) Activité lytique contre *Escherichia coli* pour l'échantillon K
- (C) Activité lytique contre *Escherichia coli* pour l'échantillon M
- (D) Activité lytique contre *Klebsiella pneumoniae* pour l'échantillon M

Le faible diamètre des plages de lyse observées étaient nettes et bien délimitées, une morphologie généralement associée à des phages strictement lytiques et à une destruction efficace des bactéries hôtes (Kutter et *al.*, 2010). Cette caractéristique constitue un critère favorable en perspective d'applications thérapeutiques. Par ailleurs, contrairement à certaines

études rapportant des plages plus larges (Lin et *al.*, 2017), les résultats obtenus suggèrent une activité lytique réelle, possiblement liée à une diffusion plus limitée des phages dans la gélose (Kropinski et *al.*, 2009; Clokie et *al.*, 2011).

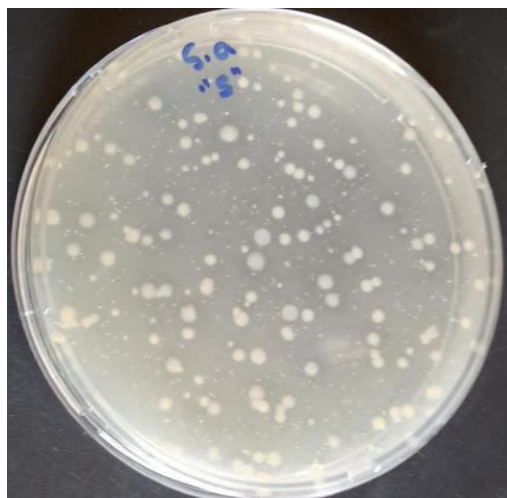
L'activité observée contre *Proteus mirabilis* dans l'échantillon A (Figure12(A)) s'inscrit en cohérence avec des travaux antérieurs ayant mis en évidence l'efficacité de phages lytiques dirigés contre cette espèce. À ce titre, Hao et *al.* (2023) ont rapporté que le bactériophage Q29 présentait une activité lytique sur une proportion notable de souches multirésistantes de *P. mirabilis*, suggérant un spectre d'hôte relativement étendu et un potentiel thérapeutique intéressant.

Concernant *Escherichia coli* (Figure12(B, C)) l'activité lytique mise en évidence dans notre étude est cohérente avec plusieurs travaux récents. Zhou et *al.* (2025) ont isolé un bactériophage à ADN double brin circulaire, Henu8, présentant une forte capacité lytique vis-à-vis de souches d'*E. coli*, avec une adsorption élevée et la formation de plages claires entourées d'un halo translucide étroit. Molina et *al.* (2020) nuancent toutefois ce constat : si dix phages nouvellement isolés présentaient un large spectre, capables de lyser au moins 50 % des hôtes testés, certaines souches d'*E. coli* sont restées réfractaires à l'ensemble des phages de référence ou environnementaux testés, illustrant la variabilité de sensibilité qui peut exister au sein même d'une espèce sensible.

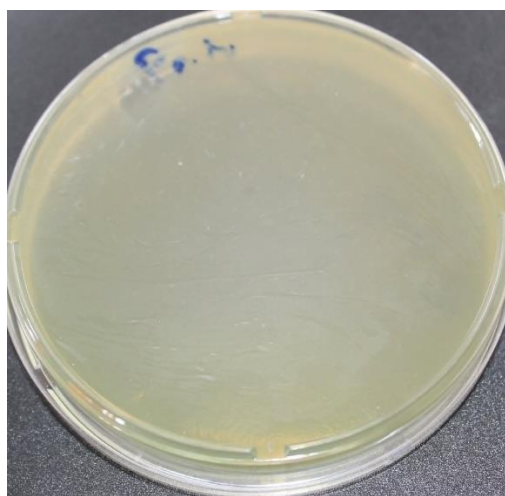
L'activité lytique observée contre *Klebsiella pneumoniae* (Figure12(D)) est également cohérente avec les résultats de Gan et *al.* (2022), qui ont démontré l'efficacité de certains bactériophages contre des souches multirésistantes de cette bactérie, confirmant l'intérêt croissant de la phagothérapie comme approche prometteuse dans la lutte contre les infections à *K. pneumoniae*.

L'absence de plages de lyse observée pour certains échantillons ne signifie pas nécessairement l'absence de bactériophages. Elle peut résulter de la forte spécificité des interactions phage-bactérie, la plupart des phages ne pouvant infecter qu'un nombre limité de souches bactériennes (Hyman et Abedon, 2010). De plus, certains mécanismes de défense bactériens, tels que les systèmes CRISPR-Cas ou les prophages, peuvent empêcher la réplication virale et la formation de plages visibles (Hampton et *al.*, 2020).

A)



B)



C)

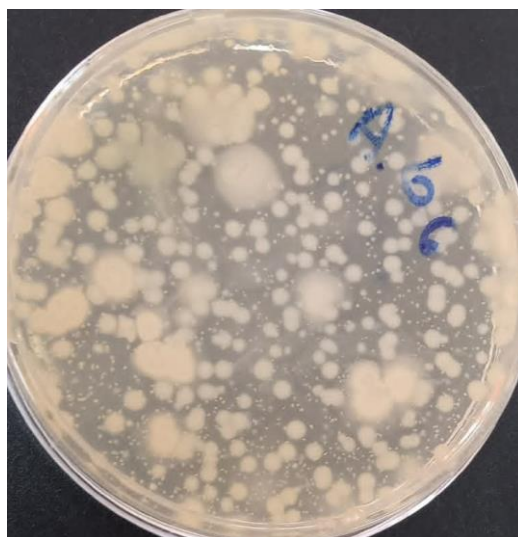


Figure 13 : Absence de plages de lyse observée par la méthode de double couche d'agar pour les échantillons environnementaux négatifs.

(A) Absence de plages de lyse de l'échantillon S (eaux usées) sur tapis de *Staphylococcus aureus*

(B) Absence de plages de lyse de l'échantillon H (eau thermique) sur tapis de *Pseudomonas aeruginosa*

Ces observations pourraient également s'expliquer par la présence de phages tempérés, capables d'alterner entre un cycle lytique et un cycle lysogénique. Dans ce dernier cas, le génome phagique s'intègre dans celui de la bactérie hôte sous forme de prophage sans provoquer immédiatement sa lyse, ce qui peut entraîner une absence ou une faible intensité de l'activité lytique et empêcher la formation de plages visibles (Figure 12) (Howard-Varona et *al.*, 2017; Gummalla et *al.*, 2023).

Par ailleurs, aucune activité lytique n'a été observée contre *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*, quel que soit le type d'échantillon analysé.

Chez *P. aeruginosa* (Figure 12(A)) en particulier, ses multiples modes de motilité, sa capacité à communiquer par quorum sensing, à former des biofilms résistants et ses nombreux mécanismes d'adaptation en font un pathogène particulièrement difficile à cibler, idéalement adapté à la transmission nosocomiale (Sharma et *al.*, 2021), ce qui peut contribuer à masquer ou à inhiber l'activité des phages présents dans nos filtrats environnementaux (Hyman et Abedon, 2010; Hampton et *al.*, 2020).

Pourcel et *al.* (2020) confirment cette hétérogénéité de réponse à l'échelle d'une large collection clinique : sur plus de 200 souches de *P. aeruginosa* testées contre plusieurs phages, environ 9,5 % n'étaient lysées par aucun d'entre eux, tandis que d'autres isolats montraient une sensibilité à plusieurs phages, traduisant une forte variabilité de la réponse phagique selon les souches. Cette absence d'activité contre *P. aeruginosa* dans nos conditions expérimentales ne remet toutefois pas en cause le potentiel thérapeutique des phages contre cette bactérie. Ferry et *al.* (2022) ont décrit la guérison complète d'un patient présentant un abcès rachidien causé par une souche panrésistante de *P. aeruginosa*, traitée à l'aide d'un cocktail de phages personnalisé associé à la chirurgie et à l'antibiothérapie. Ces résultats cliniques contrastent avec l'absence d'activité observée dans notre étude et suggèrent que celle-ci reflète davantage une limite de spécificité entre nos isolats environnementaux et les souches testées qu'une incapacité générale des phages à cibler cette espèce.

Concernant *Staphylococcus aureus* (Figure 12(B)), les études rapportent des résultats prometteurs pour la phagothérapie, notamment dans le traitement des infections du pied diabétique, où elle contribue à réduire la charge bactérienne et à favoriser la cicatrisation dans des modèles expérimentaux et certains cas cliniques, avec une bonne tolérance lorsqu'elle est associée aux traitements classiques (Plumet et *al.*, 2025).

Moller et *al.* (2019) précisent toutefois que le spectre d'hôte des phages de *Staphylococcus* est fortement influencé par de nombreux mécanismes de résistance bactérienne, notamment l'altération des récepteurs de surface et les systèmes de défense intracellulaires, des mécanismes variables d'une souche à l'autre qui limitent la prédictibilité de la sensibilité des isolats. Ces éléments suggèrent que l'absence d'activité observée contre *S. aureus* dans notre étude ne remet pas en cause le potentiel thérapeutique global de la phagothérapie contre cette bactérie, mais reflète plutôt la spécificité étroite des phages environnementaux isolés.

De même, pour *Acinetobacter baumannii* (Figure 12(C)), Choi et *al.* (2024) rapportent que certains bactériophages ont montré une activité contre des isolats multirésistants, mais que leur spectre lytique restait limité à une fraction seulement des souches étudiées. Cette variabilité de sensibilité, déjà documentée dans la littérature, peut expliquer l'absence d'activité observée contre les isolats testés dans notre étude, sans pour autant exclure l'existence de phages actifs contre cette espèce dans d'autres conditions d'isolement.

L'absence totale d'activité phagique dans l'échantillon d'eau thermale (H) peut être liée aux conditions extrêmes de ce milieu. Les températures élevées et la forte minéralisation peuvent altérer les protéines de la capsid et celles impliquées dans la reconnaissance de l'hôte, réduisant ainsi la capacité infectieuse des phages non thermophiles (Greenrod et *al.*, 2024). L'adsorption et les premières étapes du cycle phagique peuvent alors être fortement perturbées (Prangishvili, 2013; Greenrod et *al.*, 2024). Dans les conditions de notre étude, cette observation suggère que l'eau thermale du hammam Ouarka ne constitue pas une source favorable pour l'isolement de phages actifs contre les bactéries multirésistantes testées.

L'absence de lyse dans l'échantillon de sol (B) peut s'expliquer par la structure complexe de ce milieu, qui limite les contacts entre phages et bactéries et favorise l'adsorption des particules virales sur les particules solides, réduisant ainsi leur récupération lors de l'isolement (Williamson et *al.*, 2005). Par ailleurs, une proportion importante des phages du sol peut persister sous forme lysogénique sans provoquer de lyse détectable dans les conditions expérimentales classiques (Kimura et *al.*, 2008; Williamson et *al.*, 2017).

Bien que les eaux usées soient reconnues comme des réservoirs importants de bactériophages (Schwarz et Mathieu, 2024), l'échantillon S n'a révélé aucune activité lytique (Figure 12). Cette observation peut être liée à une faible concentration de phages infectieux dans cet échantillon spécifique, ou à une incompatibilité avec les souches bactériennes utilisées.

Lin et *al.* (2017) ont d'ailleurs montré que l'isolement direct peut parfois conduire à des résultats négatifs, et qu'une étape préalable d'enrichissement permet souvent de révéler la présence de phages qui seraient autrement indétectables.

Dans l'ensemble, ces résultats négatifs semblent davantage refléter les contraintes liées à la spécificité phage-hôte, aux mécanismes de résistance bactérienne et aux caractéristiques environnementales des échantillons, qu'une absence réelle de bactériophages dans les milieux étudiés.

Le phagogramme réalisé sur les quatre souches bactériennes n'a révélé aucune zone de lyse visible (zones claires), et ce pour l'ensemble des échantillons testés. Les tapis bactériens sont apparus homogènes et continus sur toute la surface des boîtes, sans aucune plage de lyse visible à l'œil nu (Figure 14).

La figure 14 illustre des exemples représentatifs du phagogramme montrant l'absence de zones de lyse pour les échantillons K et S, confirmant le caractère négatif des résultats obtenus pour l'ensemble des souches testées

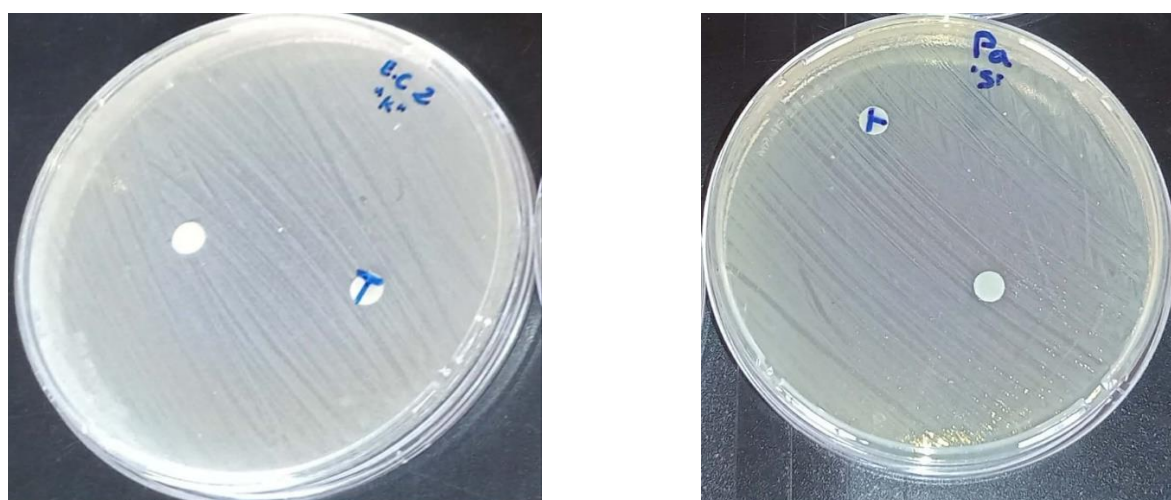


Figure 14 : Résultats du phagogramme sur tapis bactérien de *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* après 24h d'incubation à 37°C.

Une discordance marquée a été observée entre les résultats positifs obtenus par la méthode de double couche d'agar et les résultats négatifs issus du phagogramme par diffusion sur disque. Cette divergence s'explique principalement par les différences de sensibilité inhérentes à ces deux approches expérimentales.

La méthode de diffusion sur disque repose sur la migration passive des particules phagiques à travers la gélose solide, un processus fortement limité par la taille des virions et la structure du réseau d'agar. À ce titre, Skusa et *al.* (2022) ont montré qu'une concentration élevée de phages généralement supérieure à 10^6 PFU/mL est requise pour induire une zone de lyse détectable par cette technique. Par ailleurs, la stabilité de certains phages peut être altérée lors du séchage sur les disques, ce qui contribue à réduire davantage la probabilité d'observer une lyse mesurable par le phagogramme (Panteleev et *al.*, 2025).

À l'inverse, la méthode de double couche permet une mise en contact directe et homogène des bactériophages avec les bactéries hôtes au sein de la gélose molle, favorisant l'adsorption, la réplication et la lyse bactérienne même en présence de faibles titres phagiques. Des concentrations inférieures à 10^3 PFU/mL, insuffisantes pour être détectées par diffusion sur disque, peuvent ainsi conduire à la formation de plages de lyse visibles en double couche agar (Mayer et *al.*, 2008).

Ainsi, l'absence de zones de lyse lors du phagogramme ne doit pas être interprétée comme une absence d'activité phagique, mais reflète plutôt les limites méthodologiques de cette technique par rapport à la sensibilité supérieure de la double couche d'agar (Ács et *al.*, 2020; Skusa et *al.*, 2022).

Dans l'ensemble, nos résultats montrent que les bactériophages isolés à partir des eaux usées de la région de Tlemcen présentent des profils d'activité variables selon les bactéries testées. La comparaison avec les études confirme que cette diversité de réponses est fréquemment observée et reflète la complexité des interactions entre phages et bactéries. Ces observations apportent ainsi une contribution supplémentaire à la compréhension du potentiel des phages environnementaux et de leur intérêt dans la lutte contre les bactéries multirésistantes.

- Résultats de préparation des lysats phagiques à partir des plages de lyse :

Les lysats phagiques ont été préparés à partir des plages de lyse obtenues lors du criblage par la technique de double couche d'agar, pour l'ensemble des quatre souches bactériennes ayant présenté un résultat positif. Le résultat est illustré dans la Figure 15.



Figure 15 : Résultat de la préparation des lysats phagiques

- Résultat de conservation :



Figure 16 : Conservation des lysats phagiques dans les micro-tubes stériles.

Conclusion

L'essor des bactéries multirésistantes et la diminution de l'efficacité des antibiotiques constituent aujourd'hui une préoccupation majeure de santé publique à l'échelle mondiale (Murray et *al.*, 2022).

Face à l'augmentation des échecs thérapeutiques, la recherche d'alternatives efficaces est devenue indispensable. Dans ce contexte, les bactériophages, virus capables d'infecter et de détruire spécifiquement les bactéries, apparaissent comme une approche prometteuse pour compléter ou remplacer certains traitements antibiotiques conventionnels (Kortright et *al.*, 2019).

Au cours de ce travail, nous avons mis en évidence la présence de bactériophages actifs dans certains écosystèmes de la région de Tlemcen, en particulier dans les eaux usées, confirmant ainsi que ces milieux constituent des réservoirs privilégiés de phages capables de cibler efficacement des bactéries pathogènes (Aghaee et *al.*, 2021). Les phages isolés ont présenté une activité lytique contre plusieurs Entérobactéries multirésistantes, notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis*.

Les plages de lyse observées, bien que généralement de petite taille, étaient claires et bien délimitées, ce qui traduit une activité lytique efficace et une destruction localisée des bactéries hôtes.

À l'inverse, nous n'avons observé aucune activité lytique contre *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*. De même, les échantillons issus du sol et de l'eau thermale n'ont pas permis de révéler la présence de phages actifs dans les conditions expérimentales employées. Ces résultats rappellent que l'isolement des bactériophages dépend fortement de la spécificité phage-hôte, des caractéristiques propres aux environnements étudiés ainsi que des méthodes utilisées pour leur récupération et leur détection (Hyman et Abedon, 2010; Williamson et *al.*, 2005).

Dans notre étude, les eaux usées de la région de Tlemcen se sont révélées plus favorables à l'isolement de bactériophages actifs que les échantillons de sol et d'eau thermale prélevés dans la wilaya de Naâma, soulignant l'influence du milieu d'origine sur la détection de l'activité phagique.

La poursuite de ces travaux vise à valoriser le potentiel des bactériophages comme alternative thérapeutique face à l'antibiorésistance. Les perspectives principales sont les suivantes :

- La caractérisation morphologique et moléculaire des phages isolés afin de confirmer leur nature lytique.
- L'évaluation élargie de leur spectre d'hôte sur des souches cliniques multirésistantes.
- L'étude de leur efficacité in vivo et sur les biofilms bactériens.
- L'exploration d'approches combinées, notamment les cocktails de phages et leur association avec les antibiotiques.

À terme, face à l'impasse thérapeutique que représente l'antibiorésistance à l'échelle mondiale, il devient nécessaire de passer de la recherche fondamentale à des applications concrètes, afin de permettre le développement de la phagothérapie comme solution biologique au sein de notre système de santé national, au bénéfice direct des patients dans notre pays.

Références bibliographiques

- Abedon, S. T., García, P., Mullany, P., & Aminov, R. (2017). Editorial : Phage Therapy: Past, Present and Future. *Frontiers in Microbiology*, 8, 981. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00981>
- Abedon, S. T., & Yin, J. (2009). Bacteriophage Plaques : Theory and Analysis. In M. R. J. Clokie & A. M. Kropinski (Éds.), *Bacteriophages* (Vol. 501, p. 161-174). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_17
- Ackermann, H.-W. (2003). Bacteriophage observations and evolution. *Research in Microbiology*, 154(4), 245-251. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(03\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(03)00067-6)
- Ács, N., Gambino, M., & Brøndsted, L. (2020). Bacteriophage Enumeration and Detection Methods. *Frontiers in Microbiology*, 11, 594868. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.594868>
- Adriaenssens, E., & Brister, J. R. (2017). How to Name and Classify Your Phage : An Informal Guide. *Viruses*, 9(4), 70. <https://doi.org/10.3390/v9040070>
- Aghaee, B. L., Mirzaei, M. K., Alikhani, M. Y., & Mojtahedi, A. (2021). Sewage and sewage-contaminated environments are the most prominent sources to isolate phages against *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiology*, 21(1), 132. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02197-z>
- Alaaeddine, R., Al-Mohammed, N. H., Pillai, J., & Fayyad-Kazan, M. (2025). Phage therapy for Drug-Resistant infections : Mechanisms, Evidence, and emerging clinical strategies. *Molecular Biology Reports*, 52(1), 1051. <https://doi.org/10.1007/s11033-025-11173-z>
- AL-Balawy, Z. (2025). Bacteriophages Importance and Biotechnological Applications in Different Fields : A Review. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences (PJLSS)*, 23. <https://doi.org/10.57239/PJLSS-2025-23.1.00466>
- Alkhulaifi, M. M. (2017). Using Phage's to Exterminate Biofilms. *Journal of Medical Microbiology & Diagnosis*, 06(03). <https://doi.org/10.4172/2161-0703.1000259>
- Anastassopoulou, C., Feros, S., Petsimeri, A., Gioula, G., & Tsakris, A. (2024). Phage-Based Therapy in Combination with Antibiotics : A Promising Alternative against Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens. *Pathogens*, 13(10), 896. <https://doi.org/10.3390/pathogens13100896>

- Anju, V. T., Siddhardha, B., & Dyavaiah, M. (2020). Enterobacter Infections and Antimicrobial Drug Resistance. In B. Siddhardha, M. Dyavaiah, & A. Syed (Éds.), *Model Organisms for Microbial Pathogenesis, Biofilm Formation and Antimicrobial Drug Discovery* (p. 175-194). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1695-5_11
- Ansaldi, M., Boulanger, P., Brives, C., Debarbieux, L., Froissart, R., Gandon, S., Petit, M.-A., Rocha, E., Torres-Barceló, C., Dufour, N., Hénaff, C. L., & France, L. réseau B. (2020). Les applications antibactériennes des bactériophages. *Virologie*, 24(1), 23-36. <https://doi.org/10.1684/vir.2019.0805>
- Arndt, D., Grant, J. R., Marcu, A., Sajed, T., Pon, A., Liang, Y., & Wishart, D. S. (2016). PHASTER : A better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Research*, 44(W1), W16-21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw387>
- Banerjee, B., Halder, S., Kumar, S., Chaddha, M., Ali, R., Mohite, R., Bano, M., & Pandey, R. (2025). *Genomic insights into bacteriophages : A new frontier in AMR detection and phage therapy*. <https://dx.doi.org/10.1093/bfpg/elaf011>
- Batinovic, S., Wassef, F., Knowler, S. A., Rice, D. T. F., Stanton, C. R., Rose, J., Tucci, J., Nittami, T., Vinh, A., Drummond, G. R., Sobey, C. G., Chan, H. T., Seviour, R. J., Petrovski, S., & Franks, A. E. (2019). Bacteriophages in Natural and Artificial Environments. *Pathogens*, 8(3), 100. <https://doi.org/10.3390/pathogens8030100>
- Belay, W. Y., Getachew, M., Tegegne, B. A., Teffera, Z. H., Dagne, A., Zeleke, T. K., Abebe, R. B., Gedif, A. A., Fenta, A., Yirdaw, G., Tilahun, A., & Aschale, Y. (2024). Mechanism of antibacterial resistance, strategies and next-generation antimicrobials to contain antimicrobial resistance : A review. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1444781. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1444781>
- Bianchessi, L., De Bernardi, G., Vigorelli, M., Dall'Ara, P., & Turin, L. (2024). Bacteriophage Therapy in Companion and Farm Animals. *Antibiotics*, 13(4), 294. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13040294>
- Bichet, M. C., Patwa, R., & Barr, J. J. (2021). Protocols for studying bacteriophage interactions with in vitro epithelial cell layers. *STAR Protocols*, 2(3), 100697. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2021.100697>

- Birlutiu, V., & Birlutiu, R.-M. (2025). An Overview of the Epidemiology of Multidrug Resistance and Bacterial Resistance Mechanisms: What Solutions Are Available? A Comprehensive Review. *Microorganisms*, 13(9), 2194. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13092194>
- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews. Microbiology*, 13(1), 42-51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
- Bonilla, N., Rojas, M. I., Netto Flores Cruz, G., Hung, S.-H., Rohwer, F., & Barr, J. J. (2016). Phage on tap-a quick and efficient protocol for the preparation of bacteriophage laboratory stocks. *PeerJ*, 4, e2261. <https://doi.org/10.7717/peerj.2261>
- Buttimer, C., McAuliffe, O., Ross, R. P., Hill, C., O'Mahony, J., & Coffey, A. (2017). Bacteriophages and Bacterial Plant Diseases. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00034>
- Choi, Y.-J., Kim, S., Shin, M., & Kim, J. (2024). Isolation and Characterization of Novel Bacteriophages to Target Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antibiotics*, 13(7), 610. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13070610>
- Clokier, M. R. J., Millard, A. D., Letarov, A. V., & Heaphy, S. (2011). Phages in nature. *Bacteriophage*, 1(1), 31-45. <https://doi.org/10.4161/bact.1.1.14942>
- Comeau, A. M., Tétart, F., Trojet, S. N., Prère, M.-F., & Krisch, H. M. (2008). La « synergie phages-antibiotiques » : Un enjeu pour la phagothérapie. *médecine/sciences*, 24(5), 449-451. <https://doi.org/10.1051/medsci/2008245449>
- Costa, P., Pereira, C., Romalde, J. L., & Almeida, A. (2024). A game of resistance : War between bacteria and phages and how phage cocktails can be the solution. *Virology*, 599, 110209. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2024.110209>
- Courvalin, P. (1996). The Garrod Lecture Evasion of antibiotic action by bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 37(5), 855-869. <https://doi.org/10.1093/jac/37.5.855>
- Cui, L., Watanabe, S., Miyanaga, K., Kiga, K., Sasahara, T., Aiba, Y., Tan, X.-E., Veerananarayanan, S., Thititananpakorn, K., Nguyen, H. M., & Wannigama, D. L. (2024). A

- Comprehensive Review on Phage Therapy and Phage-Based Drug Development. *Antibiotics*, 13(9), 870. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13090870>
- Davey, P., Marwick, C. A., Scott, C. L., Charani, E., McNeil, K., Brown, E., Gould, I. M., Ramsay, C. R., & Michie, S. (2017). Interventions to improve antibiotic prescribing practices for hospital inpatients. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2017(2), CD003543. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003543.pub4>
- De Oliveira, D. M. P., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N. A., Schembri, M. A., Beatson, S. A., Paterson, D. L., & Walker, M. J. (2020). Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(3), e00181-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00181-19>
- Dedrick, R. M., Smith, B. E., Cristinziano, M., Freeman, K. G., Jacobs-Sera, D., Belessis, Y., Whitney Brown, A., Cohen, K. A., Davidson, R. M., van Duin, D., Gainey, A., Garcia, C. B., Robert George, C. R., Haidar, G., Ip, W., Iredell, J., Khatami, A., Little, J. S., Malmivaara, K., ... Hatfull, G. F. (2023). Phage Therapy of Mycobacterium Infections : Compassionate Use of Phages in 20 Patients With Drug-Resistant Mycobacterial Disease. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 76(1), 103-112. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac453>
- Delpy, L., Astbury, C. C., Aenishaenslin, C., Ruckert, A., Penney, T. L., Wiktorowicz, M., Ciss, M., Benko, R., & Bordier, M. (2024). Integrated surveillance systems for antibiotic resistance in a One Health context : A scoping review. *BMC Public Health*, 24, 1717. <https://doi.org/10.1186/s12889-024-19158-6>
- Deshpande Kaistha, S., & Devi Umrao, P. (2016). Bacteriophage for Mitigation of Multiple Drug Resistant Biofilm Forming Pathogens. *Recent Patents on Biotechnology*, 10(2), 184-194. <https://doi.org/10.2174/1872208310666160919122155>
- Diallo, K., & Dublanchet, A. (2022). Benefits of Combined Phage–Antibiotic Therapy for the Control of Antibiotic-Resistant Bacteria : A Literature Review. *Antibiotics*, 11(7), 839. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070839>
- Doud, M. B., Robertson, J. M., & Strathdee, S. A. (2025). Optimizing phage therapy with artificial intelligence : A perspective. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15, 1611857. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1611857>

- Dublanchet, A. (2017). La phagothérapie : Des virus pour combattre les infections [Livre]. *Éditions Favre*. <https://www.editionsfavre.com/livres/la-phagothérapie-des-virus-pour-combattre-les-infections/>
- Dublanchet, A., & Fruciano, E. (2008). Brève histoire de la phagothérapie. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 38(8), 415-420. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2008.06.016>
- Duda, R. L., & Huet, A. (2016). Bacteriophages : Tailed. In Wiley, *Encyclopedia of Life Sciences* (1^{re} éd., p. 1-8). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000782.pub3>
- E, S., & Gummadi, S. N. (2024). Advances in the applications of Bacteriophages and phage products against food-contaminating bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 50(5), 702-727. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2023.2271098>
- E. White, H., & V. Orlova, E. (2020). Bacteriophages : Their Structural Organisation and Function. In R. Savva (Éd.), *Bacteriophages—Perspectives and Future*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85484>
- Elois, M. A., da Silva, R., Pilati, G. V. T., Rodríguez-Lázaro, D., & Fongaro, G. (2023). Bacteriophages as Biotechnological Tools. *Viruses*, 15(2), 349. <https://doi.org/10.3390/v15020349>
- Fathima, B., & Archer, A. C. (2021). Bacteriophage therapy : Recent developments and applications of a renaissance weapon. *Research in Microbiology*, 172(6), 103863. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2021.103863>
- Ferry, T., Kolenda, C., Laurent, F., Leboucher, G., Merabischvilli, M., Djebara, S., Gustave, C.-A., Perpoint, T., Barrey, C., Pirnay, J.-P., & Resch, G. (2022). Personalized bacteriophage therapy to treat pandrug-resistant spinal *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Nature Communications*, 13(1), 4239. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31837-9>
- Fortier, L.-C., & Moineau, S. (2009). Phage Production and Maintenance of Stocks, Including Expected Stock Lifetimes. In M. R. J. Clokie & A. M. Kropinski (Éds.), *Bacteriophages* (Vol. 501, p. 203-219). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_19
- Gaborieau, B., Vaysset, H., Tesson, F., Charachon, I., Dib, N., Bernier, J., Dequidt, T., Georjon, H., Clermont, O., Hersen, P., Debarbieux, L., Ricard, J.-D., Denamur, E., &

- Bernheim, A. (2024). Prediction of strain level phage–host interactions across the *Escherichia* genus using only genomic information. *Nature Microbiology*, 9(11), 2847-2861. <https://doi.org/10.1038/s41564-024-01832-5>
- Gallet, R., Kannoly, S., & Wang, I.-N. (2011). Effects of bacteriophage traits on plaque formation. *BMC Microbiology*, 11, 181. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-181>
- Gallina, A., Gallina, M., Cona, A., Vitulo, P., Mularoni, A., & Provenzani, A. (2026). Phage Therapy at the Crossroads Between Clinical Promise and Regulatory Challenge. *Pharmaceuticals*, 19(1), 162. <https://doi.org/10.3390/ph19010162>
- Gan, L., Fu, H., Tian, Z., Cui, J., Yan, C., Xue, G., Fan, Z., Du, B., Feng, J., Zhao, H., Feng, Y., Xu, Z., Fu, T., Cui, X., Zhang, R., Du, S., Liu, S., Zhou, Y., Zhang, Q., ... Yuan, J. (2022). Bacteriophage Effectively Rescues Pneumonia Caused by Prevalent Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in the Early Stage. *Microbiology Spectrum*, 10(5), e02358-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02358-22>
- García-Cruz, J. C., Huelgas-Méndez, D., Jiménez-Zúñiga, J. S., Rebollar-Juárez, X., Hernández-Garnica, M., Fernández-Presas, A. M., Husain, F. M., Alenazy, R., Alqasmi, M., Albalawi, T., Alam, P., & García-Contreras, R. (2023). Myriad applications of bacteriophages beyond phage therapy. *PeerJ*, 11, e15272. <https://doi.org/10.7717/peerj.15272>
- Ghazaei, C. (2026). The role of bacteriophages and CRISPR-Cas in combating multidrug-resistant bacteria. *Natural Products and Bioprospecting*, 16(1), 14. <https://doi.org/10.1007/s13659-025-00567-y>
- Golec, P., Dąbrowski, K., Hejnowicz, M. S., Gozdek, A., Łoś, J. M., Węgrzyn, G., Łobocka, M. B., & Łoś, M. (2011). A reliable method for storage of tailed phages. *Journal of Microbiological Methods*, 84(3), 486-489. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.01.007>
- Göller, P. C., Haro-Moreno, J. M., Rodriguez-Valera, F., Loessner, M. J., & Gómez-Sanz, E. (2020). Uncovering a hidden diversity: Optimized protocols for the extraction of dsDNA bacteriophages from soil. *Microbiome*, 8(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-0795-2>
- Goncalves, E. K., Penwell, W. F., & Fiester, S. E. (2025). Combating the Growing Threat of *Acinetobacter baumannii* Resistance. *Antibiotics*, 14(7), 694. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14070694>

- Gordillo Altamirano, F. L., & Barr, J. J. (2019). Phage Therapy in the Postantibiotic Era. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(2), e00066-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00066-18>
- Greenrod, S. T. E., Cazares, D., Johnson, S., Hector, T. E., Stevens, E. J., MacLean, R. C., & King, K. C. (2024). Warming alters life-history traits and competition in a phage community. *Applied and Environmental Microbiology*, 90(5), e0028624. <https://doi.org/10.1128/aem.00286-24>
- Gummalla, V. S., Zhang, Y., Liao, Y.-T., & Wu, V. C. H. (2023). The Role of Temperate Phages in Bacterial Pathogenicity. *Microorganisms*, 11(3), 541. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030541>
- Guo, J., Bolduc, B., Zayed, A. A., Varsani, A., Dominguez-Huerta, G., Delmont, T. O., Pratama, A. A., Gazitúa, M. C., Vik, D., Sullivan, M. B., & Roux, S. (2021). VirSorter2 : A multi-classifier, expert-guided approach to detect diverse DNA and RNA viruses. *Microbiome*, 9, 37. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00990-y>
- Guo, Z., Yuan, M., & Chai, J. (2024). Mini review advantages and limitations of lytic phages compared with chemical antibiotics to combat bacterial infections. *Heliyon*, 10(14), e34849. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e34849>
- Halawa, E. M., Fadel, M., Al-Rabia, M. W., Behairy, A., Nouh, N. A., Abdo, M., Olga, R., Fericean, L., Atwa, A. M., El-Nablaway, M., & Abdeen, A. (2023). Antibiotic action and resistance : Updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1305294. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1305294>
- Hall, C. W., & Mah, T.-F. (2017). Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(3), 276-301. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux010>
- Hampton, H. G., Watson, B. N. J., & Fineran, P. C. (2020). The arms race between bacteria and their phage foes. *Nature*, 577(7790), 327-336. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1894-8>
- Hao, X., Cen, X., He, M., Wen, Y., & Zhang, H. (2023). Isolation, biological and whole genome characteristics of a *Proteus mirabilis* bacteriophage strain. *BMC Microbiology*, 23(1), 215. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02960-4>

- Haq, K., Figgitt, M., & Lee, D. (2024). Phage Therapy Against Antibiotic-Resistant and Multidrug-Resistant Infections Involving Nonhealing Wounds and Prosthetic Joint Infections Associated With Biofilms : A Mini-Review. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology = Journal Canadien des Maladies Infectieuses et de la Microbiologie Médicale*, 2024, 6252415. <https://doi.org/10.1155/2024/6252415>
- Ho, C. S., Wong, C. T. H., Aung, T. T., Lakshminarayanan, R., Mehta, J. S., Rauz, S., McNally, A., Kintses, B., Peacock, S. J., De La Fuente-Nunez, C., Hancock, R. E. W., & Ting, D. S. J. (2025). Antimicrobial resistance : A concise update. *The Lancet Microbe*, 6(1), 100947. <https://doi.org/10.1016/j.lanmic.2024.07.010>
- Honceriu, I. (2022). Acquired Antibiotic Resistance. *Journal of Experimental and Molecular Biology*. <https://doi.org/10.47743/jemb-2022-66>
- Howard-Varona, C., Hargreaves, K. R., Abedon, S. T., & Sullivan, M. B. (2017). Lysogeny in nature : Mechanisms, impact and ecology of temperate phages. *The ISME Journal*, 11(7), 1511-1520. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.16>
- Hyman, P., & Abedon, S. T. (2010). Bacteriophage host range and bacterial resistance. *Advances in Applied Microbiology*, 70, 217-248. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(10\)70007-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(10)70007-1)
- Ibrahim, R., & Aranjani, J. M. (2026). Bacterial defense mechanisms against bacteriophages : An evolutionary arms race. *Archives of Microbiology*, 208(5), 229. <https://doi.org/10.1007/s00203-026-04785-x>
- Jia, H.-J., Jia, P.-P., Yin, S., Bu, L.-K., Yang, G., & Pei, D.-S. (2023). Engineering bacteriophages for enhanced host range and efficacy : Insights from bacteriophage-bacteria interactions. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1172635>
- Kalkir, F., & Simsek, O. (2026). Mechanisms of Action and Resistance of Antibiotics. *Istanus Journal on Applied Biological Sciences*, 2(1). <https://doi.org/10.64012/istanusjabs.2026.2.1.e1>
- Kaneko, T., Nakatsuka, K., & Tsuneda, S. (2026). Phage cocktails : State-of-the-art technologies and strategies for effective design. *FEMS Microbiology Reviews*, 50, fuaf061. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaf061>

- Kapoor, A., Mudaliar, S. B., Bhat, V. G., Chakraborty, I., Prasad, A. S. B., & Mazumder, N. (2024). Phage therapy : A novel approach against multidrug-resistant pathogens. *3 Biotech*, *14*(10), 256. <https://doi.org/10.1007/s13205-024-04101-8>
- Khatami, A., Foley, D. A., Warner, M. S., Barnes, E. H., Peleg, A. Y., Li, J., Stick, S., Burke, N., Lin, R. C. Y., Warning, J., Snelling, T. L., Tong, S. Y. C., & Iredell, J. (2022). Standardised treatment and monitoring protocol to assess safety and tolerability of bacteriophage therapy for adult and paediatric patients (STAMP study) : Protocol for an open-label, single-arm trial. *BMJ Open*, *12*(12), e065401. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2022-065401>
- Kim, M. K., Suh, G. A., Cullen, G. D., Rodriguez, S. P., Dharmaraj, T., Chang, T. H. W., Li, Z., Chen, Q., Green, S. I., Lavigne, R., Pirnay, J.-P., Bollyky, P. L., & Sacher, J. C. (2025). Bacteriophage therapy for multidrug-resistant infections : Current technologies and therapeutic approaches. *The Journal of Clinical Investigation*, *135*(5). <https://doi.org/10.1172/JCI187996>
- Kimura, M., Jia, Z.-J., Nakayama, N., & Asakawa, S. (2008). Ecology of viruses in soils : Past, present and future perspectives. *Soil Science and Plant Nutrition*, *54*(1), 1-32. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2007.00197.x>
- Kolenda, C., Jourdan, J., Roussel-Gaillard, T., Medina, M., & Laurent, F. (s. d.). *Phage susceptibility testing methods or 'phagograms' : Where do we stand and where should we go?* Consulté 20 mai 2026, à l'adresse <https://dx.doi.org/10.1093/jac/dkae325>
- Kortright, K. E., Chan, B. K., Koff, J. L., & Turner, P. E. (2019). Phage Therapy : A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria. *Cell Host & Microbe*, *25*(2), 219-232. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.014>
- Koskella, B., & Brockhurst, M. A. (2014). Bacteria-phage coevolution as a driver of ecological and evolutionary processes in microbial communities. *FEMS Microbiology Reviews*, *38*(5), 916-931. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12072>
- Kropinski, A. M., Mazzocco, A., Waddell, T. E., Lingohr, E., & Johnson, R. P. (2009). Enumeration of Bacteriophages by Double Agar Overlay Plaque Assay. In M. R. J. Clokie & A. M. Kropinski (Éds.), *Bacteriophages* (Vol. 501, p. 69-76). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_7

- Kuang, H.-F., Jiang, X.-Y., Tie, S.-Y., Lian, K., Hao, M.-Y., Xu, H., Huang, X., Yang, Y., Guo, Q., Li, J., & Chen, L.-L. (2026). Global research trends in bacteriophage and gut microbiota : A bibliometric and visual analysis from 2012 to 2025. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1738456. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1738456>
- Kutter, E., De Vos, D., Gvasalia, G., Alavidze, Z., Gogokhia, L., Kuhl, S., & Abedon, S. T. (2010). Phage therapy in clinical practice : Treatment of human infections. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 11(1), 69-86. <https://doi.org/10.2174/138920110790725401>
- Kutter, E., Sulakvelidze, A., Summers, W., Guttman, B., Raya, R., Brüssow, H., Ecology, P., & Carlson, K. (2004). *Bacteriophages : Biology and Applications*.
- Le, S., He, X., & Tong, Y. (2022). Editorial : Phage Biology and Phage Therapy. *Frontiers in Microbiology*, 13, 891848. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.891848>
- Li, D., Liu, C.-M., Luo, R., Sadakane, K., & Lam, T.-W. (2015). MEGAHIT : An ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics*, 31(10), 1674-1676. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv033>
- Li, H., Li, L., Chi, Y., Tian, Q., Zhou, T., Han, C., Zhu, Y., & Zhou, Y. (2020). Development of a standardized Gram stain procedure for bacteria and inflammatory cells using an automated staining instrument. *MicrobiologyOpen*, 9(9), e1099. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1099>
- Lin, D. M., Koskella, B., & Lin, H. C. (2017). Phage therapy : An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 8(3), 162-173. <https://doi.org/10.4292/wjgpt.v8.i3.162>
- Lin, J., Du, F., Long, M., & Li, P. (2022). Limitations of Phage Therapy and Corresponding Optimization Strategies : A Review. *Molecules*, 27(6), 1857. <https://doi.org/10.3390/molecules27061857>
- Liu, C., Hong, Q., Chang, R. Y. K., Kwok, P. C. L., & Chan, H.-K. (2022). Phage–Antibiotic Therapy as a Promising Strategy to Combat Multidrug-Resistant Infections and to Enhance Antimicrobial Efficiency. *Antibiotics*, 11(5), 570. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050570>
- Liu, Y., Mi, Z., Niu, W., An, X., Yuan, X., Liu, H., Wang, Y., Feng, Y., Huang, Y., Zhang, X., Zhang, Z., Fan, H., Peng, F., Li, P., Tong, Y., & Bai, C. (2016). Potential of a Lytic

Bacteriophage to Disrupt *Acinetobacter Baumannii* Biofilms *in Vitro*. *Future Microbiology*, 11(11), 1383-1393. <https://doi.org/10.2217/fmb-2016-0104>

Łoś, M., & Węgrzyn, G. (2012). Pseudolysogeny. In *Advances in Virus Research* (Vol. 82, p. 339-349). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394621-8.00019-4>

Madiga et Martinko, M. (2007). *Brock, Biologie des micro-organismes—Pearson France* [Livre]. <https://www.pearson.fr/fr/book/?GCOI=27440100363590>

Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268-281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>

Makky, S., Dawoud, A., Safwat, A., Abdelsattar, A. S., Rezk, N., & El-Shibiny, A. (2021). The bacteriophage decides own tracks : When they are with or against the bacteria. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100050. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100050>

Marashi, S. M. A., Nikkhahi, F., Hamed, D., & Shahbazi, G. (2022). Isolation, Characterization and in vitro Evaluation of Specific Bacteriophages Targeting Extensive Drug Resistance Strains of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Septic Burn Wounds. *Infection & Chemotherapy*, 54(1), 153-164. <https://doi.org/10.3947/ic.2021.0132>

Martin, E. C., Dumitrescu, O., & Lesprit, P. (2019, décembre 6). *La résistance aux antibiotiques* | *Planet-Vie*. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques>

Mayer, M. J., Narbad, A., & Gasson, M. J. (2008). Molecular characterization of a *Clostridium difficile* bacteriophage and its cloned biologically active endolysin. *Journal of Bacteriology*, 190(20), 6734-6740. <https://doi.org/10.1128/JB.00686-08>

McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial Resistance: A One Health Perspective. *Microbiology Spectrum*, 6(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>

- Molina, F., Simancas, A., Tabla, R., Gómez, A., Roa, I., & Rebollo, J. E. (2020). Diversity and Local Coadaptation of *Escherichia coli* and Coliphages From Small Ruminants. *Frontiers in Microbiology*, 11, 564522. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.564522>
- Moller, A. G., Lindsay, J. A., & Read, T. D. (2019). Determinants of Phage Host Range in *Staphylococcus* Species. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(11), e00209-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.00209-19>
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology spectrum*, 4(2), 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
- Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629-655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Nayfach, S., Camargo, A. P., Schulz, F., Eloë-Fadrosh, E., Roux, S., & Kyrpides, N. C. (2021). CheckV assesses the quality and completeness of metagenome-assembled viral genomes. *Nature Biotechnology*, 39(5), 578-585. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-00774-7>
- Ngene, A. C., & Umar, U. (2025). Bacteriophage applications and future prospects for addressing challenges in African agrifood systems. *Discover Food*, 5(1), 429. <https://doi.org/10.1007/s44187-025-00693-z>
- Nilsson, A. S. (2019). Pharmacological limitations of phage therapy. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 124(4), 218-227. <https://doi.org/10.1080/03009734.2019.1688433>
- Nobrega, F. L., Costa, A. R., Kluskens, L. D., & Azeredo, J. (2015). Revisiting phage therapy: New applications for old resources. *Trends in Microbiology*, 23(4), 185-191. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.01.006>
- Olszak, T., Latka, A., Roszniowski, B., Valvano, M. A., & Drulis-Kawa, Z. (2017). Phage Life Cycles Behind Bacterial Biodiversity. *Current Medicinal Chemistry*, 24(36). <https://doi.org/10.2174/0929867324666170413100136>

- Organisation Mondiale de la Santé (2023, novembre 21). Antimicrobial resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Pan, Y.-J., Lin, T.-L., Chen, C.-C., Tsai, Y.-T., Cheng, Y.-H., Chen, Y.-Y., Hsieh, P.-F., Lin, Y.-T., & Wang, J.-T. (2017). Klebsiella Phage Φ K64-1 Encodes Multiple Depolymerases for Multiple Host Capsular Types. *Journal of Virology*, 91(6), e02457-16. <https://doi.org/10.1128/JVI.02457-16>
- Panagiotopoulos, A.-P., Sagona, A. P., Tsakri, D., Feros, S., Anastassopoulou, C., & Tsakris, A. (2025). Virological and Pharmaceutical Properties of Clinically Relevant Phages. *Antibiotics*, 14(5), 487. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050487>
- Panteleev, V., Kulbachinskiy, A., & Gelfenbein, D. (2025). Evaluating phage lytic activity : From plaque assays to single-cell technologies. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1659093. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1659093>
- Pirnay, J.-P., Djebara, S., Steurs, G., Griselain, J., Cochez, C., De Soir, S., Glonti, T., Spiessens, A., Vanden Berghe, E., Green, S., Wagemans, J., Lood, C., Schrevers, E., Chanishvili, N., Kutateladze, M., de Jode, M., Ceyssens, P.-J., Draye, J.-P., Verbeken, G., ... Merabishvili, M. (2024). Personalized bacteriophage therapy outcomes for 100 consecutive cases : A multicentre, multinational, retrospective observational study. *Nature Microbiology*, 9(6), 1434-1453. <https://doi.org/10.1038/s41564-024-01705-x>
- Plumet, L., Magnan, C., Costechareyre, D., Sotto, A., Lavigne, J.-P., & Molle, V. (2025). Phage therapy : A promising approach for *Staphylococcus aureus* diabetic foot infections. *Journal of Virology*, 99(6), e00458-25. <https://doi.org/10.1128/jvi.00458-25>
- Pourcel, C., Midoux, C., Vergnaud, G., & Latino, L. (2020). The Basis for Natural Multiresistance to Phage in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics*, 9(6), 339. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060339>
- Pranata, N. Z., & Waturangi, D. E. (2025). Comparison of several methods for preserving ETEC-S3 bacteriophage and its application to food. *Journal of Microbiological Methods*, 238, 107257. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2025.107257>
- Prangishvili, D. (2013). The wonderful world of archaeal viruses. *Annual Review of Microbiology*, 67, 565-585. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155633>

Références bibliographiques

- Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. (2015). Antimicrobial resistance : A global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, 109(7), 309-318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.00000000030>
- Preux, O. (2013). *Assemblage et maturation de la capside du bactériophage T5 : Analyse des processus d'expansion et de décoration* [Phdthesis, Université Paris Sud - Paris XI]. <https://theses.hal.science/tel-00819620>
- Radford-Smith, D. E., & Anthony, D. C. (2025). Vancomycin-Resistant E. faecium : Addressing Global and Clinical Challenges. *Antibiotics*, 14(5), 522. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050522>
- Ramette, M. G. (2021, septembre 17). *Les bactériophages, de leur découverte à leurs utilisations* | Planet-Vie. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/virologie/les-bacteriophages-de-leur-decouverte-a-leurs-utilisations>
- Rattanaporn, S., Wongsakul, N., Thongchai, P., & Kanchana, S. (2024). Review : Biochemical mechanisms of antibiotic resistance. *International Journal of Advanced Biochemistry Research*, 8(2), 84-89. <https://doi.org/10.33545/26174693.2024.v8.i2b.7144>
- Ravat, F., Jault, P., & Gabard, J. (2015). [Not Available]. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 28(1), 13-20.
- Roux, S., Camargo, A. P., Coutinho, F. H., Dabdoub, S. M., Dutilh, B. E., Nayfach, S., & Tritt, A. (2023). iPHoP : An integrated machine learning framework to maximize host prediction for metagenome-derived viruses of archaea and bacteria. *PLoS Biology*, 21(4), e3002083. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002083>
- Roy, G., Prifti, E., Belda, E., & Zucker, J.-D. (2024). Deep learning methods in metagenomics : A review. *Microbial Genomics*, 10(4), 001231. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.001231>
- Sada, T. S., & Tessema, T. S. (2024). Isolation and characterization of lytic bacteriophages from various sources in Addis Ababa against antimicrobial-resistant diarrheagenic Escherichia coli strains and evaluation of their therapeutic potential. *BMC Infectious Diseases*, 24, 310. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09152-z>

- Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *BioMed Research International*, 2016, 2475067. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>
- Santos, S. B., Carvalho, C. M., Sillankorva, S., Nicolau, A., Ferreira, E. C., & Azeredo, J. (2009). The use of antibiotics to improve phage detection and enumeration by the double-layer agar technique. *BMC Microbiology*, 9, 148. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-148>
- Sanz-Gaitero, M., Seoane-Blanco, M., & Van Raaij, M. J. (2019). Structure and Function of Bacteriophages. In D. R. Harper, S. T. Abedon, B. H. Burrowes, & M. L. McConville (Éds.), *Bacteriophages* (p. 1-73). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-40598-8_1-1
- Schwarz, C., & Mathieu, J. (2024). Isolation of Enterococcus Bacteriophages from Municipal Wastewater Samples Using an Enrichment Step. In E. Tumban (Éd.), *Bacteriophages* (Vol. 2738, p. 111-123). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3549-0_7
- Sharma, R., & Lakhanpal, D. (2025). Acinetobacter baumannii : A comprehensive review of global epidemiology, clinical implications, host interactions, mechanisms of antimicrobial resistance and mitigation strategies. *Microbial Pathogenesis*, 204, 107605. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107605>
- Sharma, S., Datta, S., Chatterjee, S., Dutta, M., Samanta, J., Vairale, M. G., Gupta, R., Veer, V., & Dwivedi, S. K. (2021). Isolation and characterization of a lytic bacteriophage against Pseudomonas aeruginosa. *Scientific Reports*, 11(1), 19393. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98457-z>
- Sharp, R. (2001). Bacteriophages : Biology and history. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 76(7), 667-672. <https://doi.org/10.1002/jctb.434>
- Shree, P., Singh, C. K., Sodhi, K. K., Surya, J. N., & Singh, D. K. (2023). Biofilms : Understanding the structure and contribution towards bacterial resistance in antibiotics. *Medicine in Microecology*, 16, 100084. <https://doi.org/10.1016/j.medmic.2023.100084>
- Sillankorva, S. M., Oliveira, H., & Azeredo, J. (2012). Bacteriophages and their role in food safety. *International Journal of Microbiology*, 2012, 863945. <https://doi.org/10.1155/2012/863945>

- Simgamsetty, S., Shaik, N., Jothinathan, M. K. D., Yarlagadda, P., & Penmatcha, U. (2026). Multidrug- and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Global Trends, Molecular Mechanisms, Control Strategies, and Future Directions. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.22207/JPAM.20.2.29>
- Singh, A., Amod, A., Pandey, P., Bose, P., Pingali, M. S., Shivalkar, S., Varadwaj, P. K., Sahoo, A. K., & Samanta, S. K. (2022). Bacterial biofilm infections, their resistance to antibiotics therapy and current treatment strategies. *Biomedical Materials*, 17(2), 022003. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ac50f6>
- Sinha, A., Behera, I. C., & Sahu, M. C. (2026). Molecular mechanisms behind Beta-Lactam resistance : A review. *Microbes and Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.21608/mid.2025.381379.2753>
- Sinha, A., Singh, S., Sahoo, A., Behera, I. C., & Sahu, M. C. (2026). Efflux pumps and their role in antibiotic resistance: A literature review. *Microbes and Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.21608/mid.2025.383973.2780>
- Sippel, K., & Velimirov, B. (2025). Phage Therapy: Application and Related Problems-A Review. *Life*, 16(1), 57. <https://doi.org/10.3390/life16010057>
- Skusa, R., Groß, J., Kohlen, J., Schafmayer, C., Ekat, K., Podbielski, A., & Warnke, P. (2022). Proof-of-Concept Standardized Approach Using a Single-Disk Method Analogous to Antibiotic Disk Diffusion Assays for Routine Phage Susceptibility Testing in Diagnostic Laboratories. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(23), e00309-22. <https://doi.org/10.1128/aem.00309-22>
- Suh, G. A., Lodise, T. P., Tamma, P. D., Knisely, J. M., Alexander, J., Aslam, S., Barton, K. D., Bizzell, E., Totten, K. M. C., Campbell, J. L., Chan, B. K., Cunningham, S. A., Goodman, K. E., Greenwood-Quaintance, K. E., Harris, A. D., Hesse, S., Maresso, A., Nussenblatt, V., Pride, D., ... for the Antibacterial Resistance Leadership Group. (2022). Considerations for the Use of Phage Therapy in Clinical Practice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(3), e02071-21. <https://doi.org/10.1128/aac.02071-21>
- Tamma, P. D., & Cosgrove, S. E. (2011). Antimicrobial Stewardship. *Infectious Disease Clinics of North America, Infection Prevention and Control in the Hospital*, 25(1), 245-260. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2010.11.011>

- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Infection Control*, 34(5 Suppl 1), S3-10; discussion S64-73. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2006.05.219>
- Turner, D., Adriaenssens, E. M., Lehman, S. M., Moraru, C., & Kropinski, A. M. (2024). Bacteriophage Taxonomy: A Continually Evolving Discipline. *Methods in Molecular Biology*, 2734, 27-45. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3523-0_3
- Turner, D., Kropinski, A. M., & Adriaenssens, E. M. (2021). A Roadmap for Genome-Based Phage Taxonomy. *Viruses*, 13(3), 506. <https://doi.org/10.3390/v13030506>
- Turner, D., Shkoporov, A. N., Lood, C., Millard, A. D., Dutilh, B. E., Alfenas-Zerbini, P., van Zyl, L. J., Aziz, R. K., Oksanen, H. M., Poranen, M. M., Kropinski, A. M., Barylski, J., Brister, J. R., Chanisvili, N., Edwards, R. A., Enault, F., Gillis, A., Knezevic, P., Krupovic, M., ... Adriaenssens, E. M. (2023). Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names : 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. *Archives of Virology*, 168(2), 74. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05694-2>
- Ul Haq, I., Khan, M., & Khan, I. (2024). Phytopathological management through bacteriophages: Enhancing food security amidst climate change. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 51, kuae031. <https://doi.org/10.1093/jimb/kuae031>
- Vandamme, E. J., & Mortelmans, K. (2019). A century of bacteriophage research and applications: Impacts on biotechnology, health, ecology and the economy! *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 94(2), 323-342. <https://doi.org/10.1002/jctb.5810>
- Ventola, C. L. (2015). The Antibiotic Resistance Crisis. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4), 277-283.
- Venturini, C., Petrovic Fabijan, A., Fajardo Lubian, A., Barbirz, S., & Iredell, J. (2022). Biological foundations of successful bacteriophage therapy. *EMBO Molecular Medicine*, 14(7), e12435. <https://doi.org/10.15252/emmm.202012435>
- Villalpando-Aguilar, J. L., Matos-Pech, G., López-Rosas, I., Castelán-Sánchez, H. G., & Alatorre-Cobos, F. (2022). Phage Therapy for Crops: Concepts, Experimental and Bioinformatics Approaches to Direct Its Application. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 325. <https://doi.org/10.3390/ijms24010325>

- von Wintersdorff, C. J. H., Penders, J., van Niekerk, J. M., Mills, N. D., Majumder, S., van Alphen, L. B., Savelkoul, P. H. M., & Wolffs, P. F. G. (2016). Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173>
- Walter, N., Mirzaei, M., Deng, L., Willy, C., Alt, V., & Rupp, M. (2024). The Potential of Bacteriophage Therapy as an Alternative Treatment Approach for Antibiotic-Resistant Infections. *Medical Principles and Practice*, 33(1), 1-9. <https://doi.org/10.1159/000534717>
- Wei, Y., Palacios Araya, D., & Palmer, K. L. (2024). Enterococcus faecium : Evolution, adaptation, pathogenesis and emerging therapeutics. *Nature Reviews Microbiology*, 22(11), 705-721. <https://doi.org/10.1038/s41579-024-01058-6>
- Williamson, K. E., Fuhrmann, J. J., Wommack, K. E., & Radosevich, M. (2017). Viruses in Soil Ecosystems : An Unknown Quantity Within an Unexplored Territory. *Annual Review of Virology*, 4(1), 201-219. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-101416-041639>
- Williamson, K. E., Radosevich, M., & Wommack, K. E. (2005). Abundance and Diversity of Viruses in Six Delaware Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(6), 3119-3125. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.6.3119-3125.2005>
- Zakharevich, N., Strokach, A., Shitikov, E., & Klimina, K. (2026). Bacteriophages in gut metagenomes : From analysis to application. *Virology Journal*, 23, 40. <https://doi.org/10.1186/s12985-026-03069-6>
- Zalewska-Piątek, B. (2023). Phage Therapy—Challenges, Opportunities and Future Prospects. *Pharmaceuticals*, 16(12), 1638. <https://doi.org/10.3390/ph16121638>
- Zhou, F., Wang, K., Ji, S., Liao, X., Zhang, W., Teng, T., Wang, L., & Li, Q. (2025). The virulent bacteriophage Henu8 as an antimicrobial synergist against *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, 13(7), e01633-24. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01633-24>
- Zhu, Y., Shang, J., Peng, C., & Sun, Y. (2022). Phage family classification under Caudoviricetes : A review of current tools using the latest ICTV classification framework. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1032186. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1032186>

Annexes

Annexe 1 : matériel non biologique

Milieu de culture	• Mueller-Hinton (MH) • Luria Broth (LB) • Gélose molle LB à 3g/l
Appareillage	• Système de filtration • Pompe à vide • Autoclave • Incubateur • Vortex • Microscope optique • Centrifugeuse • Bain marie • Densitomètre • Balance de précision • Plaque chauffante • pH-mètre • Agitateur magnétique
Verreries	• Flacon en verre • Tube en verre • Pipette pasteur • Erlenmeyer • Éprouvette • Bécher
Autre matériel	• Boîte petri • Anse de platine • Lames et lamelles • Micro filtre 0,22 µm • Filtre seringue 0,22 µm • Papier whatman • Micropipette 1000 µl, 100 µl • Les écouvillons • Microtubes Eppendorf

Annexe 2 : composition du milieu de culture

Milieu de culture	Composition chimique (pour 500 mL)
La gélose MH (Mueller-Hinton)	Infusion de viande de bœuf 1,0 g Hydrolysate acide de caséine 8,75 g Amidon 0,75 g Agar 8,5 g pH 7,3 ± 0,1
Bouillon Luria Broth (LB liquide)	Tryptone.....5 g NaCl.....5 g Extrait de levure.....2,5 g CaCl ₂ 0,18 g pH.....7,0 ± 0,2
Gélose LB solide	Tryptone.....5g NaCl.....5 g Extrait de levure.....2,5g Agar.....7,5g CaCl ₂ 0,18g pH.....7,0 ± 0,2
Gélose LB semi-solide	Tryptone.....5g NaCl.....5 g Extrait de levure.....2,5g Agar.....3 g CaCl ₂ 0,18g pH.....7,0 ± 0,2
Gélose nutritive	Peptone 5,0 g Extrait de viande 3,0 g NaCl 5,0 g Agar 15,0 g pH 7,0 ± 0,2
Tampon SM	NaCl.....2,9g MgSO ₄ 1,0g 7H ₂ O.....1,0 g Tris-HCl (1 M, pH 7,5) 25mL Gélatine.....0,05 gpH.....7,5

ملخص

يُعدُّ تزايد انتشار البكتيريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية وتراجع فعالية العلاجات المتاحة أحد أبرز التحديات التي تواجه الصحة العمومية في الوقت الراهن. وفي هذا السياق، تبرز العاثيات البكتيرية (البكتيريوفاجات) كخيار علاجي واعد بفضل قدرتها على إصابة البكتيريا واستهدافها بشكل نوعي. هدفت هذه الدراسة إلى عزل عاثيات بكتيرية من عينات بنية وتقييم نشاطها المضاد للبكتيريا تجاه سلالات بكتيرية متعددة المقاومة للمضادات الحيوية.

تم عزل العاثيات باستخدام تقنية الطبقة المزدوجة من الأغار، كما تم تقييم نشاطها المضاد للبكتيريا بواسطة اختبار الحساسية للعاثيات. وقد أظهرت النتائج وجود عاثيات حالة للبكتيريا ذات نشاط ضد سلالات الإشريكية القولونية، والكلبيسيلا الرئوية، والبروتوس ميرابيليس، في حين لم يُسجل أي نشاط تجاه السلالات الأخرى المختبرة. وعلى الرغم من أن اختبار الفاغو غرام لم يُظهر مناطق تحلل واضحة، فإن تقنية الطبقة المزدوجة من الأغار أكدت وجود عاثيات نشطة.

تُبرز هذه النتائج الإمكانيات الواعدة للعاثيات البكتيرية كعوامل مضادة للبكتيريا، وتفتح آفاقاً مستقبلية لتطوير مقاربات علاجية مبتكرة يمكن أن تُسهم في استكمال أو تعزيز الاستراتيجيات الحالية لمكافحة العدوى الناجمة عن البكتيريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية، العاثيات البكتيرية، العلاج بالعاثيات، النشاط الحال للبكتيريا.

Abstract

The increasing prevalence of multidrug-resistant (MDR) bacteria and the declining effectiveness of antibiotics represent a major public health challenge. In this context, bacteriophages have emerged as a promising alternative due to their ability to specifically infect bacterial hosts. The aim of this study was to isolate bacteriophages from environmental samples and evaluate their antibacterial activity against multidrug-resistant bacterial strains.

Phage isolation was performed using the double-layer agar technique, and phage activity was assessed by phagogram analysis. The results revealed the presence of lytic bacteriophages active against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis*, whereas no activity was observed against the other tested strains. Although the phagogram did not reveal visible lysis zones, the double-layer agar method confirmed the presence of active phages.

These findings highlight the potential of bacteriophages as antibacterial agents and provide promising prospects for the future development of innovative therapeutic approaches aimed at complementing and strengthening current strategies for combating infections caused by multidrug-resistant bacteria.

Keywords: multidrug-resistant bacteria; bacteriophages; phage therapy; lytic activity

Résumé

L'augmentation des bactéries multirésistantes (BMR) et la diminution de l'efficacité des antibiotiques constituent un défi majeur pour la santé publique. Dans ce contexte, les bactériophages apparaissent comme une alternative prometteuse grâce à leur capacité à infecter spécifiquement les bactéries. Ce travail avait pour objectif d'isoler des bactériophages à partir d'échantillons environnementaux et d'évaluer leur activité antibactérienne contre des souches bactériennes multirésistantes.

L'isolement phagique a été réalisé par la technique de double couche agar et l'activité des phages a été évaluée par phagogramme. Les résultats ont révélé la présence de bactériophages lytiques actifs contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis*, tandis qu'aucune activité n'a été observée contre les autres souches testées. Bien que le phagogramme n'ait montré aucune zone de lyse, la méthode de la double couche a confirmé la présence de phages actifs.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel des bactériophages comme agents antibactériens et ouvrent des perspectives intéressantes pour le développement futur d'approches thérapeutiques innovantes visant à compléter ou à renforcer les stratégies actuelles de lutte contre les infections causées par les bactéries multirésistantes.

Mots-clés : Bactéries multirésistantes, bactériophages, phagothérapie, activité lytique.