

## Session d' « innovirolgy » 7.1 Typage traditionnel des phages

### Diapositive 1:

Une application biotechnologique traditionnelle des phages est leur utilisation pour déterminer la souche spécifique de bactéries isolées, ainsi que pour détecter ces souches dans différents échantillons.

Ici, nous discuterons de la stratégie de base ainsi que de certaines adaptations utilisées.

### Diapositive 2 :

Le typage microbien est le principe d'identification des microorganismes au niveau de l'espèce, ce qui est important pour reconnaître les souches virulentes, confirmer les éventuelles épidémies, déterminer la source et les voies d'infections et suivre la transmission croisée des agents pathogènes dans les soins de santé. En outre, il permet l'évaluation des mesures de contrôle pour voir leur efficacité.

Plusieurs techniques ont été développées pour permettre le typage et l'une d'elle exploite la spécificité inhérente des phages. En effet, ces virus bactériens ne s'attachent et n'infectent que des souches d'hôtes spécifiques. Donc, en utilisant une bibliothèque de phage, un isolat bactérien peut être identifié au niveau de la sous-espèce.

### Diapositive 3 :

Pour ce faire, les bactéries cultivées sont étalées sur boîte afin de créer une couche bactérienne sur laquelle des phages distincts sont déposés dans des zones spécifiques. Si l'infection est réussie, des plages de lyse apparaîtront, car des phages distincts sont utilisés, chaque souche produira un profil spécifique d'infection et cela permettra la détermination du genre et de l'espèce bactérienne.

Cependant, un inconvénient majeur de cette stratégie est qu'elle est uniquement capable de détecter les bactéries cultivables et la vitesse de ce diagnostic est limitée par le taux de réplication de la bactérie hôte, facteur qui peut être problématique pour certains agents pathogènes tels que les mycobactéries. Un autre défi est l'intensité de la main-d'œuvre associée au lysotypage car il nécessite la production en continu et le stockage de gros stocks de phages.

### Diapositive 4 :

Pour remédier à certaines de ces limitations, plusieurs adaptations ont été développées au fil des ans pour cette stratégie.

Une première est le test d'amplification de phage, qui est principalement utile pour la détection de bactéries à croissance lente, telles que les mycobactéries. Pour contourner le taux de croissance lent de cet agent pathogène, une deuxième étape est introduite en utilisant des cellules de substitution à croissance rapide. L'échantillon initial est infecté par des bactéries pour détecter la présence d'agents pathogènes spécifiques, mais à l'étape suivante, le virucide est ajouté pour détruire tous les bactériophages excédentaires. De cette façon, seuls les phages infectant les bactéries sont épargnés et capables de former une nouvelle descendance de phage. Une fois ce cycle d'infection terminé, la nouvelle descendance est utilisée pour infecter des cellules de substitution à croissance rapide. Ces cellules sont mise sur boîte afin de permettre l'énumération des plaques, ce qui témoigne de la réplication du bactériophage.

#### Diapositive 5 :

Une deuxième adaptation est connue sous le nom du test du phage rapporteur. Cette stratégie contourne le besoin de formation de plaque, permettant un temps de détection plus rapide. À cette fin, les phages sont génétiquement modifiés pour coder une protéine fluorescente ou des enzymes spécifiques.

5.1: Une fois que le génome du phage est inséré dans la cellule cible pendant l'infection, le gène rapporteur sera exprimé.

5.2: Ensuite, le signal de ce gène rapporteur peut être détecté et la force du signal peut être corrélée au nombre de cellules cibles présentes dans l'échantillon.

5.3: Un exemple de système phage rapporteur est d'utiliser la luciférase pour détecter les mycobactéries. La cellule infectée produira de la luciférase et, en ajoutant de la luciférine, on produira un signal lumineux qui peut être mesuré.

#### Diapositive 6 :

Une troisième stratégie est la technologie du double phage, celle-ci améliore encore plus la spécificité du lysotypage. Dans cette stratégie, on utilise deux phages qui codent chacun un gène de résistance distinct et sont capables de le transmettre dans leur cellule cible. De plus, ces phages sont chimiquement liés à des anticorps dirigés contre différents épitopes du même antigène, qui peuvent être dérivés d'agents pathogènes spécifiques.

6.1: Les deux phages sont ensuite mélangés avec l'échantillon contenant potentiellement l'antigène cible.

6.2: Ensuite, des bactéries sensibles sont ajoutées pour permettre une infection par les complexes phage-antigène. Ici, il est important de noter que seuls les phages liés au même antigène seront capables de co-infecter les bactéries.

6.3: Enfin, les cellules infectées sont ensemencées sur des milieux contenant des antibiotiques sélectifs pour sélectionner des cellules co-infectées. Ainsi, le nombre de colonies formées sur la boîte sera en corrélation avec le nombre d'antigènes présents dans l'échantillon d'origine.

#### Diapositive 7:

Les références suivantes fournissent un bon aperçu du potentiel des phages dans la détection bactérienne. Ce sujet sera abordé plus en détail dans la section suivante.