



**HAL**  
open science

# Utilisation des bactériophages pour lutter contre les bactéries pathogènes. Application en industrie alimentaire

Mai Huong Ly-Chatain

► **To cite this version:**

Mai Huong Ly-Chatain. Utilisation des bactériophages pour lutter contre les bactéries pathogènes. Application en industrie alimentaire. Industries Alimentaires et Agricoles, 2015, pp.201511122123. hal-04089274

**HAL Id: hal-04089274**

**<https://isara.hal.science/hal-04089274>**

Submitted on 4 May 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# **Utilisation des bactériophages pour lutter contre les bactéries pathogènes. Application en industrie alimentaire**

Mai Huong Ly-Chatain

*Laboratoire BioDyMIA (Bioingénierie et Dynamiques Microbiennes aux Interfaces Alimentaires), ISARA LYON, 23 rue Jean Baldassini – F- 69394 Lyon cedex 07*

## **Résumé**

Au cours des dernières années, l'utilisation de bactériophages (phages) lytiques en tant qu'agents antimicrobiens pour contrôler des bactéries pathogènes est apparue comme une nouvelle stratégie prometteuse. Les phages ont été étudiés pour leur application potentielle dans plusieurs domaines, y compris en médecine humaine et vétérinaire, en aquaculture et en agroalimentaire. Les phages s'inscrivent dans la classe des antimicrobiens naturels et leur application a nombreux avantages par rapport aux antimicrobiens traditionnels. En industrie alimentaire, l'application des phages est possible pour conserver les produits alimentaires et pour éliminer les contaminations des sources d'origine animale telle que les carcasses, tube digestive animal et aussi dans les produits agricoles. Cette synthèse est une présentation générale sur les applications récentes des phages, la réglementation et sur les produits sur le marché.

## **Abstract**

In recent years, the use of lytic bacteriophages as antimicrobial agents controlling pathogenic bacteria has appeared as a promising new strategy. Phages have been studied for their potential application in many fields, including human and veterinary medicine, aquaculture and food. Phages are natural antimicrobial and their application has many advantages over traditional antimicrobials. In food industry, the application of phages is possible to preserve food products and to eliminate contaminations in products such as carcasses, digestive tract animal and also in agricultural products. This review is an overview on recent applications of phages, on regulations and phage products at the commercial scale.

Corresponding author. Tel: + 33 4 27 85 85 12; fax: +33 4 27 86 86.

*E-mail address:* mhchatain@isara.fr

## **Introduction**

La sécurité alimentaire occupe toujours une place importante dans l'industrie alimentaire. Malgré les progrès technologiques et les bonnes pratiques de fabrication, le nombre de maladies d'origine alimentaire et les intoxications a continué d'augmenter au cours des dernières années (EFSA, 2011). Le développement de méthodes de conservation des produits alimentaires est devenu de plus en plus crucial. De plus, avec la mondialisation du marché alimentaire et l'évolution des habitudes de consommation (par exemple, la consommation de produits frais ou de produits prêts-à-consommer) les technologies de conservation doivent répondre à plusieurs critères en assurant la qualité nutritionnelle et organoleptique. En outre, les consommateurs exigent des produits alimentaires avec moins d'additifs chimiques («clean label»), de sel, de sucre... qui peuvent avoir un impact négatif sur leur santé. Au cours des dernières années, de nombreuses études ont été menées sur l'inactivation des bactéries pathogènes afin de développer des méthodes de conservation naturelles. Plusieurs composés ont été étudiés comme les huiles essentielles, les bactériocines, les peptides antimicrobiens...(Turgis et al., 2012; Jayasena and Jo, 2013; Abdollahzadeh et al., 2014). Une des solutions intéressantes qui est émerge actuellement est l'utilisation des bactériophages.

### **Les bactériophages (phages)**

Les phages sont des virus qui infectent les bactéries. Ils sont environ 100 fois plus petits que les bactéries. La taille d'un phage varie entre 20 et 200 nanomètres. A ce jour, les recherches sur les phages ont montré une extrême diversité des phages dans l'environnement qui peut être le sol, l'eau, le tube digestif ainsi que des produits alimentaires (viandes, légumes, produits laitiers) (Kutter and Sulakvelidze, 2005).

Deux différents types de phages existent : les phages lytiques (virulents) et tempérés (lysogéniques). Pour les lytiques, la première étape de l'infection du phage est l'adsorption des phages à la paroi de la cellule bactérienne grâce à des interactions spécifiques entre des protéines virales et des récepteurs de la cellule hôte. Après avoir pénétré dans la cellule bactérienne, les phages virulents se répliquent rapidement pour synthétiser leurs protéines de capsid et leur génome dans l'intérieur de la cellule hôte. Enfin, les nouveaux phages s'échappent de la bactérie hôte par la rupture de la paroi cellulaire qui conduit à la mort de la cellule. Alors que les phages tempérés intègrent leur matériel génétique dans le chromosome de la cellule hôte, qui est répliqué avec le génome de la cellule hôte (sous forme de prophage). Seuls les phages tempérés peuvent s'intégrer dans le génome bactérien et participer aux transferts horizontaux de gènes entre les populations bactériennes. Pour des applications en thérapie, les phages lytiques sont sélectionnés pour leur capacité à lyser rapidement des bactéries ciblées.

### **Utilisation de phages contre les bactéries pathogènes**

Les phages ont été découverts en 1915 par Frederick W. Twort. Deux ans plus tard, d'Hérelle met en avant leur utilisation en tant qu'agents thérapeutiques. La recherche sur les phages a été étendue dans de nombreux pays (Brésil, Egypte, Etats-Unis, Russie, France ...) et particulièrement en Russie ainsi que dans les pays voisins. Aux États-Unis durant les années 1940, la commercialisation de thérapies par les phages a été réalisée par les grandes entreprises pharmaceutiques comme Eli Lilly. Pendant cette période où les connaissances sur les phages se sont accumulées, les antibiotiques sont apparus (en 1941) et ont été commercialisés largement aux Etats-Unis et en Europe. Par conséquent, les études de

thérapies par les phages sont retombées. Les scientifiques russes ont continué à développer cette thématique avec succès pour traiter les blessures des soldats infectés par diverses maladies bactériennes pendant la Seconde Guerre mondiale (Sulakvelidze, 2005).

Au cours des dernières années, avec l'émergence de souches bactériennes multi-résistantes aux antibiotiques, les recherches se tournent vers les phages. L'utilisation de phages pour inactiver les bactéries pathogènes est considérée comme un moyen intéressant de remplacement des antibiotiques en médecine humaine, vétérinaire et pour la conservation des produits alimentaires ainsi que pour l'éradication des biofilms. En effet, les phages sont considérés comme des «antimicrobiens intelligents» pour leur spécificité. Ils infectent les bactéries cibles sans aucun effet sur la flore commensale et sont éliminés naturellement lorsque les bactéries hôtes sont totalement éliminées.

En médecine vétérinaire, l'utilisation de l'antibiotique est actuellement réduite en production animale. Les phages sont apparus comme une méthode alternative pour lutter contre les maladies bactériennes chez les animaux et pour contrôler la transmission des agents pathogènes responsables de maladies d'origine alimentaire à l'homme. Par exemple, la réduction de *Campylobacter* et de toute autre bactérie pathogène par des phages a été étudiée dans plusieurs travaux y compris pour la destruction des biofilms ou en aquaculture (Fiorentin et al., 2005; Wagenaar et al., 2005; Higgins et al., 2008 ; Lee and Park, 2015; R, 2015,)

### **Utilisation de phages pour conserver les produits alimentaires**

L'avantage de l'utilisation des phages virulents est leur spécificité vis-à-vis de la bactérie hôte. Ils n'infectent pas la flore technologique ou la flore commensale du tube digestif. En outre, les bactériophages ne provoquent pas d'allergies humaines. Leur application ne modifie pas la structure, l'odeur ou le goût des produits alimentaires (Hagens and Offerhaus, 2008).

Plusieurs études ont été menées sur l'efficacité du traitement des bactéries pathogènes par des phages dans des produits alimentaires de types produits laitiers, produits carnés, fruits et légumes, fruits de mer (Garcia et al., 2009; Rossi et al., 2011, Viazis et al., 2011). Les phages utilisés pour contrôler *L. monocytogenes* ont fait l'objet de plusieurs d'études. Guenther et al (2009) ont montré que le nombre de bactéries *L. monocytogenes* étaient en dessous du niveau de la détection lorsque les phages P100 ou A511 ont été ajoutés dans les aliments liquides (lait chocolaté et fromage mozzarella). Dans les aliments solides (hot-dogs, viande de dinde en tranches, saumon fumé, fruits de mer, chou émincé et feuilles de laitue), les phages pourraient réduire la charge bactérienne jusqu'à 5 log/ml. De même, une réduction de 2,5 à 6 log/ml de *L. monocytogenes* a été signalée lorsque les phages ont été ajoutés sur la surface du fromage (Carlton et al., 2005; Guenther and Loessner, 2011). L'efficacité d'un cocktail de trois phages contre *E. coli* O157: H7 a été déterminée sur la viande (O'Flynn et al., 2004). Ce cocktail de phages a complètement éliminé *E. coli* O157: H7 de la surface de la viande de bœuf dans 7 des 9 cas. Les phages ont été étudiés pour contrôler *S. aureus* en fabrication de fromages frais et de type de pâte dure. Dans les deux types de fromages, la présence de phages a entraîné une diminution de *S. aureus* pendant le caillage. En essai des fromages frais, une réduction de 3,83 log UFC/g de *S. aureus* est observée 3 h après l'ajout de phages et le niveau de *S. aureus* est indétectable après 6 h. Pour un fromage à pâte dure, la présence de phages a entraîné une réduction en continu,

depuis l'étape de caillage jusqu'à l'affinage, la concentration de *S. aureus* est de 1,24 log UFC/g alors qu'elle était de 6.73 log CFU/g dans les fromages témoins (Bueno et al., 2012).

Cependant, certaines études ont rencontré des échecs dans l'utilisation de phages. D'après Ly-Chatain (2014) plusieurs facteurs peuvent intervenir sur l'efficacité du traitement. Pour les applications alimentaires, les phages doivent être lytiques et avoir un large spectre d'activité (capacité d'infecter plusieurs souches bactériennes cibles). Ils doivent être stables dans des conditions du traitement et surtout avoir accès aux bactéries ciblées. Le dernier facteur dépend de la composition et la structure de la matrice. Certains composés pourraient protéger les bactéries des phages. O'Flaherty et al (2005) ont suggéré que certaines protéines présentes dans le lait cru puissent s'adsorber sur la surface bactérienne réduisant ainsi l'accessibilité des phages aux bactéries. Guenther et al (2009) ont montré que l'utilisation de bactériophages était limitée par leur diffusion dans les matrices alimentaires solides, telles que les hot-dogs, saumon fumé, fruits de mer ...

Enfin, les phages appliqués en thérapie doivent être lytiques et ne pas contenir de gènes d'intégration ou de gènes codant des toxines ou de la résistance aux antibiotiques. La solution de phage ou les produits de phages doivent être purifiés afin d'éliminer les débris ou les toxines liées à la culture bactérienne qui a servi pour leur production.

### **Les phages à l'échelle commerciale et la réglementation**

La recherche sur les phages a été considérable au cours de la dernière décennie (Pirnay et al., 2012). Certains produits de phages ont été approuvés et commercialisés (Tableau 1). Par exemple, en 2006, la FDA (Food and Drug Administration) a approuvé que l'utilisation et la préparation des bactériophages soit reconnues inoffensives et qu'ils soient utilisés comme additifs alimentaires pour le contrôle de bactéries pathogènes. Le produit Listex<sup>TM</sup> est appliqué pour contrôler *Listeria monocytogenes* du saumon fumé, dans la viande et les produits à base de volaille. Le Listex<sup>TM</sup> a également été approuvé pour l'application en industrie alimentaire par la Food Standards Australia & New Zealand (FSANZ) en 2012. En Europe, le phage P100 est un produit similaire au Listex<sup>TM</sup>. Son utilisation a également été approuvée en Suisse pour la fabrication du fromage et pour d'autres types d'aliments.

### **Conclusion**

Les résultats obtenus à présent sont très encourageant pour l'application des phages afin de réduire les bactéries pathogènes. Cependant, il faut maîtriser plusieurs facteurs pour avoir des traitements efficaces. Il est important d'étudier la capacité de réduction par les phages dans des conditions modèles mais très proches de la matrice réelle afin d'identifier les facteurs influençant l'infection des phages. D'autre part, l'avenir de phages en secteur alimentaire ou dans d'autres domaines dépend des organismes de réglementation de chaque pays. Il faut renforcer la recherche sur cette thématique afin d'avoir des preuves scientifiques solides. En outre, il est également important d'informer les agriculteurs, les producteurs et le public sur les avantages de l'utilisation des phages.

**Tableau 1: produit de phages en cours de développement ou commercialisés**

Company	Location	Products	Application
Intralytix	Maryland, USA	ListShield™ EcoShield™ SalmoFresh™  ShigActive™  INT-401™	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Salmonella</i> -serotypes Sécurité alimentaire <i>Shigella</i> dans le tube digestif (en développement) <i>Clostridium perfringens</i> chez les volailles.
OmniLytics	Inc. Utah, USA	Agriphage	Control des bactéries en agriculture
Elanco Food Solutions	Illinois, USA	Finalyse®	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 appliqué en sécurité alimentaire et agriculture
EBI Food Safety (microfoodsafety)	Netherlands	LISTEX™ SALMONELEX™	Sécurité alimentaire
CJ CheilJedang Corporation	Seoul, Korea	Phage Salmonella	Additive alimentaire animal
Phico Therapeutics	Cambridge, UK	SASPject PT1.2 <i>Ps. aeruginosa</i>	Thérapeutique
Amplphi Biosciences Corp. (Biophage PA)	Bedfordshire, UK	En cours de développement	<i>Ps. aeruginosa</i> en Thérapeutique
Novolytics	Coventry, UK	NOVO12	<i>S. aureus</i> enThérapeutique
JSC Biochimpharm	Tbilisi, Georgia	Plusieurs produits	<i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>E. Coli</i> , <i>Proteus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Enterococcus</i> en Thérapeutique
Viridax Corporation	Florida, USA	Viridax™	<i>S. aureus</i> en Thérapeutique

## Références

EFSA. (2011). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. *The EFSA Journal* 9(3),2090 -378.

Abdollahzadeh, E., Rezaei, M. and Hosseini, H. (2014) 'Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat', *Abdollahzadeh, Esmail* 35(1): 177-183.

Bueno, E., García, P., Martínez, B. and Rodríguez, A. (2012) 'Phage inactivation of *Staphylococcus aureus* in fresh and hard-type cheeses', *International Journal of Food Microbiology* 158(1): 23-27.

Carlton, R. M., Noordman, W. H., Biswas, B., Meester, E. D. d. and Loessner, M. J. (2005) 'Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods: Genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application', *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 43: 301 - 312.

- Fiorentin, L., Vieira, N. D. and Barioni, W., Jr. (2005) 'Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of *Salmonella Enteritidis* PT4 in caecal contents of broilers', *Avian Pathology* 34(3): 258-63.
- Garcia, P., Madera, C., Martinez, B., Rodriguez, A. and Evaristo Suarez, J. (2009) 'Prevalence of bacteriophages infecting *Staphylococcus aureus* in dairy samples and their potential as biocontrol agents', *Journal of Dairy Science* 92(7): 3019-3026.
- Guenther, S., Huwyler, D., Richard, S. and Loessner, M. J. (2009) 'Virulent Bacteriophage for Efficient Biocontrol of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat Foods.', *Applied and Environmental Microbiology* 75(1): 93-100.
- Guenther, S. and Loessner, M. J. (2011) 'Bacteriophage biocontrol of *Listeria monocytogenes* on soft ripened white mold and red-smear cheeses', *Landes Bioscience* 1(2): 94-100.
- Higgins, J. P., Andreatti Filho, R. L., Higgins, S. E., Wolfenden, A. D., Tellez, G. and Hargis, B. M. (2008) 'Evaluation of *Salmonella*-lytic properties of bacteriophages isolated from commercial broiler houses', *Avian Diseases* 52(1): 139-42.
- Jayasena, D. D. and Jo, C. (2013) 'Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review', *Trends in Food Science & Technology* 34(2): 96-108.
- Kutter, E. and Sulakvelidze, A. (2005) Bacteriophages : Biology and Applications. in E. Kutter and A. Sulakvelidze (eds.) *Bacteriophages : Biology and Applications*. Boca Raton,FL: CRC Press.
- Lee, Y.-D. and Park, J.-H. (2015) 'Characterization and application of phages isolated from sewage for reduction of *Escherichia coli* O157:H7 in biofilm', *LWT - Food Science and Technology* 60(1): 571-577.
- Ly-Chatain, M. H. (2014) 'The factors affecting effectiveness of treatment in phages therapy' 5: 51.
- O'Flaherty, S., Coffey, A., Meaney, W. J., Fitzgerald, G. F. and Ross, R. P. (2005) 'Inhibition of bacteriophage K proliferation on *Staphylococcus aureus* in raw bovine milk', *Letters in Applied Microbiology* 41(3): 274-9.
- O'Flynn, G., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F. and Coffey, A. (2004) 'Evaluation of a Cocktail of Three Bacteriophages for Biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7', *Applied and Environmental Microbiology* 70(6): 3417-3424.
- Pirnay, J.-P., Verbeken, G., Rose, T., Serge Jennes<sup>2</sup>, Zizi, M., Huys, I., Lavigne, R., Merabishvili, M., Vanechoutte, M., Buckling, A. et al. (2012) 'Introducing yesterday's phage therapy in today's medicine', *Future Virology* 7(4): 379-390.
- R, G. (2015) 'Bacteriophage remediation of bacterial pathogens in aquaculture: a review of the technology', *Gary. R* 4:4, e975540, DOI: 10.4161/21597081.2014.975540.
- Rossi, L. v. P. R., Almeida, R. C. C., Lopes, L. S., Figueiredo, A. C. L., Ramos, M. P. P. and Almeida, P. F. (2011) 'Occurrence of *Listeria* spp. in Brazilian fresh sausage and control of *Listeria monocytogenes* using bacteriophage P100', *Food Control* 22(6): 954-958.
- Sulakvelidze, A. (2005) 'Phage therapy: an attractive option for dealing with antibiotic-resistant bacterial infections', *Drug Discovery Today* 10(12): 807-809.
- Turgis, M., Vu, K. D., Dupont, C. and Lacroix, M. (2012) 'Combined antimicrobial effect of essential oils and bacteriocins against foodborne pathogens and food spoilage bacteria', *Food Research International* 48(2): 696-702.

Viazis, S., Akhtar, M., Feirtag, J. and Diez-Gonzalez, F. (2011) 'Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 viability on leafy green vegetables by treatment with a bacteriophage mixture and trans-cinnamaldehyde', *Food Microbiology* 28(1): 149-157.

Wagenaar, J. A., Van Bergen, M. A., Mueller, M. A., Wassenaar, T. M. and Carlton, R. M. (2005) 'Phage therapy reduces *Campylobacter jejuni* colonization in broilers', *Veterinary Microbiology* 109(3-4): 275-83.