



Phages.fr



ApprentiPhage

Evaluer l'activité biologique des phages virulents (*in vitro*)

Principe et limites

1^{ère} Partie (1/2)

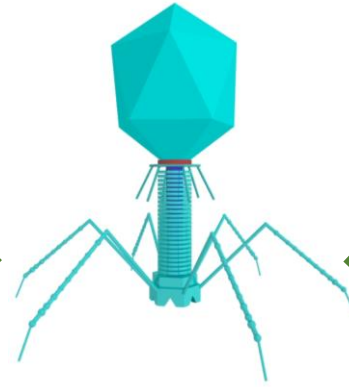
Nicolas DUFOUR – MD, PhD

Institut Pasteur – Unité Bactériophage-Bactérie-Hôte

Hôpital NOVO, Site de Pontoise – Service de Réanimation

Les 2 principaux types de phages, définis par leur cycle

Cf.
vidéo
dédiée
!



Le phage virulent

cycle lytique



Le phage tempéré

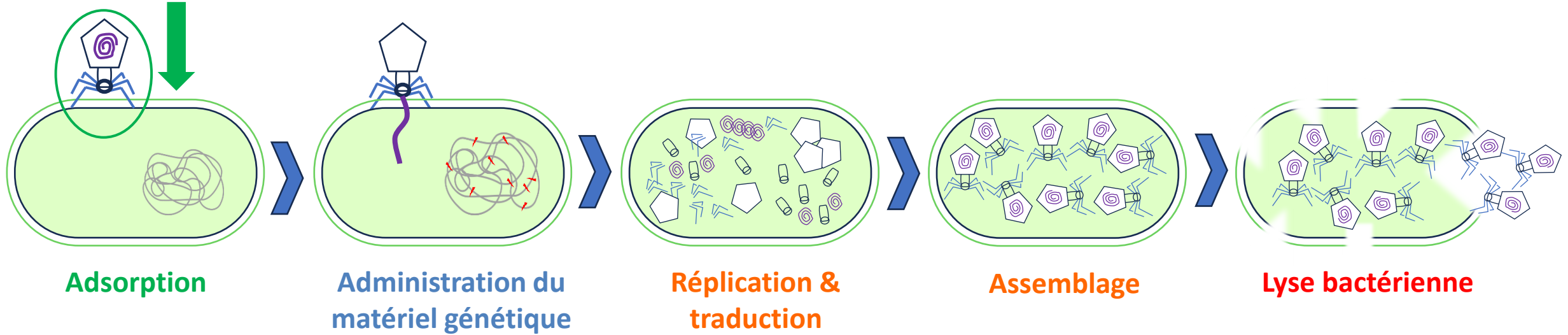
cycle lysogénique



Beaucoup plus rarement :
cycle infectieux chronique, cycle
pseudolysogénique



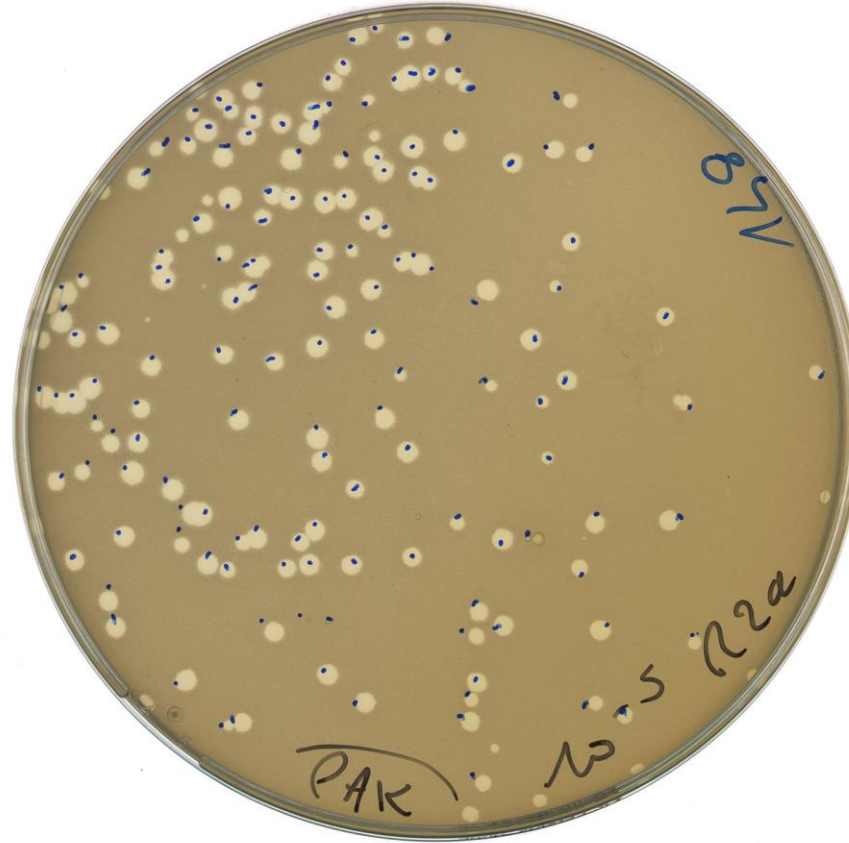
Le cycle viral lytique (phages virulents)



En pratique, comment on fait ?

Au minimum, l'activité biologique d'un phage virulent est définie par deux éléments qui doivent être associés :

- 1) la capacité du phage à lyser la bactérie
- 2) la réalisation d'un cycle viral (amplification virale)

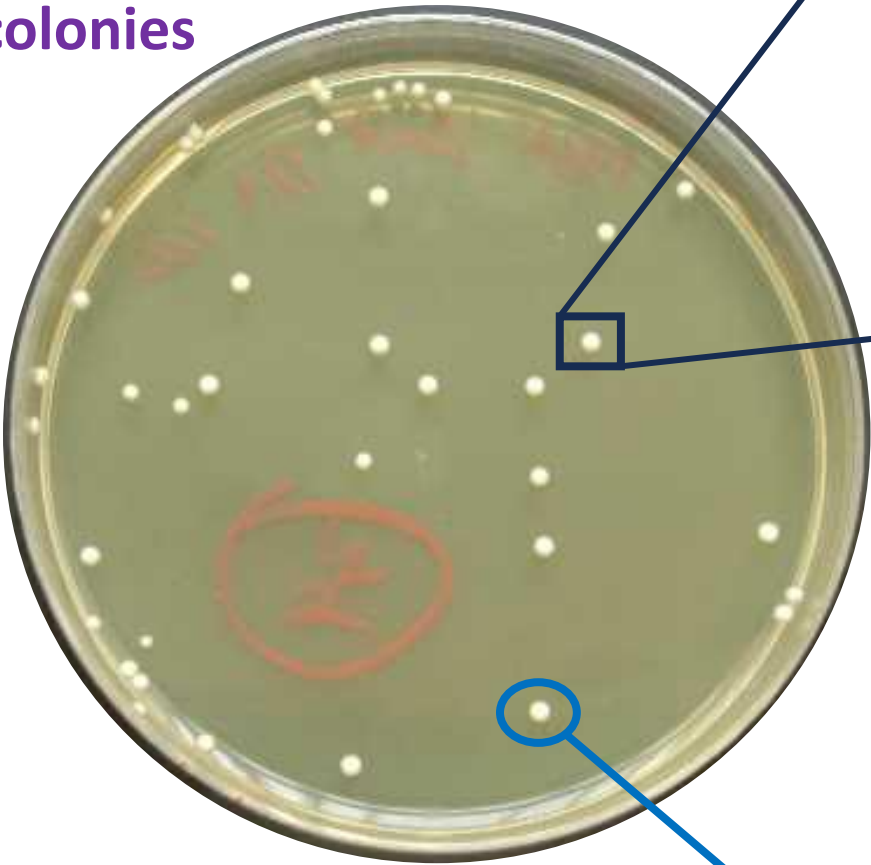


La démonstration d'une lyse provoquée par un phage virulent est essentiellement réalisée en milieu solide :
la plaque de lyse (PFU)



Analogie entre CFU et PFU

Des colonies



1 CFU

A l'origine = 1 unique cellule bactérienne qui s'est développée en formant une colonie bactérienne

Colony-Forming Unit

1 CFU



VUE EN COUPE

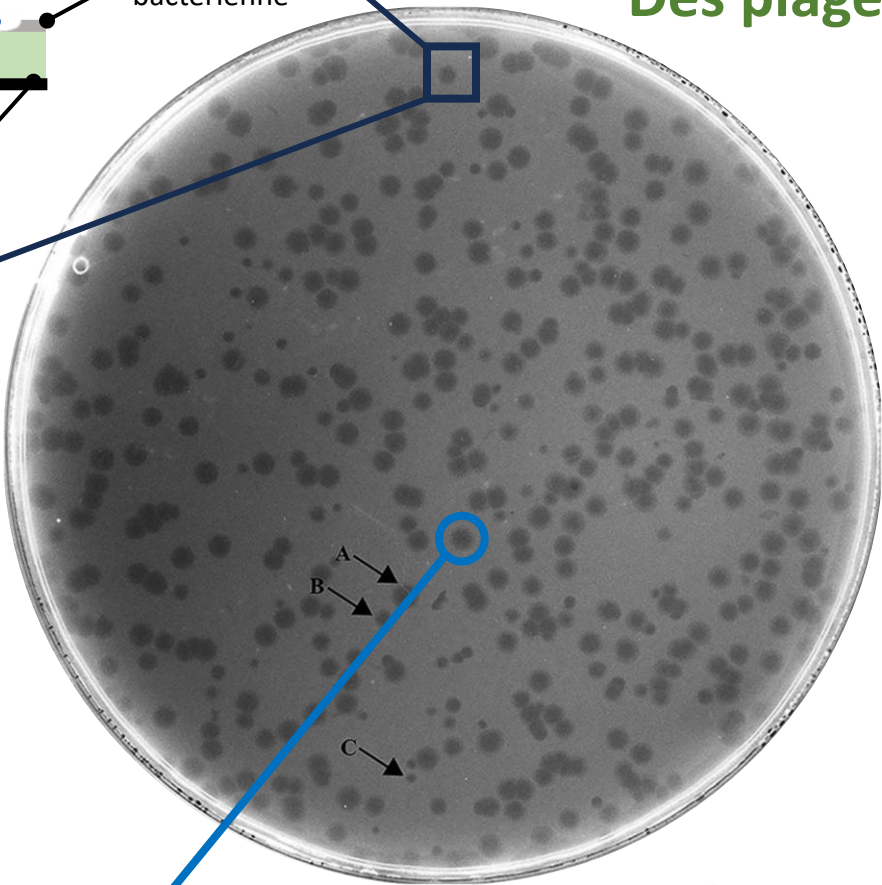
milieu gélosé
plastique de la Boîte (fond)

1 PFU



surcouche bactérienne

Des plages de lyse



1 PFU

A l'origine = 1 unique virus qui s'est reproduit en lysant les bactéries autour, formant une colonie virale

Plaque-Forming Unit

Dépôt direct

Phage non dilué Phage dilué 1/10 Phage dilué 1/100 Phage dilué 1/1000

surcouche bactérienne
milieu gélosé
boîte de Pétri

incubation

Volume de phage déposé identique et connu pour chaque dilution

Double agar overlay

mélange bactérie + phage dans une surcouche de gélose (« top agar »)
milieu gélosé
boîte de Pétri

incubation

Compte des PFU = titration (PFU/mL)

Phagogramme et "Plages de lyse"

aspect sur milieu gélosé

La gélose est au préalable
recouverte d'une couche de la
souche bactérienne à tester

Dépôt du phage (en solution)
Concentration décroissante de
virus

Plages de lyse
confluentes

Une unique
plage de lyse
= 1 PFU

Dépôt d'un phage
qui n'a pas d'activité
sur la souche testée

Phage A

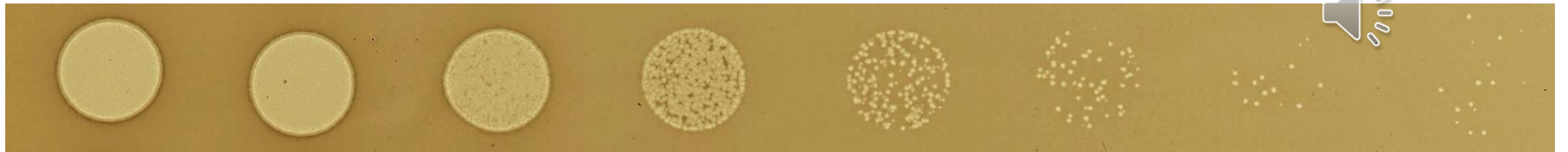
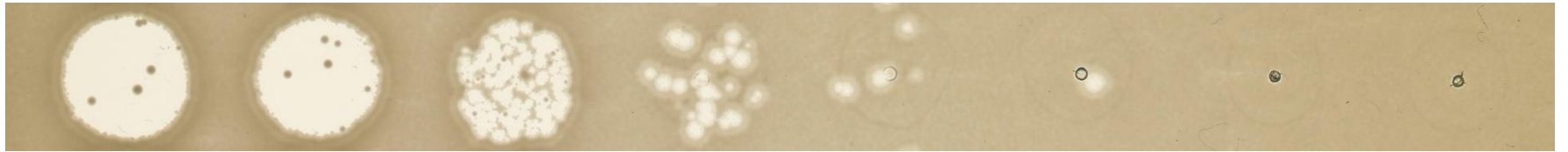
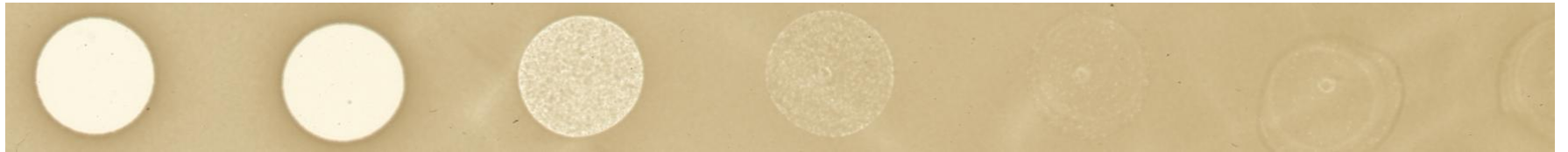
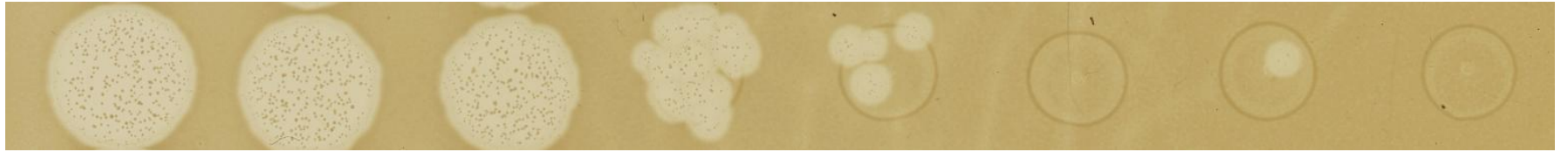
Phage B

Phage C

Phage D



Plages de lyse : différentes morphologies !



Quand la lyse n'est pas le fruit d'un cycle viral...

Phage 1 testé sur bactérie A		Effacement complet du tapis bactérien à forte concentration, plaque de lyse individualisable = cycle viral présent
Phage 2 testé sur bactérie A		Lyse incomplète à forte concentration, absence de plaque de lyse individualisable = absence de cycle viral

Les phages peuvent lyser une bactérie pas d'autres moyens que leur cycle habituel ! C'est une lyse qui n'est pas provoquée par un cycle viral. Dans ce cas, on ne peut pas mettre en évidence de plaque de lyse.

Exple 1

Les phages, surtout à forte concentration, peuvent être responsables de lésions membranaires sur les bactéries et provoquer leur lyse (sans réplication virale)

[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90433-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90433-5)
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1994.tb07164.x>

Exple 2

Les bactéries ont d'innombrables systèmes de défense contre les phages. Parfois, elles peuvent décider de se suicider avant que le phage n'ait terminé son cycle : on parle d'infection virale abortive

<https://doi.org/10.1146/annurev-virology-011620-040628>



That's All!
FOLKS!

LOONEY
TUNES