

> Les bactéries prédatrices obligatoires d'autres bactéries, les bactéries nécessitant une cellule proie Gram négatif afin de compléter leur cycle cellulaire, appartiennent au groupe polyphylétique des *Bdellovibrio* et organismes apparentés (BALO). Bien que les interactions entre les bactéries prédatrices et les bactéries proies soient complexes, on commence à comprendre leur dynamique et leur impact sur les communautés bactériennes dans l'environnement. Les BALO ont des cycles de vie particuliers : ils grandissent soit de manière épibiotique, quand le prédateur reste attaché à l'enveloppe de sa proie, la division cellulaire étant alors binaire, ou il se développe dans le périplasma de la cellule proie. Dans ce cas, un prédateur génère plusieurs cellules. Le cycle de vie péripasmique exprime des motifs d'expression géniques et protéiques ainsi que des réseaux de signalisation uniques. Cette revue explore quelques particularités de l'écologie et de la biologie cellulaire des BALO, ainsi que leurs applications potentielles dans les domaines médicaux, agricoles et environnementaux. <

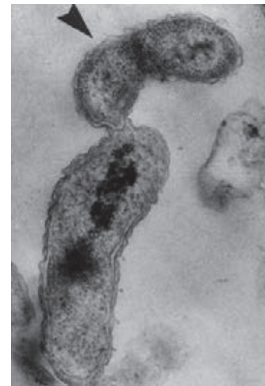
Les bactéries constituent quantitativement le groupe dominant des organismes cellulaires. En leur sein, les bactéries prédatrices d'autres bactéries ont été très largement sous-estimées comparativement à l'action des virus ou d'autres prédateurs ou parasites eucaryotes (flagellés, cillés, champignons). Cela est en partie dû à ce que ces bactéries ne constituent pas des populations majeures en terme d'abondance quand les bactériophages, des virus infectant les bactéries, eux, peuvent atteindre des densités dix fois supérieures aux populations bactériennes [1]. Les bactéries prédatrices obligatoires de bactéries (c'est-à-dire dépendantes de la prédation pour se reproduire) sont regroupées dans un groupe polyphylétique¹ appelé *Bdellovibrio and like*

¹ Se dit d'un groupe composé de taxons n'ayant en commun que des convergences adaptatives et n'ayant pas d'ancêtre commun, contrairement aux groupes monophylétiques.

Bdellovibrio et organismes apparentés

Des prédateurs bactériens hors du commun !

Édouard Jurkevitch¹, Stéphan Jacquet²



¹ Faculté d'Agriculture, de l'Alimentation et de l'Environnement, Université Hébraïque de Jérusalem, Rehovot, Israël

² INRA, UMR CARRTEL, 75 avenue de Corzent, 74200 Thonon-les-Bains, France
edouard.jurkevitch@mail.huji.ac.il
stephan.jacquet@inra.fr

organisms (BALO) qui inclue divers groupes monophylétiques : le genre *Micavibrio* et les familles *Bdellovibrionaceae*, *Bacteriovoraceae* et *Peridibacteraceae* [2]. Ces BALO ont pour cible des bactéries Gram négatif. La pression de prédation, pouvant conduire à la sélection de proies génétiquement résistantes, et l'existence de défenses phénotypiques et de nature transitoire, qui constituent un mécanisme d'amortissement, assurent, *in fine*, à la fois la survie du prédateur et la capacité de la proie à se reconstituer [3, 4]. La dynamique des relations de type proie-prédateur entre bactéries s'avère donc complexe. S'ajoute à cette complexité, la nature mal définie du type d'interaction possible entre organismes (synergique, antagoniste, etc.). Cependant, les nouvelles technologies de séquençage, de bio-informatique et de microscopie, mais aussi le développement d'outils de manipulation génétique, permettent, aujourd'hui, une étude détaillée des mécanismes cellulaires qui font d'une bactérie, un prédateur obligatoire. Elles offrent également une approche plus large de l'étude de leur impact écologique. Ces connaissances ouvrent de nouvelles voies vers leur application en agriculture, en aquaculture, dans la préservation de notre environnement et en médecine. Cette revue est l'occasion de synthétiser une partie des connaissances actuelles sur les BALO.

Le monde méconnu des BALO

On sait aujourd'hui que les BALO sont très largement distribués au sein de la biosphère et sont présents aussi bien dans les océans, les mers, les eaux côtières, les estuaires, les rivières, les lacs, que dans les bassins d'aquaculture, les stations d'épuration, l'eau d'irrigation, ou encore dans les sols, les rizières, la rhizosphère et même dans les

fèces animales [2]. Les BALO sont capables de cibler et consommer la grande majorité des bactéries Gram négatif présentes dans les eaux naturelles et donc potentiellement celles des autres écosystèmes dans lesquels ils sont présents. Les BALO étant capables de se déplacer vers des zones où leurs proies sont concentrées peuvent ainsi répondre à une augmentation rapide des cibles qui leur servent de nourriture. Le rôle biologique de certaines communautés de BALO pourrait donc être comparable à celui des virus [5] mais il est encore aujourd'hui mal caractérisé. Ainsi, les BALO du genre *Halobacteriovorax* semblent contribuer significativement à la mortalité bactérienne marine. Ils auraient un rôle important dans le mécanisme de recyclage des nutriments, une fonction largement attribuée aux virus jusque récemment. Une étude réalisée en microcosmes [5] montre qu'il n'est pas nécessaire que les BALO soient très abondants pour jouer un rôle déterminant dans la mortalité bactérienne. Elle révèle que la concentration de BALO peut augmenter d'un facteur 1 000 en quelques heures, mettant en évidence une capacité de croissance et de division très importante face à l'émergence et au développement d'une proie, ce qui peut avoir lieu dans de nombreuses situations : par exemple, au cours ou à la suite d'une efflorescence cyanobactérienne ou algale (c'est-à-dire lors de la prolifération d'une population bactérienne autotrophe ou d'algues) au sein de dispositifs comme les *micropatches*, de biofilms ou de neige marine². Ils pourraient donc affecter de nombreux paramètres de la structure (liés à la mortalité, la diversité) et du fonctionnement (comme le recyclage et redistribution des nutriments) des écosystèmes et former la base du développement de nouvelles approches antibactériennes ouvrant la voie à de nombreux champs d'application (Tableau 1).

Le groupe des Bdellovibrionacées a longtemps été cantonné aux environnements d'eau douce ou du sol et celui des Bacteriovocacées, à des environnements salins ou hyper salins. Les Peredibacteracées ne coloniseraient aussi, à priori, que les eaux douces. Les Bdellovibrionacées semblent néanmoins capables de coloniser un grand nombre de milieux (des eaux douces aux eaux salées) et être assez ubiquistes [6, 7]. De la même manière, les Bacteriovocacées peuvent également être présents en eau douce. En fait la coexistence des différents groupes pourrait surtout être liée aux types de proies et à leurs caractéristiques (présentes/absentes, libres ou attachées, abondantes, qualité) dans les différents milieux, et au type de prédation lui-même (généraliste ou spécialisé). Les interactions proie-prédateur apparaissent très sensibles aux changements de l'environnement (température, concentration en nutriments) qui peuvent directement et indirectement déterminer la structuration et la composition de la communauté des BALO et de leurs proies (B. Paix et S. Jacquet, communication personnelle).

L'étude la plus récente portant sur l'abondance, la distribution et la diversité des BALO en milieu naturel, est celle de Paix et Jacquet (Figure 1) dans laquelle il est observé que, dans les grands lacs périalpins, les Peredibacteracées sont peu diversifiées (majoritairement

Peredibacter starii, une espèce d'eau douce) mais caractérisées par une abondance relativement élevée, en moyenne entre 100 à 10 000 fois supérieure à celle des Bdellovibrionacées et des Bacteriovocacées, dont les souches décrites sont principalement isolées des milieux marins. L'abondance des BALO dans ces grands lacs semble donc fortement liée à leur très faible salinité. L'absence de sel dans le milieu favoriserait le développement de BALO adaptés comme *Peredibacter starii* et empêcherait l'abondance des bactéries telles que *Bacteriovorax* spp., plus adaptées aux milieux marins. L'abondance relative de ces prédateurs, par rapport à l'ensemble des bactéries hétérotrophes³, montre que les Peredibacteracées peuvent représenter jusqu'à 7,1 % de cette communauté, avec des concentrations dépassant 10^5 copies (du gène ARN 16S qui les caractérise) par mL. L'abondance des Peredibacteracées semble se distribuer de manière cohérente entre celle des prédateurs flagellés eucaryotes et celle des bactériophages (respectivement, 300 à 1 200 bactéries par mL dans le lac d'Annecy, et 4×10^7 à 10^8 particules virales par mL, dans le lac du Bourget) [8, 9]. Ces proportions indiquent que les Peredibacteracées pourraient jouer, de par leur abondance relative, un rôle non négligeable sur la dynamique biologique de leur proie et donc exercer un rôle important dans l'équilibre des grands lacs. L'étude de la dynamique des Peredibacteracées entre deux profondeurs distinctes montre qu'elles occupent une niche écologique majoritairement située en surface, contrairement aux Bdellovibrionacées et aux Bacteriovocacées qui se situent principalement en profondeur. Les faibles concentrations de ces deux familles sont d'autant plus notables lorsqu'on les compare à celles mesurées dans les systèmes d'aquacultures (entre 10^3 et 10^6 cellules par mL) [10], laissant supposer qu'elles auraient un impact plus limité sur la communauté des bactéries hétérotrophes au sein des grands lacs. Rappelons cependant qu'une faible abondance de BALO n'est pas forcément corrélée à un faible impact fonctionnel sur la dynamique de leurs proies [5]. Les abondances bactériennes totales étant supérieures en moyenne à 10^6 cellules par mL [11], il ne fait aucun doute que les BALO ont trouvé dans les grands lacs une quantité et une diversité de proies suffisantes pour leur développement.

L'abondance et la diversité des populations de BALO dans les échantillons, initialement appréciées par des méthodes de culture *in vitro*, ont été largement sous-estimées. En effet, l'utilisation d'amorces spécifiques

² La neige marine est une pluie ininterrompue de débris marins, majoritairement d'origine biologique tombant des couches supérieures de l'eau vers les fonds de l'océan.

³ Qui utilise, pour se nourrir, les matières organiques constituant ou ayant constitué d'autres organismes. Incapable d'assimiler le carbone minéral.

Discipline/Domaine	Applications	Prédateurs	Référence
Médecine	Traitement des infections (pathogènes intestinal et périodontaire, infection oculaire, colonisation pulmonaire, inflammation et cytotoxicité)	<i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> , <i>Bdellovibrio</i> spp. (plusieurs isolats), <i>Bacteriovorax stolpii</i> , <i>Bacteriovorax</i> FCE, <i>Peredibacter starrii</i> , <i>Micavibrio aeruginosavorus</i>	[33] [34] [37] [38] [40] [41]
	Bio-contrôle de la production de β -lactamase, bactéries à Gram négatif multirésistantes	<i>B. bacteriovorus</i> , <i>M. aeruginosavorus</i>	[42]
	Contrôle des biofilms	<i>B. bacteriovorus</i> , <i>M. aeruginosavorus</i>	[43] [35]
Traitement des eaux	Membrane <i>bio-fouling</i>	<i>B. bacteriovorus</i>	[44]
	Purification de l'eau	BALO détectés par qPCR ciblant les <i>Bdellovibrionacées</i> , <i>Bacteriovorax</i> , <i>Bacteriolyticum</i> ; BALO isolés des eaux d'épuration, capables de prédateur sur la plupart des Gram négatifs. Production de protéines à partir d'eaux usées, élimination du phosphore ; hautes concentrations de <i>Bdellovibrio</i> spp. détectés	[10] [32] [45]
Industrie alimentaire	Élimination des bactéries des surfaces alimentaires ou sur des équipements	<i>B. bacteriovorus</i> , <i>Bdellovibrio</i> spp. (plusieurs isolements).	[46]
	Contrôle de la croissance des bactéries pathogènes	<i>B. bacteriovorus</i> , <i>Peredibacter</i> spp.	[46]
Agriculture	Bio-contrôle des pathogènes de plantes	<i>B. bacteriovorus</i> (plusieurs souches), <i>Bdellovibrio</i> spp. (plusieurs souches), <i>B. stolpii</i> , <i>P. starrii</i> , souche N-1 non classée	[47] [48]
		<i>Bdellovibrio</i> C1, <i>Bdellovibrio</i> spp. (plusieurs isolements), <i>B. bacteriovorus</i> , <i>Bacteriovorax</i> spp. (plusieurs isolats)	[49] [31]
Animaux d'élevage	Probiotiques Infections intestinale et oculaire	<i>B. bacteriovorus</i> (plusieurs souches)	[50]
Source de bio-produits	Extraction des polyhydroxyalcanoates	Co-culture avec <i>B. bacteriovorus</i> pour lyser les souches productrices de polyhydroxyalcanoates	[51]

Tableau 1. Champs d'applications potentielles ou avérées des prédateurs obligatoires *Bdellovibrio* and like organisms (BALO).

ciblant l'ADN codant l'ARNr 16S a révélé une quantité de deux ordres de magnitude supérieure à celle obtenue par comptage sur boîte de Pétri [11]. L'écologie moléculaire a ainsi permis d'évaluer la fraction de BALO dans un grand nombre d'environnements. Elle est en fait estimée, en moyenne, entre 0,2 et 0,5 % de la communauté totale des bactéries [2, 7]. Les approches moléculaires ont montré que l'identification d'isolats par culture ne permettait d'observer qu'un très faible pourcentage de la diversité des BALO [12]. Les BALO ne sont pas des prédateurs généralistes. Différentes souches ciblent en effet des

proies différentes, ce qui a conduit à des erreurs dans l'estimation de la teneur en BALO dans l'environnement lors des approches d'isolement.

La grande majorité des BALO et de leurs proies potentielles n'étant pas cultivables, il est donc difficile de les isoler. Il est d'ailleurs important de rappeler que les microprédateurs (et/ou parasites) incluent les phages, les BALO, et les protistes (représentés par les pico-, nano- et micro-flagellés et ciliés) sans oublier les

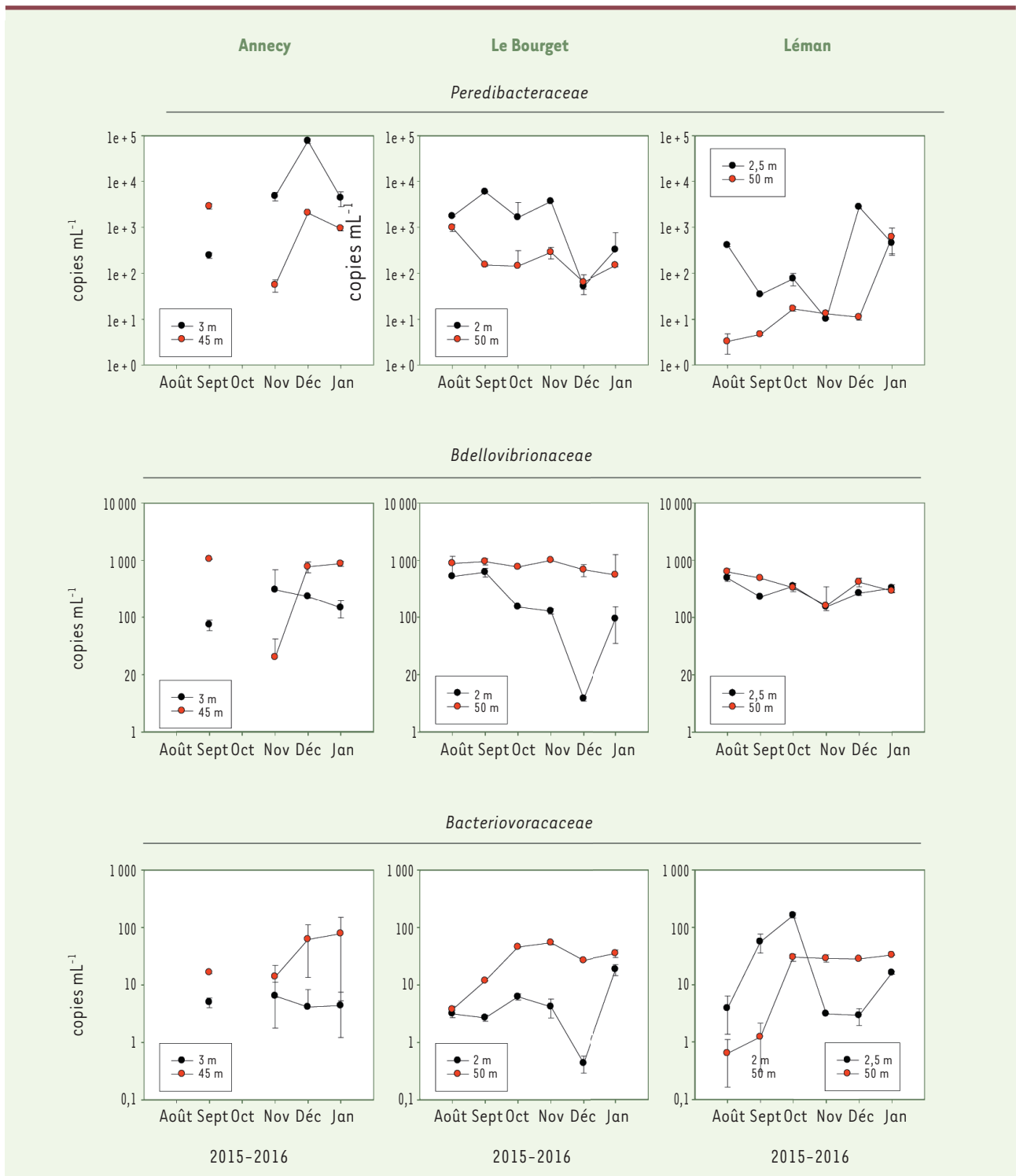


Figure 1. Dynamique observée pendant quelques mois de l'année pour les trois grands lacs péri-alpins français et d'Europe occidentale (Annecy, Le Bourget, Léman) des différentes familles de BALO quantifiées par PCR (*polymerase chain reaction*) quantitative à deux profondeurs distinguant les eaux de surface (entre 2 et 3 m) de celles plus en profondeur (entre 45 et 50 m) (d'après [8])

champignons dont l'importance fonctionnelle est aujourd'hui reconnue, notamment dans les milieux aquatiques. Bien que les stratégies de ces prédateurs soient hiérarchisées (spécifiques, semi-généralistes

ou versatiles et généralistes), il s'avère que celles-ci sont nettement plus complexes et comportent des interactions qui restent à peine connues. Ces interac-

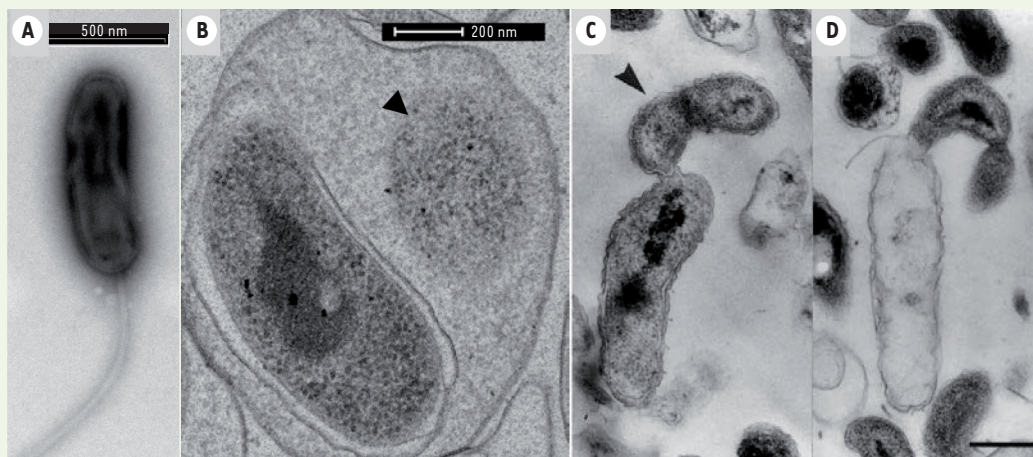


Figure 2. Observation en microscopie électronique à transmission de la phase d'attaque (A) et de la phase de croissance (B) du prédateur périplasmique *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 dans le périplasm d'une cellule d'*Escherichia coli*. On peut observer le cytoplasme réduit de la cellule proie (flèche en B) ; la croissance et la division binaire (flèche en C) du prédateur épibiotique *B. exovorus* fixé à sa proie (C). Proie vidée de son contenu cytoplasmique (D) (d'après [52]).

tions entre prédateurs pourraient ainsi jouer un rôle capital dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques et, par extrapolation, dans celui de tout autre écosystème intégrant de multiples microprédateurs et parasites [13]. L'étude de cette multi spécificité et donc de la diversité des interactions biologiques constituent aujourd'hui d'importants défis théoriques et expérimentaux. L'application de ces connaissances pourrait largement contribuer à améliorer la compréhension des flux de nutriments dans les environnements naturels mais aussi dans les systèmes créés par l'homme, par exemple pour la réduction de la biomasse dans le traitement des eaux usées.

Le cycle cellulaire des *Bdellovibrio* et organismes apparentés

Les BALO sont généralement considérés comme des organismes aérobies obligatoires mais l'action de prédation exercée par certaines espèces, comme *Bdellovibrio bacteriovorus*, peut être observée dans des conditions anoxiques, tant que l'apport en nitrates est possible [2]. Le cycle de vie des BALO est indissociable de leur cycle cellulaire. Il dépend de la présence de proies qui sont ciblées en phase d'attaque (PA). Durant cette phase, la bactérie prédatrice est motile et non-répliquative. La PA est suivie d'une phase de croissance et de reproduction (PC). Ces phases sont morphologiquement, spatialement, physiologiquement et transcriptionnellement très différentes. S'y ajoute une phase transitoire (PT) qui a été récemment décrite [14]. Une division supplémentaire de ces étapes dépend de la stratégie prédatrice adoptée. Elle est soit épibiotique soit périplasmique. Les prédateurs épibiotiques comme *Bdellovibrio exovorus* et *Micavibrio aeruginosavorus* s'ancrent à la paroi externe de leur cible. Ils digèrent le contenu de la cellule cible, croissent et se divisent de façon binaire (Figure 2 C et D). Les connaissances sur ce type de prédation sont plus limitées que

celles sur la prédation périplasmique. Durant ce type de prédation, le périplasm⁴ de la cellule proie est envahi et sert d'habitat au développement et à la répllication du prédateur. Nous nous attacherons à décrire cette dernière plus en détail en utilisant *B. bacteriovorus* comme organisme modèle (Figure 2 A, B et Figure 3).

La phase d'attaque

Les cellules en phase d'attaque sont de petites dimensions (entre 0,7 et 1,5 x 0,5 μ m). Elles adoptent souvent une forme de type *vibrio*, maintenue par MreB2, une protéine apparentée à l'actine. Le nucléoïde est compact et des granules denses aux électrons, ressemblant à des acidocalcisomes⁵, peuvent être présents dans le cytoplasme. Un flagelle unique, composé de six types de flagelline, ainsi que trois paires de protéines de motricité MotAB, confèrent une grande motilité qui permet au prédateur de rencontrer ses proies. Il n'est pas nécessaire à sa pénétration. La chimiotaxie influe positivement sur la détection des proies [2].

L'attachement de *B. bacteriovorus* à sa proie s'effectue par le pôle d'invasion, en contact avec la proie. Il est d'abord réversible mais, en quelques minutes, il devient irréversible. Le mécanisme de reconnaissance des proies par le prédateur reste obscur. Il pourrait reposer sur les oligosaccharides associés au lipopolysaccharide (LPS)

⁴ Le périplasm est l'espace délimité par la membrane cytoplasmique et la membrane externe des bactéries à Gram négatif.

⁵ Des organites acides, arrondis, denses aux électrons.

exprimé par la proie pour *B. bacteriovorus*. *B. bacteriovorus* exprime également un lipide A (la base structurale du LPS) mais il est totalement dépourvu de groupes chargés négativement, en raison de la substitution des résidus phosphate (présents sur le LPS) par des résidus d' α -D-mannopyranose [15]. Le LPS de *Bacteriovorax stolpii* contient des sphingophosphonolipides qui sont uniques eux aussi. Ces altérations pourraient agir sur les interactions entre les membranes des prédateurs et celles des proies et ainsi avoir un rôle dans la prédation [16]. Cependant, la capacité d'un prédateur à cibler différentes proies suggèrent que ces interactions ne détermineraient pas la spécificité de la reconnaissance. Des pilus de type IVa⁶ présents au niveau du pôle d'invasion des cellules en PA, sont essentiels à la prédation bien que leur abolition ne compromette pas l'attachement du prédateur à sa proie [17].

Des analyses de transcriptomique effectuées sur *B. bacteriovorus* [18] ont révélé un profil d'expression génique hors du commun avec 15 % de gènes exprimés exclusivement durant la PA et 67 % de gènes exprimés seulement durant la PC. La majorité des gènes restants est exprimée au moins 5 fois plus dans l'une des deux phases [18]. Les fonctions exprimées en PA concernent la motilité, la chimiotaxie, l'adhérence et l'expression de protéines de la membrane externe. Ces résultats sont en accord avec ceux d'une étude protéomique menée par Dori-Bachash et al sur *B. bacteriovorus* [19].

La phase transitoire

Très récemment, l'existence entre PA et PC d'une phase discrète du cycle cellulaire [14] a été démontrée. Un système de croissance de souches sauvages de *B. bacteriovorus* (donc incapables de croissance axénique⁷) sur des bactéries proies d'*Escherichia coli*, vidées de leur contenu cytoplasmique, a été développé. Il a permis de montrer que les enveloppes, ainsi que le contenu cytoplasmique de la cellule, sont nécessaires mais que chacun séparément n'est pas suffisant pour permettre l'entrée en PC de cellules en PA. L'expression génique du prédateur en PA est successivement altérée de façon différentielle par chacune de ces deux composantes

C'est pendant la phase transitoire (PT) que se construit le bdelloplaste, correspondant à la cellule proie pénétrée et modifiée par le prédateur, qui va lui fournir une niche protectrice et une base nutritionnelle pour sa croissance et sa multiplication. La PT apparaît comme un point de contrôle du cycle cellulaire où la décision de s'engager dans la croissance est liée à la détection du signal cytoplasmique. Celui-ci pourrait servir d'indicateur de la valeur nutritionnelle de la proie, afin d'empêcher l'entrée en PC en l'absence des ressources nécessaires à la complétion du cycle de reproduction [14].

Certains processus considérés jusqu'à présent comme faisant partie de la PC sont en fait caractéristiques de la PT. L'accès au périplaste dure entre 5 à 20 minutes et se réalise *via* une lyse locale de l'enveloppe de la cellule proie créant un pore par lequel le prédateur la pénètre [2]. Cette étape est sensible à la streptomycine, ce qui suggère la

production d'enzymes pour la formation de ce pore. En parallèle, le peptidoglycane⁸ de la proie est déréliculé par des endo-carboxypeptidases spécifiques secrétées par le prédateur, empêchant ainsi la surinfection par un ou plusieurs autres prédateurs [20]. Le peptidoglycane est aussi déacétylé par deux N-acetylglucosamine déacetylases qui le rendent sensibles à la destruction enzymatique en fin de PC. *B. bacteriovorus* protège son propre peptidoglycane de l'action de ces enzymes par une protéine à motif ankyrine, permettant l'interaction entre protéines et souvent détecté chez les pathogènes intracellulaires des eucaryotes [21].

Phase de croissance et de réplication

Dans le périplaste, la cellule prédatrice croît sous la forme de filaments (*Figure 3*) non segmentés. Elle contient alors de multiples nucléoïdes [2]. La division cellulaire et la répartition de ces nucléoïdes se produisent de façon synchronisée tout au long du filament, et ceci même si les proies sont infectées par deux prédateurs [2]. Il semblerait que la disparition du signal cytoplasmique de la proie enclenche ce processus [16]. Il serait intéressant de tester si le prédateur « se sent à l'étroit » dans le bdelloplaste. Les technologies de micro-lithographie et de micro-fluidique disponibles aujourd'hui pourraient le permettre [22]. Finalement, les cellules progénies en PA s'échappent du bdelloplaste par des pores créés dans l'enveloppe de la proie. Leur nombre est proportionnel à la taille de la proie [2]. Il varie de 5 à 7 en moyenne dans *E. coli* jusqu'à 30 dans *Aquaspirillum serpens* et plus dans des *E. coli* coenocytiques (multinuclées) de 30 à 100 μ m de longueur. La durée du cycle de vie, de l'attachement du prédateur à la proie jusqu'à la libération de nouvelles cellules en PA, dure entre 2,5 et 4 h.

Durant leur croissance, les BALO sont en mesure de synthétiser tous les nucléotides mais comme de nombreux symbiontes et pathogènes bactériens, ils ne peuvent pas synthétiser et dégrader certains acides aminés, ainsi que la riboflavine [23]. Pour des raisons encore inconnues, chez la plupart des BALO et chez des prédateurs bactériens non-obligatoires, la production des isoprénoides⁹ utilise la voie de biosynthèse du mévalonate et non la voie du méthylérythritol phosphate commune à la grande majorité des bactéries [24].

⁶ Les Pilus (ou *fimbriae*) sont des appendices situés à la surface de la paroi de nombreuses bactéries à Gram négatif. Plus courts et plus fins que des flagelles, ils ne sont pas impliqués dans la mobilité mais dans l'interaction des bactéries avec leur environnement.

⁷ En milieu stérile.

⁸ Le peptidoglycane entre dans la composition de la paroi de la majorité des bactéries. Il est formé d'une partie peptidique et d'une partie polysaccharidique constituée d'un polymère de glycosaminopeptide où la N-acétyl-glucosamine (NAG) et l'acide N-acétyl-muramique (NAM) sont liés par des liaisons osidiques en β 1,4.

⁹ Deux voies de biosynthèse conduisent aux diphosphates d'isopentényle et de diméthylallyle, précurseurs des isoprénoides, métabolites essentiels pour tous les organismes vivants : la voie du mévalonate présente chez l'homme et la voie du méthylérythritol phosphate.

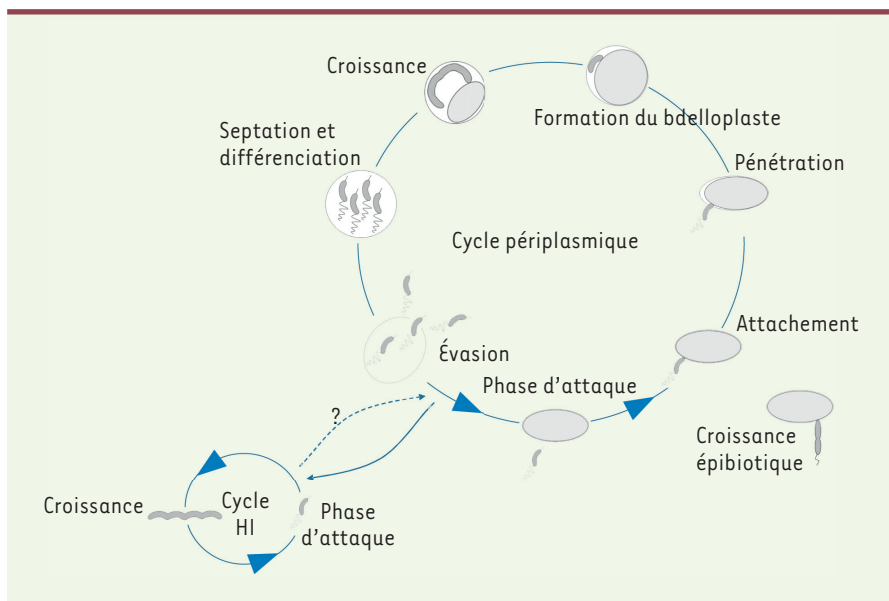


Figure 3. Cycle cellulaire du prédateur périplasmique *Bdellovibrio bacteriovorus*, incluant les modes de vie du prédateur obligatoire et des mutants dérivés indépendants d'hôtes (host-independent, HI).

Signalisation cellulaire

Les gènes *hit* et *rhlB-pcnB* sont donc respectivement impliqués dans la reconnaissance des signaux associés à l'enveloppe et au cytoplasme de la proie. Le premier signal est vraisemblablement lié au contact établi entre le pilus, situé au niveau du pôle d'invasion du prédateur, et la proie [28]. Les seconds dépendent

de la fonction de dégradation des ARN [16]. Le pilus pourrait interagir avec le complexe protéique du pôle d'invasion constitué entre autres, de la protéine RomR (*required for motility response regulator*) [28] qui interagit avec CdgA (*cyclic-di-GMP diguanylate cyclase*), une protéine possédant un domaine de signalisation GGDEF dégréneré [29] dont une mutation ralentit la formation du bdelloplaste. CdgA fait partie du système de signalisation du messager secondaire di-GMP cyclique qui impacte fortement le phénotype de *B. bacteriovorus* et contrôle l'aiguillage entre prédation et croissance HI [29]. Le pôle d'invasion relierait donc la détection de la proie au système de signalisation du di-GMP cyclique. Ce système semble former un réseau étendu chez *B. bacteriovorus* qui pourrait affecter de nombreuses fonctions [30]. De plus, *merRNA*, un ARN très fortement exprimé dans la PA et rapidement dégradé pendant la TP et au début de la PC, coderait un *riboswitch*¹² du diGMP cyclique [18]. Le di-GMP cyclique pourrait donc constituer le lien entre le stade d'invasion de la proie et le début de la croissance cellulaire du prédateur.

Applications

Les milieux naturels ont été encore très peu explorés pour évaluer l'abondance, la diversité et le rôle écologique des BALO. D'autres systèmes, comme les bassins d'aquaculture, ont permis de montrer que certaines espèces y étaient abondantes et susceptibles d'y jouer un contrôle biologique efficace contre certains pathogènes bactériens (du genre *Aeromonas* ou *Vibrio*). Les BALO peuvent

Cycle cellulaire hôte-indépendant

Peu après la découverte de *B. bacteriovorus*, des variants saprophytes (hôte-indépendant - HI) capables de croître en l'absence de proie ont été isolés par étalement de suspensions concentrées de cellules de souches sauvages sur un milieu complet [25]. À ce jour, il a été possible de générer des mutants HI à partir de nombreuses souches de *B. bacteriovorus* et de *Halobacteriovorax* (auparavant *Bacteriovorax*). Quelques souches HI ont aussi été isolées de l'environnement. Par contre, il n'a pas été possible d'obtenir de souches HI à partir de BALO épibiotiques¹⁰ [24]. Les souches HI conservent le cycle de vie dimorphique des BALO et présentent un potentiel prédateur amoindri par rapport à celui de la souche parentale. Elles le perdent complètement après transfert séquentiel en milieu complet.

Deux types de souches HI ont été caractérisés : le type I, saprophyte, apparaît spontanément avec une fréquence de 10^{-6} à 10^{-7} . Il forme de petites colonies qui ne se développent qu'en milieu riche contenant de l'extrait de proie. Il ne nécessite pas la présence de cellules ou d'enveloppes de proies. Il est donc indépendant du signal généré par l'interaction physique entre le prédateur et la paroi de la proie. Le type II dérive du type I avec une fréquence de 10^{-2} à 10^{-3} . Axénique, il forme de robustes colonies qui croissent en milieu riche sans besoin d'apport d'extrait de proie. Le type I résulte de mutations dans le locus *hit* (*host interaction*, ou *bd108*) [26], un gène codant une protéine qui serait impliquée dans l'extension/rétraction des pilus de type IVa [27]. Les mutants HI de type II résultent de modifications dans *rhlB* (*ATP-dependent RNA helicase*) ou dans *pcnB* (*poly[A] polymerase I*), des gènes codant des composantes du dégradosome ARN¹¹. La perte de fonction de l'un des deux gènes permet la transition du type I au type II [26]. Les mutants de type II sont donc indépendants du facteur soluble qui contrôle l'entrée en PC (voir le chapitre *phase transitoire*).

¹⁰ Qui se développent à l'extérieur de la cellule proie.

¹¹ Le dégradosome est un complexe protéique impliqué dans la dégradation des ARNm.

¹² Ou riborégulateur, une structure présente dans certains ARN messagers.

donc constituer un type de thérapie microbienne contribuant *in fine* à l'augmentation des performances de croissance de certains animaux aquatiques, comme les poissons ou les crevettes [31]. Les BALO seraient également abondants dans des systèmes de retraitement des eaux usées [10, 32]. On pourrait ainsi les utiliser afin de réduire la biomasse et les concentrations de pathogènes dans des systèmes moins onéreux que les usines actuelles.

Les applications médicales des BALO constituent un autre pôle d'intérêt croissant. L'efficacité des BALO dans la destruction des biofilms a été testée contre les pathogènes parodontaux [33, 34]. Ils peuvent également désagréger des biofilms mixtes constitués de proies Gram négatif et de bactéries à Gram positif non-proies, comme *Staphylococcus aureus*, réduisant ainsi leur virulence [35]. Les BALO ont été proposés comme antibiotiques vivants [36]. Un programme international, financé par l'agence américaine DARPA (*Defense advanced research projects agency*) a été lancé en mai 2015 afin d'explorer cette possibilité. Les premiers travaux en émanant mettent en évidence l'innocuité de ces prédateurs [37, 38] et leur efficacité *in vivo* dans des modèles animaux, incluant la souris [39, 40]. Enfin, l'écologie nous apprend que les prédateurs jouent un rôle primordial dans l'équilibre, la diversité et la résilience des écosystèmes. En fonction de ces connaissances, il a été récemment proposé que l'appauvrissement bactérien observé dans les dysbioses de l'écosystème microbien intestinal pourrait résulter de la perte des prédateurs de bactéries intestinales, plus particulièrement des protistes et des BALO [41]. Le *Tableau 1* résume l'ensemble des applications potentielles ou avérées à ce jour.

Conclusions et perspectives

Les BALO jouent sans nul doute un rôle non négligeable dans le fonctionnement des écosystèmes naturels et artificiels mais ce rôle reste encore clairement à appréhender. L'utilisation du séquençage à haut débit allié à des approches de PCR (*polymerase chain reaction*) ciblée et de visualisation directe par hybridation *in situ* pourrait (1) permettre un suivi fin et précis des BALO dans toute leur diversité, et l'identification de leurs proies dans l'environnement, et (2) révéler l'influence des différents paramètres du milieu sur les relations proie-prédateur et leur dynamique. Ce type d'étude serait pertinent dans des domaines aussi variés que l'écologie microbienne des milieux aquatiques et du sol, l'agriculture et la pisciculture, la qualité environnementale, mais aussi dans les domaines médicaux et pharmaceutiques. ♦

SUMMARY

Bdellovibrio and like organisms: outstanding predators!

Obligate predatory bacteria, i.e. bacteria requiring a Gram negative prey cell in order to complete their cell cycle, belong to the polyphyletic group referred to as the *Bdellovibrio* And Like Organisms (BALO). Predatory interactions between bacteria are complex, yet their dynamics and impact on bacterial communities in the environment are becoming better understood. BALO have unique life cycles: they grow epibiotically with the predator remaining attached to the prey's envelope, dividing in a binary manner or periplasmically, i.e. by penetrating the prey's periplasm

to generate a number of progeny cells. The periplasmic life cycle includes unique gene and protein patterns and unique signaling features. These ecological and cellular features, along with applications of the BALO in the medical, agricultural and environmental fields are surveyed. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Fuhrman JA. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature* 1999 ; 399 : 541-8.
- Rotem O, Pasternak Z, Jurkevitch E. *Bdellovibrio* and Like Organisms. In : Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F, eds. *The Prokaryotes: Deltaproteobacteria and Epsilonproteobacteria*. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2014 : 3-17.
- Gallet R, Tully T, M.K.E. Evans. Ecological conditions affect evolutionary trajectory in a predator-prey system. *Evolution* 2009 ; 63 : 641-51.
- Shemesh Y, Jurkevitch E. Plastic phenotypic resistance to predation by *Bdellovibrio* and like organisms in bacterial prey. *Environ Microbiol* 2004 ; 6 : 8-12.
- Williams HN, Lymperopoulou DS, Athar R, et al. *Halobacteriovorax*, an underestimated predator on bacteria: potential impact relative to viruses on bacterial mortality. *ISME J* 2016 ; 10 : 491-9.
- Dolinšek J, Lagkouvardos I, Wanek W, et al. Interactions of nitrifying bacteria and heterotrophs: Identification of a *Micavibrio*-Like putative predator of *Nitrospira* spp. *Appl Environm Microbiol* 2013 ; 79 : 2027-37.
- Chen H, Young S, Berhane T-K, Williams HN. Predatory *Bacteriovorax* communities ordered by various prey species. *PLoS ONE* 2012 ; 7 : e34174.
- Jacquet S, Domaizon I, Personnic S, et al. Estimates of protozoan- and viral-mediated mortality of bacterioplankton in Lake Bourget (France). *Freshwater Biol* 2005 ; 50 : 627-45.
- Personnic S, Domaizon I, Dorigo U, et al. Seasonal and spatial variability of virio-, bacterio-, and picophytoplanktonic abundances in three peri-alpine lakes. *Hydrobiologia* 2009 ; 627 : 99-116.
- Kandel PP, Pasternak Z, van Rijn J, et al. Abundance, diversity and seasonal dynamics of predatory bacteria in aquaculture zero discharge systems. *FEMS Microbiol Ecol* 2014 ; 89 : 149-61.
- Zheng G, Wang, C, Williams, HN, Pineiro, SA. Development and evaluation of a quantitative real-time PCR assay for the detection of saltwater *Bacteriovorax*. *Environ Microbiol* 2008 ; 10 : 2515-26.
- Davidov Y, Friedjung A, Jurkevitch E. Structure analysis of a soil community of predatory bacteria using culture-dependent and culture-independent methods reveals a hitherto undetected diversity of *Bdellovibrio*-and-like organisms. *Environ Microbiol* 2006 ; 8 : 1667-73.
- Miki T, Jacquet S. Complex interactions in the microbial world: underexplored key links between viruses, bacteria and protozoan grazers in aquatic environments. *Aquatic Microbial Ecology* 2008 ; 51 : 195-208.
- Rotem O, Pasternak Z, Shimoni E, et al. Cell-cycle progress in obligate predatory bacteria is dependent upon sequential sensing of prey recognition and prey quality cues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015 ; 112 : E6028-E37.
- Schwudke D, Linscheid M, Strauch E, et al. The obligate predatory *Bdellovibrio bacteriovorus* possesses a neutral Lipid A containing α -D-mannoses that replace phosphate residues. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 27502-12.
- Kaneshiro ES, Hunt SM, Watanabe Y. *Bacteriovorax* stolpii proliferation and predation without sphingophosphonolipids. *Biochem Biophys Res Commun* 2008 ; 367 : 21-5.
- Evans KJ, Lambert C, Sockett RE. Predation by *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 requires type IV Pili. *J Bacteriol* 2007 ; 189 : 4850-9.
- Karunker I, Rotem O, Dori-Bachash M, et al. A global transcriptional switch between the attack and growth forms of *Bdellovibrio bacteriovorus*. *PLoS ONE* 2013 ; 8 : e61850.
- Dori-Bachash M, Dassa B, Pietrovovski S, Jurkevitch E. Proteome-based comparative analyses of growth stages reveal new cell cycle-dependent functions in the predatory bacterium *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Appl Environ Microbiol* 2008 ; 74 : 7152-62.

RÉFÉRENCES

20. Lerner TR, Lovering AL, Bui NK, *et al.* Specialized peptidoglycan hydrolases sculpt the intra-bacterial niche of predatory *Bdellovibrio* and increase population fitness. *PLoS Pathog* 2012 ; 8 : e1002524.
21. Lambert C, Cadby IT, Till R, *et al.* Ankyrin-mediated self-protection during cell invasion by the bacterial predator *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Nat Commun* 2015 ; 6 : 8884.
22. Hol FJ, Rotem O, Jurkevitch E, *et al.* Bacterial predator-prey dynamics in microscale patchy landscapes. *Proc Biol Sci* 2016 ; 283(1824). pii: 20152154.
23. Pasternak Z, Njagi M, Shani Y, *et al.* In and out: an analysis of epibiotic vs periplasmic bacterial predators. *ISME J* 2014 ; 8 : 625-35.
24. Pasternak Z, Pietrovovski S, Rotem O, *et al.* By their genes ye shall know them: genomic signatures of predatory bacteria. *ISME J* 2013 ; 7 : 756-69.
25. Shilo M, Bruff B. Lysis of Gram negative bacteria by host-independent ectoparasitic *Bdellovibrio bacteriovorus* isolates. *J Gen Microbiol* 1965 ; 40 : 317-28.
26. Roschanski N, Klages S, Reinhardt R, *et al.* Identification of genes essential for prey-independent growth of *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100. *J Bacteriol* 2011 ; 193 : 1745-56.
27. Capeness MJ, Lambert C, Lovering AL, *et al.* Activity of *Bdellovibrio* hit locus proteins, Bd0108 and Bd0109, links type IVa pilus extrusion/retraction status to prey-independent growth signalling. *PLoS ONE* 2013 ; 8 : e79759.
28. Milner DS, Till R, Cadby I, *et al.* Ras GTPase-Like protein MglA, a controller of bacterial social-motility in myxobacteria, has evolved to control bacterial predation by *Bdellovibrio*. *PLoS Genet* 2014 ; 10 : e1004253.
29. Hobley L, Fung RKY, Lambert C, *et al.* Discrete cyclic di-GMP-dependent control of bacterial predation versus axenic growth in *Bdellovibrio bacteriovorus*. *PLoS Pathog* 2012 ; 8 : e1002493.
30. Rotem O, Nesper J, Borovok I, *et al.* An extended cyclic di-GMP network in the predatory bacterium *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J Bacteriol* 2016 ; 198 : 127-37.
31. Cao H, He S, Lu L, *et al.* Identification of a *Proteus penneri* isolate as the causal agent of red body disease of the cultured white shrimp *Penaeus vannamei* and its control with *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Antonie van Leeuwenhoek* 2014 ; 105 : 423-30.
32. Feng S, Tan CH, Cohen Y, Rice SA. Isolation of *Bdellovibrio bacteriovorus* from a tropical wastewater treatment plant and predation of mixed species biofilms assembled by the native community members. *Environ Microbiol* 2016 ; 18 : 3923-31
33. Dashiff A, Kadouri DE. Predation of oral pathogens by *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J. *Mol Oral Microbiol* 2011 ; 26 : 19-34.
34. Van Essche M, Quiryren M, Sliepen I, *et al.* Killing of anaerobic pathogens by predatory bacteria. *Mol Oral Microbiol* 2011 ; 26 : 52-61.
35. Monnappa AK, Dwidar M, Seo JK, *et al.* *Bdellovibrio bacteriovorus* Inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and invasion into human epithelial cells. *Sci Rep* 2014 ; 4 : 3811.
36. Sockett ER, and C. Lambert. *Bdellovibrio* as therapeutic agents: a predatory renaissance? *Nat Rev Microbiol* 2004 ; 2 : 669-75.
37. Gupta S, Tang C, Tran M, Kadouri DE. Effect of predatory bacteria on human cell lines. *PLoS ONE* 2016 ; 11 : e0161242.
38. Romanowski EG, Stella NA, Brothers KM, *et al.* Predatory bacteria are nontoxic to the rabbit ocular surface. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 30987.
39. Shatzkes K, Singleton E, Tang C, *et al.* Predatory bacteria attenuate *Klebsiella pneumoniae* burden in rat lungs. *MBio* 2016 ; 7(6). pii: e01847-16.
40. Willis AR, Moore C, Mazon-Moya M, *et al.* Injections of predatory bacteria work alongside host immune cells to treat *Shigella* infection in zebrafish larvae. *Curr Biol* 2016 ; 26 : 3343-51.
41. Mosca A, Leclerc M, Hugot JP. Gut microbiota diversity and human diseases: should we reintroduce key predators in our ecosystem? *Front Microbiol* 2016 ; 7 : 455.
42. Kadouri DE, To K, Shanks RM, Doi Y. Predatory bacteria: a potential ally against multidrug-resistant Gram-negative pathogens. *PLoS ONE* 2013 ; 8 : e63397.
43. Kadouri D, O'Toole GA. Susceptibility of biofilms to *Bdellovibrio bacteriovorus* attack. *Appl Environ Microbiol* 2005 ; 71 : 4044-51.
44. Kim E-H, Dwidar M, Mitchell RJ, Kwon Y-N. Assessing the effects of bacterial predation on membrane biofouling. *Water Research* 2013 ; 47 : 6024-32.
45. Zuo N, He J, Ma X, *et al.* Phosphorus removal performance and population structure of phosphorus-accumulating organisms in HA-A/A-MCO sludge reduction process. *Bioengineered* 2016 : 1-7.
46. Framatico P.M. WRC. Ability of *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J to lyse Gram-negative food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *J Food Protect* 1995 ; 58 : 160-4.
47. Uematsu T. Ecology of *Bdellovibrio* parasitic to rice bacterial leaf blight pathogen, *Xanthomonas oryzae*. *Rev Plant Protect Res* 1980 ; 13 : 12-26.
48. Jurkevitch E, Minz D, Ramati B, G B. Prey range characterization, ribotyping, and diversity of soil and rhizosphere *Bdellovibrio* spp. isolated on phytopathogenic bacteria. *Appl Environ Microbiol* 2000 ; 66 : 2365-71.
49. Li H, Chen C, Sun Q, *et al.* *Bdellovibrio* and Like Organisms enhanced growth and survival of *Penaeus monodon* and altered bacterial community structures in its rearing water. *Appl Environ Microbiol* 2014 ; 80 : 6346-54.
50. Atterbury RJ, Hobley L, Till R, *et al.* Effects of orally administered *Bdellovibrio bacteriovorus* on the well-being and *Salmonella* colonization of young chicks. *Appl Environ Microbiol* 2011 ; 77 : 5794-803.
51. Martínez V, Herencias C, Jurkevitch E, Prieto MA. Engineering a predatory bacterium as a proficient killer agent for intracellular bio-products recovery: The case of the polyhydroxyalkanoates. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 24381.
52. Koval SF, Hynes SH, Flannagan RS, *et al.* *Bdellovibrio exovorus* sp. nov., a novel predator of *Caulobacter crescentus*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2013 ; 63 : 146-51.

TIRÉS À PART
E. Jurkevitch