

CANNIBALISME BACTÉRIEN : LE RENOUVEAU ?

PREDATORY BACTERIA: REBIRTH?

Par Alain PHILIPPON⁽¹⁾

(Réunion penta-académique: communication présentée le 15 Juin 2016,
Manuscrit accepté le 9 Août 2016)

RÉSUMÉ

La notion de cannibalisme bactérien est relativement récente avec la découverte d'agents bactéricides de type vibrion (δ -Proteobacteria) se développant dans des bactéries à Gram-négatif et suscitant beaucoup d'espoir comme alternative aux antibiotiques. Nombre de publications permettent d'en préciser les caractéristiques : ces bactéries appartiennent au genre *Bdellovibrio* dont l'espèce *Bdellovibrio bacteriovorus*, petit bacille à Gram-négatif, incurvé, mobile, aérobic strict ne pouvant croître en l'absence d'une bactérie-hôte. Leur spectre d'action est dirigé vis-à-vis des bacilles à Gram-négatif : entérobactéries, *Pseudomonas* dont *P. aeruginosa*, vibrions... Elles sont isolées du sol, d'eaux fluviales ou d'estuaire et du tube digestif des mammifères. Le cycle lytique d'une durée de 3-4 heures est individualisé avec les phases d'attachement, d'invasion dans l'espace périplasmique avec multiplication sans septation (bdelloplaste), puis de production de 3-6 cellules et enfin de libération (lyse du bdelloplaste). L'incapacité à se multiplier en cultures cellulaires, associée à un faible pouvoir inflammatoire, justifie des perspectives thérapeutiques. La découverte des antibiotiques à large spectre pendant la même période ralentira considérablement leurs recherches. L'émergence ultérieure de bactéries multirésistantes aux antibiotiques redonne un nouvel essor à leur étude avec la découverte de nouveaux genres (*Bacteriolyticum*, *Bacteriovorax*, *Halobacteriovorax*, *Peredibacter*, *Variovorax*), de leur génome (2,97-3,85 Md) avec l'individualisation de plusieurs milliers d'enzymes impliquées dans la respiration anaérobie, l'hydrolyse du peptidoglycane (glycanase, peptidases), celle des protéines (protéases) ou de l'ADN (nucléases) et la faible virulence du LPS. Ces nouvelles connaissances justifient d'autres essais *in vitro* afin de caractériser leur spectre anti-bactérien lors d'infections cutanées, buccales, oculaires ou broncho-pulmonaires chez l'homme. Un moindre portage digestif de *Salmonella*, est démontré chez les volailles et les bovins. Des essais de biocontrôle sont entrepris avec succès dans la filière agro-alimentaire: conservation de graines de soja, de champignons, de crevettes ou d'huîtres. Néanmoins, des études cliniques restent nécessaires chez l'homme afin d'en préciser les éventuelles indications.

Mots-clés: cannibalisme, bactéries prédatrices, *Bdellovibrio bacteriovorus*, BALOs.

(1) Professeur émérite, Faculté de Médecine Paris Descartes, 65 Boulevard Lannes 75116 Paris
Tél.: 06 12 51 30 47
Mail: philippona@free.fr

ABSTRACT

The discovery of predatory bacteria is recent. These lytic bacteria, mainly incurved rods (δ -proteobacteria) prey upon Gram-negative rods and justify some hope as alternative to antibiotics. A lot of publications has given details on the genus *Bdellovibrio* and the species, *Bdellovibrio bacteriovorus*, tiny and incurved Gram-negative rod, motile, aerobic and obligatory predation of a host. Its spectrum of action was directed among various Gram-negative rods pathogens for humans and animals: enterobacteria, various species of *Pseudomonas*, vibrios... Such bacteria were isolated from several ecosystems: soil, waters from rivers, estuaries and mammal stools. The lytic cycle (3-4 hours) was individualized including steps : attachment, penetration into periplasmic space with a burst size of 3-6 cells, and liberation (lysis). Finally the absence of multiplication on cell cultures combined to low inflammatory in animals conducted to use such bacteria as alternative. Nevertheless the discoveries of broad-spectrum antibiotics limited further research on cannibalism. Fortunately the emergence of multiresistant bacteria to antibiotics highlighted the rebirth of predatory bacteria. Other publications gave details on taxonomy of new genera (*Bacteriolyticum*, *Bacteriovorax*, *Halobacteriovorax*, *Peredibacter*, *Variovorax*), on genomes varying from 2.97 to 3.85 Md, equivalent between 3100 and 3800 genes coding for enzymes for anaerobic respiration, partial hydrolysis of peptidoglycan (glycanase, peptidases), and numerous proteases, nucleases, low toxicity of LPS. Such characteristics justified perspectives as agent of biocontrol by accurate individualization of in vitro spectrum in wound, ocular, gingival and broncho-pulmonary infections. The effects of *B. bacteriovorus* on well-being and *Salmonella* colonization were detailed in chickens and cattle. *Bdellovibrio* has various applications in food industry as control in blight for soybean, modulators of vibrios in seawater, oysters and shrimps. Finally *Bdellovibrio* and like organisms (BALOs) are effective at reducing through predation the population of harmful bacteria, support for its potential use as a probiotic. Nevertheless we need more investigations particularly in medical field.

Key words: cannibalism, predatory bacteria, *Bdellovibrio bacteriovorus*, BALOs .

INTRODUCTION

Au début des années 1960, la recherche de nouveaux agents antibactériens, en particulier dirigée contre les bactéries à Gram-négatif, est fort active aussi bien dans les laboratoires de recherche publics que privés, notamment dans l'industrie pharmaceutique. Croyant découvrir des bactériophages, Stolp & Petzold mettent fortuitement en évidence, en 1962, un nouveau mécanisme de lyse bactérienne anti-*Pseudomonas* en pathologie végétale, lié à de petites bactéries incurvées et mobiles. Il s'agit de la première espèce prédatrice responsable de cannibalisme bactérien, dénommée peu de temps après, *Bdellovibrio bacteriovorus* (Stolp & Starr, 1963). Cet événement suscite de nombreuses recherches permettant de définir les principales caractéristiques de ce nouveau mécanisme de lyse. Précisons que des bactériophages découverts en 1917 ont été testés comme agent anti-diarrhée par d'Hérelle dès 1919 (Dublanche, 2014). Cependant la découverte de nouveaux antibiotiques à large spectre vis-à-vis de bactéries à Gram-négatif tels l'ampicilline (1961), la gentamicine (1963), la carbénicilline (1970), l'amikacine (1976), la péfloxacin (1979), le céfotaxime (1980) ou encore l'imipénème (1980) sans omettre les inhibiteurs de bêta-lac-

tamases (acide clavulanique en 1964) tarissent quelque peu les recherches sur le cannibalisme connaissant alors un certain déclin à partir des années 1990 (figure 1). Néanmoins le développement croissant des bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR), en particulier vis-à-vis des bêta-lactamines,

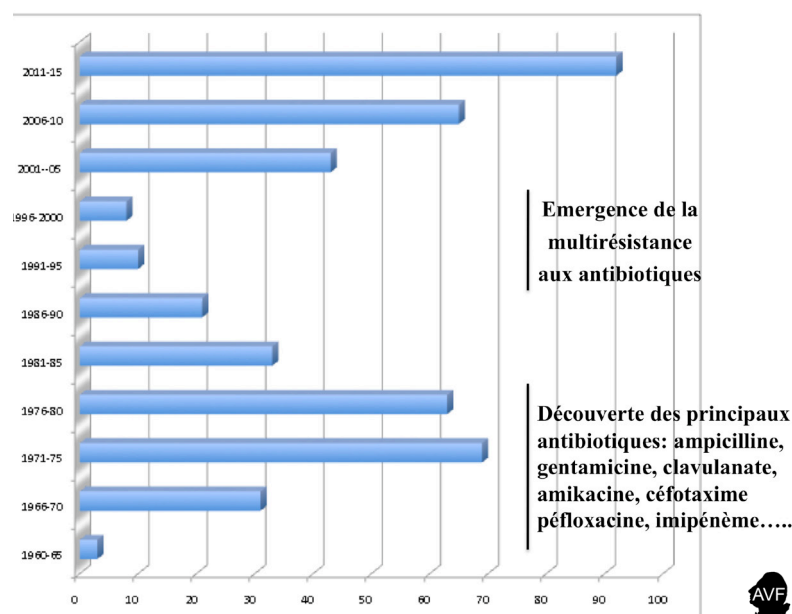


Figure 1 : *Bdellovibrio bacteriovorus* : évolution du nombre de publications dans PubMed entre 1960 et 2015 (www.ncbi/pubmed).

des aminosides ou encore des fluoroquinolones, redonnent de l'intérêt pour les alternatives aux antibiotiques, parmi lesquelles la phagothérapie mais aussi le cannibalisme, du moins dans certains pays (Allen *et al.* 2014 ; Dublanchet, 2014). Il convient ainsi d'évoquer la renaissance de cette dernière alternative ainsi qu'en témoigne le rebond des publications scientifiques à partir des années 2000 (**figure 1**).

PREMIÈRES CARACTÉRISTIQUES IDENTIFIÉES ENTRE 1962-1992

Avant de préciser les principales caractéristiques de ce phénomène bactérien, il convient de citer, plus particulièrement, les revues suivantes (Socketk & Lambert, 2004; Socketk, 2009; Dwidar *et al.* 2012; Allen *et al.* 2014). Le terme de BALOs pour "*Bdellovibrio and like organisms*" est fort usité dans la littérature anglo-saxonne, elles sont, par ailleurs, les bactéries prédatrices les mieux étudiées.

- Au plan bactériologique, les bactéries prédatrices appartiennent surtout à la classe des δ -Proteobacteria et au genre *Bdellovibrio* avec comme principale espèce, *Bdellovibrio bacteriovorus*, petit bacille à Gram-négatif, incurvé, très mobile avec une ciliature polaire, aérobic strict (oxydase +) ne pouvant se multiplier en l'absence d'une bactérie hôte ou réceptrice, *Escherichia coli* par exemple. Son spectre d'action est surtout dirigé à l'égard de divers bacilles à Gram-

négatif, pathogènes de l'homme, des animaux ou encore de plantes telles les entérobactéries comme les salmonelles, les *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. glycinea*), les vibrions (*V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*), voire *Legionella* ou encore *Helicobacter pylori*... Cette spécificité élargie à plusieurs espèces pourrait apparaître un avantage par rapport à celle des bactériophages, spécifiques d'une espèce bactérienne comme les phages anti-*Staphylococcus aureus*, anti-*Salmonella* ou encore anti-*P. aeruginosa*.

- Ce type de bactéries est isolé de divers écosystèmes dont le sol ou plus précisément, la rhizosphère, les eaux fluviales, celles d'estuaire, mais aussi du tube digestif des mammifères (Klein & Casida, 1967; Fry & Staples, 1976; Westergaard & Kramer, 1977; Richardson, 1990).
- Afin de le distinguer du cycle lytique des bactériophages, par exemple T2 chez *E. coli*, modèle d'étude en biologie moléculaire, celui de *B. bacteriovorus* est particulièrement étudié, en particulier par microscopie électronique (Socketk & Lambert, 2004). Le cycle dure trois à quatre heures et se caractérise par plusieurs phases: attachement, invasion dans l'espace périplasmique accompagnée de la perte du flagelle, formation du bdelloplaste avec multiplication initiale sans septation sous forme d'un filament, puis après septation, obtention de trois à six cellules filles monotriches et finalement lyse bactérienne (**figure 2**). Plusieurs facteurs limitants sont individualisés tels l'oxygène et le pH.

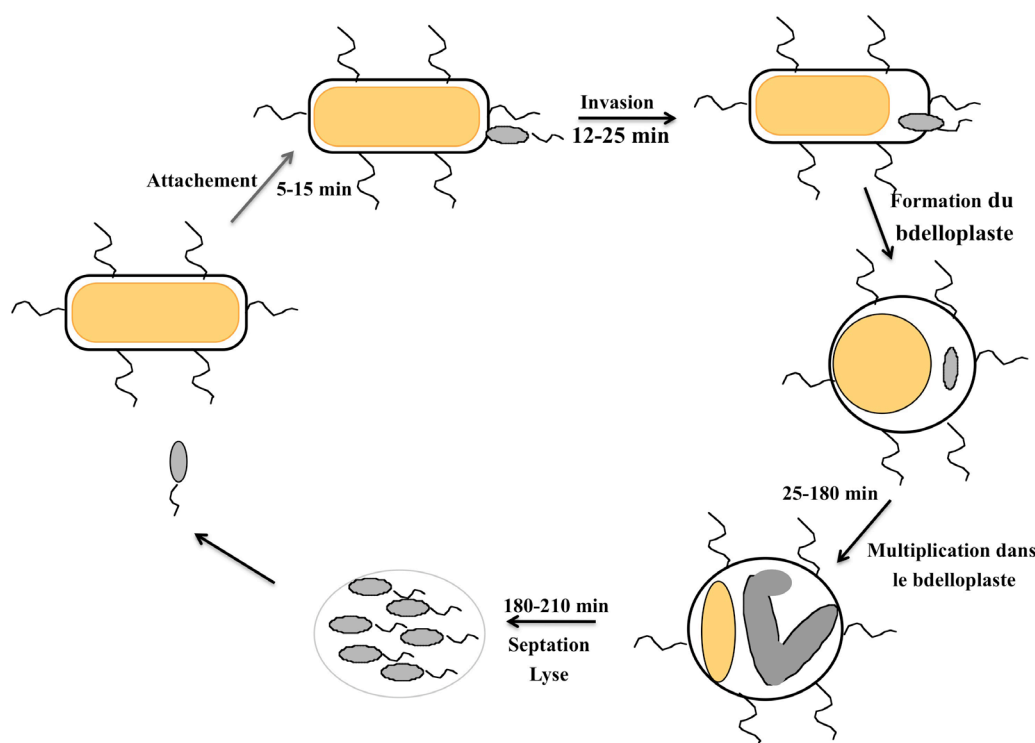


Figure 2 : Cycle lytique de *Bdellovibrio bacteriovorus* (souches 109J ou HD100) chez *Escherichia coli* (d'après Socketk & Lambert, 2004). Le cycle d'une durée de trois à quatre heures présente plusieurs phases: attachement, invasion dans l'espace périplasmique accompagnée de la perte du flagelle, formation du bdelloplaste avec multiplication initiale sans septation sous forme d'un filament, puis après septation, obtention de trois à six cellules filles monotriches et finalement lyse bactérienne.

- Les premières bactéries prédatrices sont découvertes tardivement, par rapport à la mise en évidence des bactériophages chez l'homme en raison probablement d'au moins deux caractéristiques. D'une part, leur habitat concerne plutôt l'environnement qu'il soit tellurique ou hydrique. D'autre part, ces bactéries manifestent un parasitisme strict, phénomène invisible en quelque sorte vis-à-vis d'espèces bactériennes de l'environnement ou de plantes, apparemment peu isolées chez l'homme ou l'animal. Il s'agit donc d'un phénomène naturel, invisible en l'absence d'analyses bactériologiques.

Plus tard, il est possible d'isoler des mutants *in vitro* (HI pour *Host Independency*) non prédateurs stricts permettant d'envisager une culture en masse plus aisée d'autant qu'il est rapidement proposé d'utiliser ce mécanisme dans l'industrie agro-alimentaire comme agent de biocontrôle ou de régulation de la croissance bactérienne (Scherff, 1977).

Enfin la notion de résistance naturelle de quelques bacilles à Gram-négatif, voire acquise à ces bactéries prédatrices est apparue peu fréquente, contrairement à celle observée avec les bactériophages.

L'incapacité de ces bactéries à se multiplier sur diverses cultures cellulaires d'eucaryotes et leur faible pouvoir inflammatoire justifient alors quelques perspectives thérapeutiques chez l'homme, d'autant que l'inoculation à l'animal comme la souris, le lapin, le cobaye est apparue sans danger (Verklova, 1973). De plus, l'ingestion de *B. bacteriovorus* par des souris, poissons ou grenouilles montre une multiplication transitoire sans implantation notable; il en est de même lors d'inoculation directe dans l'anse intestinale de lapin (Westergaard & Kramer, 1977).

RENAISSANCE DES BALOs : DONNÉES NOUVELLES (APRÈS 2000)

L'émergence des bactéries multirésistantes (BMR), accompagnée d'une limitation considérable de choix thérapeutiques redonne de l'intérêt à ce mécanisme de lyse bactérienne d'autant que les autres alternatives jusque là proposées, comme la phagothérapie, l'apithérapie, les peptides antibactériens ou encore la phytothérapie (PAC A, extrait de canneberge dans la prévention de la cystite aiguë de la jeune femme) sont encore restées limitées dans leurs applications.

Le développement des technologies en génomique génère de nouvelles avancées des connaissances en taxonomie ou en physiologie bactériennes (mécanisme de la prédation avec l'inventaire des gènes ou protéines impliquées dans ce processus de parasitisme).

Taxonomie bactérienne

L'identification poussée par séquençage de l'ADNr-16S au sein de l'ordre des Bdellovibrionales (bactéries incurvées et monotriches) permet d'individualiser plusieurs autres espèces

bactériennes (*Bacteriolyticum stolpii*, *Bdellovibrio exovorus*, *Peredibacter starrii*) dont certaines halophiles nécessitent au moins 0,5% de NaCl pour leur croissance (*Halobacteriovorax marinus*, *Halobacteriovorax littoralis*) (Schwudke *et al.* 2001; Snyder *et al.* 2002; Davidov *et al.* 2004; Piniero *et al.* 2008; Koval *et al.* 2013; Koval *et al.* 2015; Chen *et al.* 2015) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/>). Des espèces prédatrices de l'environnement et au sein des Myxobacteria, d'autres δ -proteobacteria telles *Myxococcus xanthus* ont révélé un type de prédation différent, sans pénétration, mais en groupe ou meute par plusieurs bactéries se tenant à distance de leur proie (*wolf pack*) (Morgan *et al.* 2010).

Génomique

Curieusement s'agissant de bactéries pénétrant dans l'espace périplasmique d'autres bactéries et s'y multipliant (au maximum six copies), leur génomes est conséquent, variant de 2,97 à 3,85 Md codant un nombre de gènes oscillant entre 3100 et 3800. Elles partagent entre elles de l'ordre de 850 gènes communs (Rendulic *et al.* 2004; Hobley *et al.* 2012; Chen, 2015). L'identification de ces gènes montre leur diversité en enzymes permettant, par exemple, la respiration anaérobie en raison de la présence dans leur génome d'une nitrate réductase et d'une nitrite réductase. Il est ainsi possible en présence de nitrates ou de nitrites d'obtenir de l'O₂, nécessaire la réoxydation terminale de la chaîne des transporteurs d'électrons. N'oublions pas qu'il s'agit de bactéries aérobies strictes pouvant expliquer ainsi leur développement intracellulaire. Parmi les autres enzymes identifiées, il convient de citer le nombre élevé de protéases de type glycanase, peptidase, DNase ou RNA nucléases (Lambert & Sockett, 2013). Certaines de ces enzymes participent à la fonction de prédation telle la lyse de la paroi bactérienne. Notons que l'étude attentive de certains de ces génomes a permis de comprendre l'incapacité de ces bactéries à effectuer la biosynthèse d'au moins neuf acides aminés en l'absence des voies de synthèse correspondante, d'où le parasitisme strict. Un dernier élément intéressant concerne la phase dite H-I (*Host-Independency*) correspondant à la phase de libération des cellules filles dans le milieu extérieur (Cotter & Thomashow, 1992; Dashiff & Kadouri, 2009; Lambert *et al.* 2010). Il s'agit plus d'une variation phénotypique, car transitoire, que d'un événement mutationnel.

Spectre *in vitro* - biofilm

La liste des bacilles à Gram-négatif sensibles aux bactéries prédatrices s'allonge constamment, qu'ils soient BMR ou non: anaérobies strictes, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Aggregatibacter*, *Bordetella*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Helicobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Porphyromonas*, *Proteus*, *Ralstonia*, *Serratia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* ou encore *Yersinia* (Van Essche *et al.* 2009; Markelova, 2010; Dashiff *et al.* 2011; Dashiff & Kadouri, 2011; Van Essche *et al.* 2011; Kadouri *et al.* 2013; Loozen, 2015). L'importance des biofilms bactériens dans l'infection est bien connue d'autant qu'ils limitent

L'activité des antibiotiques, aussi est-il utile et nécessaire de connaître l'action réductrice des bactéries prédatrices sur la formation du biofilm (Kadouri & O'Toole, 2005; Kadouri *et al.* 2007). De plus, si les bactéries à Gram-positif, telle *S. aureus*, semblent échapper à leur action, *B. bacteriovorus*, par exemple, montre un effet inhibiteur sur la formation de son biofilm en relation probable avec certaines protéases exocellulaires (Monnappa *et al.* 2014). Ainsi, un effet synergique pourrait être attendu lors d'un traitement associant un antibiotique et une bactérie prédatrice.

Immunogénicité - Innocuité

Envisager une ou plusieurs applications thérapeutiques nécessite de vérifier au préalable le peu d'effets secondaires consécutif à l'ingestion ou l'inoculation, comme montré lors d'inoculation expérimentale à plusieurs espèces animales ou en cultures cellulaires.

Des études plus précises confirment, en effet, la faible pathogénicité du lipopolysaccharide (LPS) de *B. bacteriovorus* par rapport à celui de *E. coli*, (Schwudke *et al.* 2003). L'inoculation expérimentale chez la souris par voie IV ou intranasale de *B. bacteriovorus* et de *Micavibrio aeruginosavorus* induit une légère mais transitoire réaction inflammatoire, attestée par l'augmentation de plusieurs cytokines (IL-1, IL-12, IFN γ , KC, TNF- α) sans modification pathologique de la rate, du rein et du foie après examen histologique (Shatzkes *et al.* 2015). L'élimination de ces deux espèces prédatrices de l'organisme animal est relativement rapide et efficace après dépistage par PCR, soit au niveau du poumon lors d'inoculation intranasale (24 h), soit du sang lors d'inoculation par voie IV (clearance totale après 20 jours).

Perspectives thérapeutiques chez l'homme

Compte-tenu des caractéristiques évoquées ci-dessus dont l'innocuité et leur présence chez de nombreux êtres vivants (homme, animal), notamment par portage digestif, il n'est pas étonnant que les bactéries prédatrices puissent constituer une alternative possible, d'abord en usage local lors du traitement de certaines infections: cutanées (brûlures), dentaires, oculaires ou broncho-pulmonaires (Sockett & Lambert, 2004; Dwidar *et al.* 2012; Shanks *et al.* 2013; Iebba *et al.* 2014). Nous ne disposons que d'études préliminaires *in vitro*, c'est-à-dire de spectres d'activité vis-à-vis de diverses espèces bactériennes multirésistantes ou non, accompagnés ou non de CMI (concentration minimale inhibitrice), voire de CMB (ou concentration minimale bactéricide). Aussi d'autres études sont-elles nécessaires, dans un contexte clinique afin de convaincre les futurs prescripteurs, s'il y a lieu.

Une étude multicentrique récente mérite de retenir toute notre attention. Elle compare le portage digestif de *B. bacteriovorus*, attesté par amplification génique (PCR), chez plusieurs types de patients (maladie de Crohn, maladie caeliaque, colite ulcéreuse) comparé à celui d'individus sains (Iebba *et al.* 2013). Un net déficit de portage digestif de la bactérie prédatrice, en

particulier par l'intestin grêle, est constaté lors de ces dysbioses qui pourraient être traitées pour pallier ce déficit (Mosca *et al.* 2016). Ces premiers résultats chez l'homme du déficit de bactéries prédatrices pourraient montrer le rôle de régulateur naturel de la flore digestive par *B. bacteriovorus*, voire par des bactériophages ou encore par des amibes.

Essais chez l'animal

Plusieurs expérimentations témoignent de l'intérêt porté à ces agents de biocontrôle et surtout, à l'espèce *B. bacteriovorus*.

Il convient ainsi de citer la possibilité de prévenir la kérato-conjunctivite infectieuse bovine due à *Moraxella bovis* (Boileau *et al.* 2011). L'effet bactéricide *in vitro* vis-à-vis de cette espèce et l'absence d'adhérence à des cellules épithéliales bovines de rein de la souche *B. bacteriovorus* 109J sont évalués très positivement. Il existerait ainsi un moyen de réduction biologique efficace de *M. bovis* sur l'épithélium cornéen et dans les sécrétions oculaires de bovins infectés.

Un autre essai a examiné la possibilité de diminuer le portage digestif de bactéries zoonotiques comme les *Salmonella* chez le poussin en suivant la croissance ou encore l'aspect des caeca et leur quantité en salmonelles (Atterbury *et al.* 2011). La souche *B. bacteriovorus* HD100 ingérée par des poussins de deux jours après contamination préalable orale par *Salmonella* sérovar Enteritidis réduit de manière conséquente, le portage digestif et l'inflammation des caeca (recherche de pus ou celle de polynucléaires neutrophiles) après examen au vingt-huitième jour. Cette réduction n'est pas observée dans le lot témoin ayant ingéré un mutant déficient de la fonction de prédation (*B. bacteriovorus* HD100 Δ pilA). Il convient d'avoir à l'esprit que la température corporelle des volailles est de 42°C alors que la bactérie prédatrice a, pour optimum thermique, 29°C. *In vitro*, la souche prédatrice HD100 peut survivre 48 h à 42°C que ce soit en anaérobiose stricte ou en microaérophilie. Enfin la dispersion par les poussins de la souche *B. bacteriovorus* HD100 après ingestion s'est révélée négative dans la cage.

Un autre essai sur la diminution du portage digestif de bactéries zoonotiques (*Salmonella* spp. et *E. coli* O157H7) par *B. bacteriovorus* HD100 est entrepris dans un modèle *in vitro* sur le contenu du rumen et celui de selles prélevées chez de jeunes bovins (Page *et al.* 2015). La numération de ces deux bactéries zoonotiques est effectuée à des temps différents : 0, 24, 48 et 72 heures après contact avec la bactérie prédatrice. Les résultats sont mitigés. Ainsi aucune réduction du nombre de *E. coli* O157H7 n'est observée ni dans le rumen ni dans les selles, l'explication étant le rôle néfaste de l'indole produit par la souche d' *E. coli* interférant avec la fonction de prédation. En revanche, une réduction très significative du nombre de salmonelles est mesurée dans les selles contrairement au contenu du rumen, et ce, dès la 24^{ème} heure de contact et jusqu'à la 72^{ème} heure. Ce résultat prometteur demande confirmation.

Filière agro-alimentaire

La découverte originelle de *B. bacteriovorus* dans l'environnement ou, de manière plus précise, dans la rhizosphère des racines de soja comme parasite de bactéries pathogènes des plantes amena rapidement à la notion d'agent éventuel de biocontrôle des graines de soja pouvant être contaminés par l'espèce bactérienne, *P. glycinea* (Scherff, 1972). Cependant l'activité prédatrice peut varier selon la souche. Il faut attendre les années 2010 pour que de nouveaux travaux relancent la perspective que *B. bacteriovorus* puisse être un agent de biocontrôle de *Salmonella Typhimurium* dans des filets de poisson ou de deux pathogènes pour l'homme, *Vibrio parahaemolyticus* et *V. vulnificus* dans la filière ostréicole (Lu & Cai, 2010; Richards *et al.* 2012). Par ailleurs, la recherche systématique de bactéries prédatrices (BP) dans l'eau de mer ou dans l'huître (*Crassostrea virginica*) amène à la mise en évidence de plusieurs espèces de BP telles *B. bacteriovorus*, *B. stolpii* ou encore *M. aeruginosavorus*. Ainsi les BP seraient d'importants modulateurs naturels des vibrions dans la filière ostréicole. La prévention de la vibriose par *B. bacteriovorus*, en particulier vis-à-vis de *Vibrio cholerae* est aussi évaluée expérimentalement dans des élevages de crevettes (*Penaeus vannamei*) (Cao *et al.* 2015). D'autres pathogènes peuvent être identifiés et combattus par *B. bacteriovorus* tels *Aeromonas hydrophila* ou *Proteus penneri* (Cao *et al.* 2012; Cao *et al.* 2014).

En aquaculture qui est un secteur industriel important fournissant 45% de la production mondiale de poissons (FAO 2011), selon une étude conduite en Israël, les BALOs sont recherchés mensuellement pendant plusieurs mois par qPCR de *Bdellovibrionaceae* et de *Bacteriovoraceae* dans deux bassins contenant soit de l'eau fraîche, soit de l'eau saline (Kandel *et al.* 2014). La présence de BALOs est constante, mais variable selon le type de bassin. Les BP de type Myxococcales sont détectées comme très abondantes. Le séquençage de l'ARNr-16S démontre la prédominance de bactéries de type Bacteroides, Flavobactéries ainsi que *Fusobacteriaceae*.

Un autre domaine d'application comme agent de biocontrôle a été exploré dans la prévention de l'apparition d'une pourriture noire (production de mélanine) chez plusieurs types de champignons cultivés (*Agaricus bisporus*) en relation avec

la multiplication de *Pseudomonas tolaasii*. *B. bacteriovorus* souche HD100 limite considérablement le développement de *P. tolaasii*, apprécié par la mesure de l'intensité des lésions (apparition ou non de taches noires après 48 h d'incubation à 29°C au niveau du chapeau) et par l'observation en microscopie électronique (Saxon *et al.* 2014). Cette dernière méthode d'analyse montre la formation de bdelloplastes peu après l'inoculation simultanée de *P. tolaasii* et de *B. bacteriovorus* ainsi que la persistance possible de la bactérie prédatrice durant 48 h après dépôt sur le champignon, augurant d'une bonne activité éventuelle préventive.

CONCLUSION

Le mécanisme de prédation entre bactéries est, en fait, un phénomène tout à fait naturel, en particulier dans l'environnement, plus précisément au niveau tellurique (rhizosphère) ou encore dans les eaux fluviales et salines. Il fait intervenir des espèces bactériennes différentes selon l'écosystème examiné. Ce phénomène est aussi présent chez l'animal, voire l'homme, en particulier au niveau digestif. L'utilisation comme agent de biocontrôle ou de probiotique à la place d'antibiotiques a été proposé quelques années après sa découverte. Néanmoins, la découverte d'antibiotiques à large spectre au sein des bêta-lactamines ou encore des aminosides ou des fluoroquinolones a diminué dès la fin des années 1980, l'intérêt des chercheurs pour ce phénomène. Cependant depuis une quinzaine d'années, suite à l'émergence des BMR, les travaux pour une meilleure connaissance de ces bactéries tueuses permettent d'évoquer une réelle renaissance de ce mécanisme. Divers essais chez l'animal et dans la filière agro-alimentaire confirment son intérêt comme agent de biocontrôle. En revanche, cette renaissance n'est encore que suggérée chez l'homme avec, en particulier, des perspectives en usage local (infections cutanées, dentaires, oculaires, broncho-pulmonaires). Une revue récente suggère, en France, son intérêt dans l'éventuelle correction de ces troubles digestifs des pays développés (maladie de Crohn, colite ulcéreuse.....) (Mosca *et al.* 2016). L'avenir devrait montrer s'il peut s'agir d'une réelle alternative thérapeutique.

BIBLIOGRAPHIE

- Allen HK, Trachsel J, Looft T, Casey TA. Finding alternatives to antibiotics. *Ann NY Acad Sci.* 2014; 1323:91-100.
- Atterbury RJ, Hobbey L, Till R, Lambert C, Capeness MJ, Lerner TR *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.
- Boileau MJ, Clinkenbeard KD, Iandolo JJ. Assessment of *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J killing of *Moraxella bovis* in an *in vitro* model of infectious bovine keratoconjunctivitis. *Can J Vet Res.* 2011; 75:285-91.
- Cao H, An J, Zheng W, He S. *Vibrio cholerae* pathogen from the freshwater-cultured white-leg shrimp *Penaeus vannamei* and control with *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J Invertebr Pathol.* 2015; 130:13-20.
- Cao H, He S, Lu L, Yang X, Chen B. 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.
- Cao H, He S, Wang H, Hou S, Lu L, Yang X. *Bdellovibrios*, potential biocontrol bacteria against pathogenic *Aeromonas hydrophila*. *Vet Microbiol.* 2012; 154:413-18.
- Chen H, Brinkac LM, Mishra P, Li N, Lympelopoulou DS, Dickerson TL *et al.* Draft genome sequences for the obligate bacterial predators *Bacteriovorax* spp. of four phylogenetic clusters. *Stand Genomic Sc.* 2015;10:11
- Cotter TW & Thomashow MF. Identification of a *Bdellovibrio bacteriovorus* genetic-locus, hit, associated with the host-independent phenotype. *J Bacteriol.* 1992; 174:6018-24.
- Dashiff A, Junka RA, Libera M, Kadouri DE. Predation of human pathogens by the predatory bacteria *Micavibrio aeruginosavorus* and *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J Appl Microbiol.* 2011; 110:431-44.
- Dashiff A & Kadouri DE. A new method for isolating host-independent variants of *Bdellovibrio bacteriovorus* using *Escherichia coli* auxotrophs. *Open Microbiol J.* 2009; 3:87-91.
- Dashiff A & Kadouri DE. Predation of oral pathogens by *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J. *Mol Oral Microbiol.* 2011; 26:19-34.
- Davidov Y & Jurkevitch E. Diversity and evolution of *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALOs), reclassification of *Bacteriovorax starrii* as *Peredibacter starrii* gen. nov., comb. nov., and description of the *Bacteriovorax-Peredibacter* clade as *Bacteriovoracaceae* fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004; 54:1431-7.
- Dublanchet A. Qu'est-ce que la phagothérapie ? *Hegel.* 2014; 4:354-70.
- Dwidar M, Monnappa AK, Mitchell RJ. The dual probiotic and antibiotic nature of *Bdellovibrio bacteriovorus*. *BMB Rep.* 2012; 45:71-8.
- Fry JC & Staples DG. Distribution of *Bdellovibrio bacteriovorus* in sewage works, river water, and sediments. *Appl Environ Microb.*1976; 31:469-74.
- Hobbey L, Lerner TR, Williams LE, Lambert C, Till R, Milner DS *et al.* Genome analysis of a simultaneously predatory and prey-independent, novel *Bdellovibrio bacteriovorus* from the River Tiber, supports *in silico* predictions of both ancient and recent lateral gene transfer from diverse bacteria. *BMC Genomics* 2012; 13:670.
- Iebba V, Santangelo F, Totino V, Nicoletti M, Gagliardi A, De Biase RV *et al.* Higher prevalence and abundance of *Bdellovibrio bacteriovorus* in the human gut of healthy subjects. *PLoS One* 2013; 8: e61608.
- Iebba V, Totino V, Santangelo F, Gagliardi A, Ciotoli L, Virga A *et al.* *Bdellovibrio bacteriovorus* directly attacks *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cystic fibrosis isolates. *Front Microbiol.* 2014; 5:280.
- Kadouri D & O'Toole GA. Susceptibility of biofilms to *Bdellovibrio bacteriovorus* attack. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005; 71:4044-51.
- Kadouri D, Venzon NC, O'Toole GA. Vulnerability of pathogenic biofilms to *Micavibrio aeruginosavorus*. *Appl Environ Microbiol.* 2007; 73:605-14
- Kadouri DE, To K, Shanks RM, Doi Y. Predatory bacteria: a potential ally against multidrug-resistant gram-negative pathogens. *PLoS One* 2013; 8: e63397.
- Klein DA & Casida LE. Occurrence and enumeration of *Bdellovibrio bacteriovorus* in soil capable of parasitizing *Escherichia coli* and indigenous soil bacteria. *Can J Microbiol.* 1967; 13:1235-41.
- Koval SF, Hynes SH, Flanagan RS, Pasternak Z, Davidov Y, Jurkevitch E. *Bdellovibrio exovorus* sp. nov., a novel predator of *Caulobacter crescentus*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2013; 63:146-51.
- Koval SF, Williams HN, Stine OC. Reclassification of *Bacteriovorax marinus* as *Halobacteriovorax marinus* gen. nov., comb. nov. and *Bacteriovorax litoralis* as *Halobacteriovorax litoralis* comb. nov.; description of *Halobacteriovoracaceae* fam. nov. in the class *Deltaproteobacteria*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2015; 65:593-7.
- Lambert C & Sockett RE. Nucleases in *Bdellovibrio bacteriovorus* contribute towards efficient self-biofilm formation and eradication of preformed prey biofilms. *FEMS Microbiol Lett.* 2013; 340:109-16.
- Lambert C, Chang CY, Capeness MJ, Sockett RE. The first bite -- profiling the predatosome in the bacterial pathogen *Bdellovibrio*. *PLoS One* 2010; 5:e8599.
- Lenz R & Hespell RB. Attempts to grow *Bdellovibrios* surgically injected into animal cell. *Arch Microbiol.* 1978; 119 :245-8.
- Loozen G, Boon N, Pauwels M, Slomka V, Rodrigues Herrero E, Quiryren M *et al.* Effect of *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 on multispecies oral communities. *Anaerobe* 2015; 35:45-53.
- Lu FJ & Cai J. The protective effect of *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALO) on tilapia fish fillets against *Salmonella enterica* ssp. *Enterica* serovar *Typhimurium*. *Lett Appl Microbiol.* 2010; 51:625-31.
- Markelova Nlu. Interaction of *Bdellovibrio bacteriovorus* with bacteria *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori*. *Microbiologia* 2010; 79:777-81.
- Monnappa AK, Dwidar M, Seo JK, Hur JH, Mitchell RJ. *Bdellovibrio bacteriovorus* inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and invasion into human epithelial cells. *Sci Rep.* 2014; 4:3811.
- Morgan AD, MacLean RC, Hillesland KL, Velicer GJ. Comparative analysis of *Myxococcus* predation on soil bacteria. *Appl Environ Microb.* 2010 ; 76:6920-7.
- Mosca A, Leclerc M, Hugot JP. Gut microbiota diversity and human diseases: should we reintroduce key predators in our ecosystem ? *Front Microbiol.* 2016; 31;7:455.
- Page JA, Lubbers B, Maher J, Ritsch L, Gragg SE. Investigation into the efficacy of *Bdellovibrio bacteriovorus* as a novel preharvest intervention to control *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in cattle using an *in vitro* model. *J Food Prot.* 2015; 78:1745-9.
- Pineiro SA, Williams HN, Stine OC. Phylogenetic relationships amongst the saltwater members of the genus *Bacteriovorax* using *rpoB* sequences and reclassification of *Bacteriovorax stolpii* as *Bacteriolyticum stolpii* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2008; 58:1203-9.
- Richards GP, Fay JP, Dickens KA, Parent MA, Soroka DS, Boyd EF. Predatory bacteria as natural modulators of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in seawater and oysters. *Appl Environ Microbiol.* 2012; 78:7455-66.
- Richardson IR. The incidence of *Bdellovibrio* spp. in man-made water systems: coexistence with legionellas. *J Appl Bacteriol.* 1990; 6:134-40.
- Rendulic S, Jagtap P, Rosinus A, Eppinger M, Baar C, Lanz C *et al.* A predator unmasked life cycle of *Bdellovibrio bacteriovorus* from a genomic perspective. *Science* 2004; 303:689-92.

- Saxon EB, Jackson RW, Bhumbra S, Smith T, Sockett RE. *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 guards against *Pseudomonas tolaasii* brown-blotch lesions on the surface of post-harvest *Agaricus bisporus* supermarket mushrooms. BMC Microbiol. 2014; 14:163.
- Scherff RH. Control of bacterial blight of soybean by *Bdellovibrio bacteriovorus*. Phytopathology 1973; 63:400-2.
- Schwudke D, Linscheid M, Strauch E, Appel B, Zahringer U, Moll H *et al.* The obligate predatory *Bdellovibrio bacteriovorus* possesses a neutral lipid A containing alpha-D-mannoses that replace phosphate residues: similarities and differences between the lipid As and the lipopolysaccharides of the wild type strain *B. bacteriovorus* HD100 and its host-independent derivative H1100. J Biol Chem. 2003; 278:27502-12.
- Schwudke D, Strauch E, Krueger M, Appel B. Taxonomic studies of predatory *Bdellovibrios* based on 16S rRNA analysis, ribotyping and the hit locus and characterization of isolates from the gut of animals. Syst Appl Microbiol. 2001; 24:385-94.
- Shanks RM, Davra VR, Romanowski EG, Brothers KM, Stella NA, Godbole D *et al.* An eye to a kill: using predatory bacteria to control gram-negative pathogens associated with ocular infections. PLoS One 2013; 8:e66723.
- Shatzkes K, Chae R, Tang C, Ramirez GC, Mukherjee S, Tsenova L *et al.* Examining the safety of respiratory and intravenous inoculation of *Bdellovibrio bacteriovorus* and *Micavibrio aeruginosavorus* in a mouse model. Sci Rep. 2015; 5:12899.
- Snyder AR, Williams HN, Baer ML, Walker KE, Stine OC. 16S rDNA sequence analysis of environmental *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALO) reveals extensive diversity. Int. J. Syst Evol Microbiol. 2002; 52:2089-94.
- Sockett RE & Lambert C. *Bdellovibrio* as therapeutic agents: a predatory renaissance ? Nat Rev Microbiol. 2004; 2:669-75.
- Sockett RE. Predatory lifestyle of *Bdellovibrio bacteriovorus* Annu Rev Microbiol. 2009; 63:523-39.
- Stolp H & Petzold H. Untersuchungen über einen obligat parasitischen Mikroorganismus mit lytischer Aktivität für *Pseudomonas* Bakterien. Phytopathologische Zeitschrift. 1962; 45: 364-90.
- Stolp H. & Starr MP. *Bdellovibrio bacteriovorus* gen. et sp. n., a predatory, ectoparasitic, and bacteriolytic microorganism. Antonie Van Leeuwenhoek 1963; 29: 217-48.
- Van Essche M, Quirynen M, Slieden I, Loozen G, Boon N, Van Eldere J, Teughels W. Killing of anaerobic pathogens by predatory bacteria. Mol Oral Microbiol. 2011;26:52-61.
- Van Essche M, Quirynen M, Slieden I, Van Eldere J, Teughels W. *Bdellovibrio bacteriovorus* attacks *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. J Dent Res. 2009; 88:182-6.
- Verklova ZS. [A study of virulence, toxicity and immunogenicity of various strains of *Bdellovibrio bacteriovorus*]. Gig Sanit. 1973; 38:10-3.
- Westergaard JM & Kramer TT. *Bdellovibrio* and intestinal flora of vertebrates. Appl Environ Microb. 1977; 34:506-11.