

Notes académiques de l'Académie d'agriculture de France



Volume 7 (2019)



Notes académiques de l'Académie d'Agriculture de France

18, rue de Bellechasse 75007 Paris, France

Tél. : +33 (0)1 47 05 10 37 Fax : +33 (0)1 45 55 09 78

<https://www.academie-agriculture.fr>

Soumission électronique : notes-academiques@academie-agriculture.fr

Rédaction : Académie d'agriculture de France - 18, rue de Bellechasse, 75007 Paris, France

Objet de la revue : Les *Notes académiques de l'Académie d'agriculture de France* sont un journal semestriel d'information et de formation scientifiques, sous la direction du Secrétaire perpétuel de l'Académie d'agriculture de France.

La revue - avec ses éditoriaux, articles originaux, articles d'actualité, notes de conjoncture, publication de fond, revues de la littérature, synthèses, rapports, commentaires critiques d'ouvrage, opinions, textes de conférences, lettres à la rédaction, etc.- donne une information actualisée ayant trait à tous les domaines couverts par les dix sections de l'Académie d'agriculture de France.

Soumissions électroniques : notes-academiques@academie-agriculture.fr

Directeur de la publication : le Secrétaire perpétuel de l'Académie d'agriculture de France

Secrétaires éditoriaux : Yves Brunet, Noëlle Dorion, Hervé This, Nadine Vivier

Comité éditorial : Claude Allo (Secrétaire de section), Bernard Ambolet (Secrétaire de section), Catherine Aubertin (Secrétaire de section), Guilhem Bourrié (Secrétaire de section), Yves Brunet, Noëlle Dorion, Michel Dron (Secrétaire de section), Christian Ferault, André-Jean Guérin (Secrétaire de section), Malcolm Hadley, Bruno Hérault, Philippe Kim-Bonbled, Gilles Lemaire, Nicole Mathieu, Marie-Claude Maurel, Jean-Claude Mounolou, Alain Pavé, Jean-Marie Pierre-Guy, Agnès Ricroch (Secrétaire de section), Bernard Roman-Amat (Secrétaire de section), Jean-Marie Séronie (Secrétaire de section), Hervé This, Sophie Villers (Secrétaire de section), Nadine Vivier.

Informations à l'attention des auteurs : Pour toute question relatives à la soumission des articles , les auteurs peuvent consulter les conseils aux auteurs disponibles à :

<https://www.academie-agriculture.fr/publications/notes-academiques/les-notes-academiques-de-lacademie-dagriculture-de-france-n3af-sont>

ISSN 2966-702X (printed)/ eISSN 2967-2139 (electronic),

DOI : <https://doi.org/10.58630/pubac.not.17611>

Academic Notes of the French Academy of Agriculture

18, rue de Bellechasse 75007 Paris, France

Tel: +33 (0) 1 47 05 10 37 Fax: +33 (0) 1 45 55 09 78

<https://www.academie-agriculture.fr>

Electronic submission: notes-academiques@academie-agriculture.fr

Publication: French Academy of Agriculture - 18, rue de Bellechasse, 75007 Paris, France

Purpose of the review: The *Academic Notes of the French Academy of Agriculture* is a journal of information and scientific training, under the direction of the Permanent Secretary of the Academy of Agriculture of France.

The journal - with its editorials, original articles, news articles, business reports, background publications, literature reviews, summaries, reports, critical reviews, opinions, conference texts, letters to the editor, etc. - gives an updated information relating to all the fields covered by the ten sections of the French Academy of Agriculture.

Electronic Submissions: notes-academiques@academie-agriculture.fr

Director of the publication: Perpetual Secretary of the French Academy of Agriculture

Associate Editors: Yves Brunet, Noëlle Dorion, Hervé This, Nadine Vivier

Editorial Committee: Claude Allo (Secrétaire de section), Bernard Ambolet (Secrétaire de section), Catherine Aubertin (Secrétaire de section), Guilhem Bourrié (Secrétaire de section), Yves Brunet, Noëlle Dorion, Michel Dron (Secrétaire de section), Christian Ferault, André-Jean Guérin (Secrétaire de section), Malcolm Hadley, Bruno Hérault, Philippe Kim-Bonbled, Gilles Lemaire, Nicole Mathieu, Marie-Claude Maurel, Jean-Claude Mounolou, Alain Pavé, Jean-Marie Pierre-Guy, Agnès Ricroch (Secrétaire de section), Bernard Roman-Amat (Secrétaire de section), Jean-Marie Séronie (Secrétaire de section), Hervé This, Sophie Villers (Secrétaire de section), Nadine Vivier.

Information for authors: For any questions regarding the submission of manuscripts, authors may consult the advice to authors available at:

<https://www.academie-agriculture.fr/publications/notes-academiques/les-notes-academiques-de-lacademie-dagriculture-de-france-n3af-sont>

ISSN 2966-702X (printed)/ eISSN 2967-2139 (electronic),

DOI : <https://doi.org/10.58630/pubac.not.17611>

Notes académiques de l'Académie d'Agriculture de France

Académie d'agriculture de France

Volume 7, 2019

<https://doi.org/10.58630/pubac.not.v711419>

- **Yves Combarrous.** 2019. 2019. Hormones et perturbateurs endocriniens : quelles similitudes ? quelles différences ? / Hormons and endocrine perturbators : which similarities ? Which differences ?, 7(1), 1-7, <https://doi.org/10.58630/pubac.not.a530149>
- **Jade Ezzedine, Stephan Jacquet.** 2019. *Diversité et rôles des bactéries prédatrices de bactéries : zoom sur les Bdellovibrio et organismes apparentés (BALOs)*, 7(2), 1-25, <https://doi.org/10.58630/pubac.not.a192346>
- **Jade Ezzedine, Stephan Jacquet.** 2019. Compléments à la note précédente, 7(3), 1-7, <https://doi.org/10.58630/pubac.not.a711419>

Hormones et perturbateurs endocriniens : quelles similitudes ? Quelles différences ?

Hormones and endocrine disruptors: what similarities? What are the differences?

Yves Combarous

Directeur de recherche émérite au CNRS
Membre de l'Académie d'agriculture de France

Correspondance :

*UMR 7247 CNRS-Inra-Université de Tours-Institut français du cheval et de l'équitation,
Physiologie de la reproduction et des comportements, 37380 Nouzilly, France
Email : yves.combarous@inra.fr*

Résumé :

Les perturbateurs endocriniens sont des composés synthétiques ou naturels, présents dans l'environnement et qui provoquent des modifications indésirables de l'homéostasie endocrinienne (assurée par les hormones endogènes) chez l'homme ou chez les animaux.

Dans la présente note, nous décrivons les similitudes et les différences entre les mécanismes d'action des hormones et des perturbateurs endocriniens, afin de mieux appréhender les caractéristiques structurales et biologiques de ces derniers et d'en cerner les risques, et pas seulement les dangers.

(regulated by endogeneous hormones) in human and/or in animals. In the present note, we describe similarities and differences between hormones's and EDCs' mechanisms of action, in order to decipher more precisely the structural and biological characteristics of the latters and to better appreciate their risks, and not only their hazards.

Abstract:

Endocrine disruptor compounds (EDC) are synthetic or natural compounds in the environment promoting unwanted modifications of endocrine homeostasis

Mots-clés :

Hormone, perturbateur endocrinien, mécanisme d'action, dose-réponse, législation

Keywords :

Hormone, endocrine disruptor, mechanism of action, dose-response, legislation

Les perturbateurs endocriniens (PE) font l'objet d'une grande attention et de beaucoup de craintes de la part du public. Il ne s'agit pas de méconnaître ou de minimiser les risques de ces composés, mais de tenter de les caractériser au mieux pour ne pas laisser le champ libre aux seuls lobbies, qu'ils soient producteurs de produits chimiques ou militants écologistes. Du fait des enjeux économiques et sanitaires en jeu, il est courant de ne trouver dans les médias que des argumentations seulement à charge ou seulement à décharge. Sans avoir la prétention de détenir la vérité, le scientifique se doit de défendre des arguments fondés sur des données expérimentales qui ne reposent ni sur ses intérêts, ni sur ses seules opinions, fussent-elles louables.

Dans la présente note, nous présentons quelques informations simples destinées à mettre en perspective les actions des perturbateurs endocriniens par rapport à celles des hormones, afin de mieux appréhender les risques relatifs à ces composés.

Dans un précédent article, qui faisait suite à une séance inter-académique sur les perturbateurs endocriniens, à l'Académie des sciences, à Paris en novembre 2016 (Combarous, 2017), nous avons rappelé les principaux mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens : (1) liaison au récepteur d'une hormone et activation de sa voie de signalisation, (2) liaison au récepteur d'une hormone et blocage de sa voie de signalisation, (3) et (4) stimulation ou inhibition de la synthèse d'une hormone endogène, (5) et (6) stimulation ou inhibition de la synthèse de la protéine de liaison circulante d'une hormone endogène, (7) et (8) stimulation ou inhibition de l'expression des récepteurs hormonaux.

Parmi ces mécanismes, seul le premier (liaison et activation d'un récepteur spécifique) est commun avec le mécanisme d'action des hormones. Les autres mécanismes (2 à 8) conduisent à des modifications des équilibres endocriniens qui ne sont pas directement consécutives à des

actions de type hormonal (Combarous et Nguyen, 2019).

Mécanismes hormonaux

Les perturbateurs endocriniens les plus évidents à identifier sont ceux agissant comme les hormones, en se liant à un récepteur hormonal et en stimulant la voie de signalisation en aval (mécanisme 1 cité plus haut). Comment cela est-il possible, sachant que les hormones sont réputées posséder une haute affinité et une haute spécificité pour leurs propres récepteurs ? Comment des PE possédant des structures différentes des hormones s'immiscent-ils dans ce mécanisme ?

Les couples hormone-récepteur (H-R) connus à ce jour sont, chez toutes les espèces, le fruit de l'évolution. La sélection naturelle, lors de l'évolution, ne s'exerce pas sur chaque couple H-R, ni par ailleurs sur chaque enzyme ou protéine de structure, mais sur les organismes (voire les populations) qui présentent des assortiments variés de toutes ces formes protéiques possibles. Pour ce qui concerne un couple hormone-récepteur donné, il faut non seulement qu'il fonctionne bien, mais aussi qu'il ne puisse pas être occupé par une autre hormone. Il faut donc que chaque récepteur reconnaisse son hormone partenaire avec une haute affinité, et aussi qu'il ne puisse pas être occupé par une autre hormone, même structurellement proche (androgène vs œstrogène, par exemple). L'évolution a donc concerné non pas chaque couple H-R, mais l'ensemble de ceux-ci pour éviter toutes les interférences endogènes qui seraient néfastes aux contrôles endocriniens harmonieux.

L'arrivée massive, à la fois en nombre et en quantité, de composés de synthèse plus ou moins apparentés aux hormones (principalement aux hormones de petite taille se liant aux récepteurs nucléaires) peut, sans doute, affecter les équilibres endocriniens. En effet, si les récepteurs ont

évolué pour seulement reconnaître leur ligand, et pas d'autres molécules endogènes, ils ne sont pas conformés pour éviter la liaison de molécules jamais rencontrées auparavant, en nombre considérable et, parfois, en quantité importante. De ce fait, à la fois la spécificité et l'affinité des récepteurs peuvent être prises en défaut et conduire à une perturbation endocrine.

Bien que les herbivores aient pu avoir été exposés aux phyto-œstrogènes pendant de nombreuses générations au cours de leur évolution, leurs récepteurs des œstrogènes y sont toujours sensibles, et ils peuvent subir une perturbation endocrinienne par ces molécules (Wocławek-Potocka *et al.*, 2013). La pression de sélection pour éviter la liaison des phytoœstrogènes aux récepteurs n'a pas été constante, et elle est même maximale de nos jours avec une alimentation largement à base de soja. En outre, l'éventuel effet œstrogénique défavorable des phyto-œstrogènes a peut-être été contrebalancé par les propriétés favorables (antitumorales, antioxydantes ou hypolipémiantes) de ces molécules.

Un certain nombre de perturbateurs peuvent agir en interférant avec la liaison hormone endogène-récepteur. Ces PE de type antagoniste occupent un récepteur, mais ne déclenchent pas la stimulation de la voie de signalisation en aval, et, donc, inhibent la stimulation par l'hormone endogène (mécanisme 2). Par un tel mécanisme, des molécules exogènes peuvent clairement perturber le système endocrinien.

Pour les molécules potentiellement capables d'agir par liaison sur les récepteurs, il est relativement aisé de mettre au point des méthodes d'analyses moléculaires ou cellulaires *in vitro* de leurs actions.

Mécanismes non hormonaux

Des molécules peuvent avoir une action perturbatrice sur le système endocrinien, non pas en se liant à un récepteur hormonal, mais en affectant la biosynthèse ou la dégradation

des hormones endogènes (mécanismes 3 & 4), ou de leurs protéines plasmatiques de transport (mécanismes 5 et 6), ou encore en affectant négativement ou positivement l'expression de leurs récepteurs (mécanismes 7 et 8). Ces mécanismes sont très variés et ne nécessitent aucunement que le PE ressemble structurellement à une hormone ou agisse comme une hormone *via* un récepteur.

La très grande diversité de ces mécanismes possibles rend difficile la mise au point *a priori* de tests *in vitro* adaptés. Il faut donc passer par des tests *in vivo* (sur rats par exemple), tout en sachant en limiter le nombre pour des raisons éthiques évidentes. Ces tests *in vivo* sont néanmoins les plus fiables, car ils prennent en compte la répartition des produits testés dans l'organisme et leurs voies d'élimination.

Risque versus danger

Le risque sanitaire que présente un composé est proportionnel au degré d'exposition de l'individu au danger (risque potentiel maximum) (Dekant et Colnot, 2013 ; Pascal, 2013). Classiquement, à partir de la dose maximale ne présentant pas d'effet nocif observable (NOAEL) ou à partir de la dose minimale présentant un effet adverse (LOAEL) dans les expérimentations animales, en les divisant par des facteurs de 100, voire 1000 ou plus, on définit les doses d'exposition admissibles pour l'homme. Les instances européennes en charge des produits phytopharmaceutiques et des produits biocides se sont laissé convaincre que c'était une particularité unique des PE que de présenter des courbes dose-réponse non monotones et donc de pouvoir être plus dangereux à doses infinitésimales qu'à doses plus élevées. Ces réponses non monotones sont néanmoins rares et peuvent s'expliquer par divers mécanismes inhérents au système endocrinien et pas par une propriété particulière aux PE.

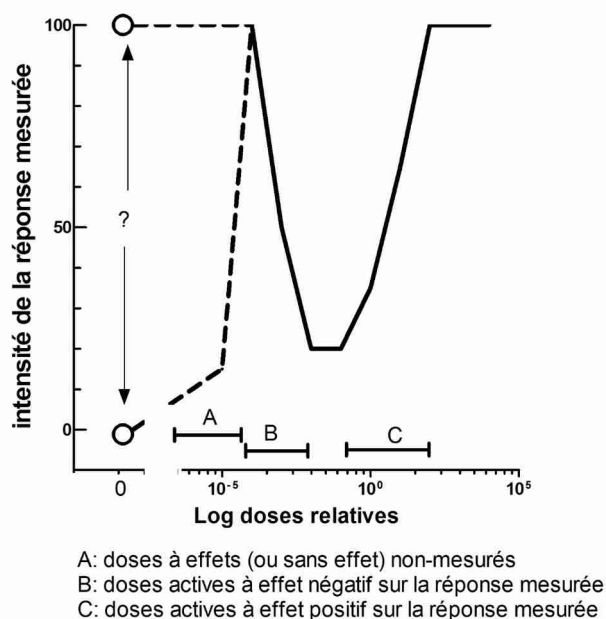


Figure 1. Signification des différentes gammes de doses d'une courbe dose-réponse non monotone en U. Les gammes de doses B et C sont celles effectivement testées dont la réponse, d'abord descendante dans la gamme B puis montante dans la gamme C, est montrée en trait plein et forme un U. La gamme A est la région des plus faibles doses, généralement non étudiées expérimentalement et dont le décours (en tirets) dépend de la valeur du paramètre mesuré en absence totale du produit.

Différentes hypothèses mécanistiques peuvent être formulées (Beausoleil *et al.*, 2016), la plus fréquente étant l'induction d'effets opposés (par exemple agonistes, puis antagonistes) selon la dose testée, ce qui peut être dû à l'existence de plusieurs cibles moléculaires ayant une affinité plus ou moins élevée pour la substance. Suivant leurs niveaux de concentration, des substances telles que le bisphénol-A (BPA), le 17- β -estradiol, les phyto-œstrogènes et le diéthylstilbestrol peuvent activer de manière différentielle les récepteurs aux œstrogènes. Ces récepteurs sont soit nucléaires de type α ou β , soit membranaires (GPR30, récepteur

d'œstrogène lié à la protéine G), et ils peuvent contribuer à un profil dose-réponse non monotone. Par ailleurs, l'augmentation de l'exposition peut induire un mécanisme de rétroaction hormonale, à la désensibilisation des récepteurs et à la diminution de leur expression, ou encore à la saturation d'une voie métabolique.

Les conséquences réglementaires ont déjà été établies dans la législation relative aux produits phytopharmaceutiques (2009) et aux produits biocides (2012). Une définition réglementaire européenne a été adoptée en septembre 2017, pour les perturbateurs endocriniens utilisés comme principes actifs biocides (règlement délégué n° 2017/2100 du 4 septembre 2017), puis en avril 2018 pour ceux qui sont utilisés comme pesticides (règlement 2018/605 de la Commission du 19 avril 2018). En vertu de ces législations, les produits reconnus comme perturbateurs endocriniens sont interdits sur la base des dangers, sans que l'on procède à une évaluation des risques spécifiques sur la base de considérations liées à l'exposition (Munn et Goumenou, 2013). D'où la conclusion que seule la dose nulle serait acceptable pour les PE.

Néanmoins rappelons ici que (1) des hormones endogènes peuvent également présenter des courbes dose-réponse non monotones (Li *et al.*, 2007), (2) ce phénomène dépend beaucoup du point choisi de réponse finale (*end point*) (Beausoleil *et al.*, 2016), et (3) peu d'explications mécanistiques sont disponibles (Lagarde *et al.*, 2015 ; Villar-Pazos *et al.*, 2017).

Si une molécule présente une courbe dose-réponse en U, il convient de prendre en compte, par précaution, la branche descendante du U aux doses faibles, et de définir des doses admissibles maximales sur cette base. Bien entendu, la détermination de la valeur contrôle de la réponse en absence du composé étudié est primordiale pour juger de l'existence d'un effet significatif, à ces doses faibles, qu'il soit positif ou négatif sur le critère de mesure

retenu ; ce critère étant ou pas représentatif de la dangerosité du produit.

Sur la figure 1, nous présentons un schéma des différentes gammes de doses dans une réponse non monotone en U. La gamme de doses à prendre en compte pour ensuite définir l'exposition à un risque dépend d'abord de la valeur de la réponse contrôle, ensuite de la nature de la réponse mesurée (dangerosité pour l'organisme).

Les cas des courbes en \cap est plus simple, puisqu'il sera intuitif de considérer les doses de la partie montante de la réponse pour fixer les doses admissibles.

Au-delà de cette argumentation scientifique, la « consécration » comme PE d'un composé conduisant à son interdiction absolue conduit les industriels à se battre pied à pied pour éviter cette issue, tandis que certaines ONG cherchent à en faire tomber un maximum dans cette catégorie. La mise en place de doses limites comme pour tous les autres toxiques, souvent bien plus dangereux, permettrait une négociation raisonnée et raisonnable sur chaque molécule ou famille de molécules.

L'exposition aux PE est néanmoins largement prise en compte, mais souvent pour mettre en avant, soit les risques dûs aux expositions multiples appelées « effet cocktail » (Gaudriault *et al.*, 2017), soit les périodes à risque accru telles la vie intra-utérine ou la petite enfance (Kariyazono *et al.*, 2015 ; Gaudriault *et al.*, 2017). Ces aspects sont évidemment importants, mais, alors, le degré d'exposition devrait aussi être pris en compte lorsqu'il est faible pour évaluer le risque et ne pas se référer seulement au danger (maximum) du PE potentiel (Nohynek *et al.*, 2013).

Conclusion

La grande diversité des mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens, de type hormonal direct sur un récepteur ou *via* une modification de la synthèse ou l'élimination

des hormones, de leurs récepteurs ou de leurs protéines de liaison, rend l'étude de leur risque extrêmement complexe. Les possibles effets « cocktail », ainsi que les fenêtres critiques d'exposition rendent l'évaluation de leur risque encore plus difficile et contradictoire. La présente note, portant sur la comparaison entre hormones et PE, met surtout l'accent sur la nécessité du principe de l'existence d'effets seuils pour les PE, même si la prise en compte de la branche descendante des courbes dose-réponse en U doit conduire à des limites extrêmement basses. Ces doses seront toujours plus valides et justifiées que de retenir la dose nulle frappant tout produit ayant été classé comme PE.

Références

Beausoleil C, Beronius A, Bodin L, Bokkers BGH, Boon PE, Burger M, Cao Y, De Wit L, Fischer A., Hanberg A, Leander K, Litens-Karlsson S, Rousselle C, Slob W, Varret C, Wolterink G, Zilliacus J. 2016. Review of non-monotonic dose-responses of substances for human risk assessment, *EFSA supporting publication*, 13(5), 1027E, <https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/1027e>, dernier accès 2019-02-12..

Combarous Y. 2017. Endocrine Disruptor Compounds (EDCs) and agriculture: The case of pesticides, *CR Biol*, 340(9-10), 406-409.

Combarous Y, Nguyen TMD. 2019. Comparative Overview of the Mechanisms of Action of Hormones and Endocrine Disruptor Compounds, *Toxics*, 7(5), Article ID 7010005.

Notes académiques de l'Académie d'agriculture de France
Academic Notes from the French Academy of Agriculture (N3AF)
Note de synthèse

Dekant W, Colnot T. 2013. *Endocrine effects of chemicals: aspects of hazard identification and human health risk assessment*, *Toxicol Lett*, 223(3), 280-286.

Gaudriault P, Mazaud-Guittot S, Lavoué V, Coiffec I, Lesné L, Dejucq-Rainsford N, Scholze M, Kortenkamp A, Jégou B. 2017. Endocrine Disruption in Human Fetal Testis Explants by Individual and Combined Exposures to Selected Pharmaceuticals, Pesticides, and Environmental Pollutants. *Environmental Health Perspectives*, 125(8), Article ID 087004.

Lagarde F, Beausoleil C, Belcher, SM, Luc P, Belzunces EC, Guerbet M, Rousselle C. 2015. Non-monotonic dose-response relationships and endocrine disruptors: a qualitative method of assessment, *Environ Health*, 14, 13.

Li L, Andersen ME, Heber S, Zhang Q. 2007. Non-monotonic dose-response relationship in steroid hormone receptor-mediated gene expression, *J Mol Endocrinol*, 38(5), 569-585.

Munn S, Goumenou M. 2013. Thresholds for Endocrine Disruptors and Related Uncertainties, *CE Joint Research Center; Scientific and Policy Reports*, 1-22.

Nohynek GJ, Borgert CJ, Dietrich D, Rozman KK. 2013. Endocrine disruption: fact or urban legend?, *Toxicol Lett*, 223(3), 295-305.

Pascal G. 2013. La dose ne ferait-elle plus le poison ?, *Sciences & Pseudo-Science*, <https://www.pseudo-sciences.org/spip.php?article2215>, dernier accès 2019-02-12.

Villar-Pazos S, Martinez-Pinna M, Castellano-Muñoz M, Alonso-Magdalena P, Marroqui L, Quesada I, Gustafsson JA, Nadal A. 2017. Molecular mechanisms involved in the non-monotonic effect of bisphenol-a on ca²⁺ entry in mouse pancreatic beta-cells, *Sci Rep*, 7(1), Article ID 11770.

Wocławek-Potocka I, Mannelli C, Boruszewska D, Kowalczyk-Zieba I, Waśniewski T, Skarżyński DJ. 2013. Diverse Effects of Phytoestrogens on the Reproductive Performance: Cow as a Model, *International Journal of Endocrinology*, vol. 2013, Article ID 650984.

Edité par

Gérard Pascal, directeur scientifique honoraire de l'Inra, ancien directeur du CNERNEL-CNRS, expert en sécurité des aliments à l'OMS, membre de l'Académie d'agriculture de France.

Rapporteurs

Louis-Marie Houdebine est directeur de recherche émérite à l'Inra et membre de l'Académie d'agriculture de France.

Hervé Lafforgue est responsable de la toxicologie dans le Groupe Danone et membre de l'Académie d'agriculture de France.

Rubrique

Cet article a été publié dans la rubrique «Notes de synthèse» des *Notes académiques de l'Académie d'agriculture de France*.

Reçu

9 novembre 2018

Notes académiques de l'Académie d'agriculture de France
Academic Notes from the French Academy of Agriculture (N3AF)
Note de synthèse

Accepté

12 février 2019

Publié

2019

Citation

Combarnous Y. 2019. Hormones et perturbateurs endocriniens : quelles similitudes ? quelles différences ?, *Notes Académiques de l'Académie d'agriculture de France / Academic Notes from the French Academy of Agriculture*, 2019, 7(1), 1-7. <https://doi.org/10.58630/pubac.not.a530149>.



Yves Combarnous est directeur de recherche émérite au CNRS et membre de l'Académie d'agriculture de France.

Bactéries prédatrices : zoom sur les *Bdellovibrio* et organismes apparentés (BALOs)

Predatory bacteria: zoom on Bdellovibrio and similar organisms (BALOs)

Jade A. Ezzedine¹, Stéphan Jacquet¹

¹ Université Savoie Mont-Blanc, Inra, UMR CARRETEL, 75 bis avenue de Corzent, 74200 Thonon-les-Bains, France

Correspondance :

stephan.jacquet@inrae.fr

Résumé

Cette revue décrit un groupe bactérien fonctionnel unique, les *Bdellovibrio* et organismes apparentés, ou BALOs (*Bdellovibrio* and like organisms). Ces bactéries Gram négatif sont des prédateurs obligatoires d'autres bactéries, caractérisés par diverses stratégies de prédation, un spectre de prédation large permettant de faire face à tout type de compétitivité, et un cycle de vie garantissant une multiplication très efficace. Ce groupe pourrait remplir un rôle écologique tout aussi primordial que celui des bactériophages en ce qui concerne le contrôle des populations bactériennes. Agents biologiques efficaces et alternative prometteuse à l'utilisation des antibiotiques de synthèse, les bactéries prédatrices sont considérées dans de nombreuses applications relevant de la médecine et des biotechnologies. Cependant, avant de compter définitivement sur ces organismes pour nous guérir, ils doivent encore faire leurs preuves dans des systèmes *in vivo* complexes et non contrôlés, à l'inverse des

milieux de culture de laboratoire. Cette revue lève le voile sur ce groupe bactérien et leur place dans les systèmes naturels, et explore leurs applications pour améliorer le bien-être humain et animal face à des pathogènes de plus en plus résistants aux antibiotiques de synthèse.

Abstract

This review describes a unique functional bacterial group referred to as *Bdellovibrio* and like organisms (BALOs). These gram-negative bacteria are obligate predators of other bacteria, with, on one hand, different predation strategies, a remarkable predation spectrum to cope with any type of competitiveness, as well as a competent life cycle ensuring efficient multiplication. On the other hand, this group could fulfill a similar ecological role as bacteriophages concerning the control of bacterial populations. As potentially important natural bioagents, they are more and more considered as alternatives to antibiotics and are investigated for potential uses in medicine and

biotechnologies. However, before relying on them to help and heal us, their role in complex and uncontrolled *in vivo* systems needs to be experimentally assessed, unlike classic broth medium in the laboratory. This review uncovers what lies behind this group and explores their place in natural systems as well as their applications to improve human and animal wellbeing against pathogens increasingly resistant to antibiotics.

Mots clés

Bdellovibrio, BALOs, bioagents, prédateur, applications

Keywords

Bdellovibrio, BALOs, bioagent, predator, applications

Introduction

Les microorganismes (virus, bactéries, archées, eucaryotes unicellulaires (« protistes »)...) sont abondants, diversifiés, ubiquistes et ont des rôles importants dans le fonctionnement des écosystèmes. L'écologie microbienne vise à étudier la diversité et les interactions entre ces microorganismes, et également entre ces derniers et leur environnement abiotique. Il existe de nombreuses interactions biotiques (qui relèvent de la prédation, du parasitisme, etc.) ; parmi celles-ci, certaines ont encore été très peu explorées. C'est le cas pour un groupe remarquable de prédateurs bactériens nommé *Bdellovibrio* et organismes apparentés, connu sous l'acronyme anglo-saxon BALOs pour *Bdellovibrio* And Like Organisms. Les BALOs (Figure 1) sont des bactéries Gram négatif, prédateurs obligatoires d'autres bactéries. Dans la majorité des cas, le prédateur se loge dans sa proie (ou hôte) pour former une chambre appelée « bdelloplaste » qui lui permet de (1) digérer à l'abri le contenu cellulaire de sa proie, (2) se développer sous la forme d'une cellule filamenteuse, et, *in fine*, (3) donner naissance à plusieurs « progénitures ». On pourrait parler de

parasitoïdes pour ces cellules, mais les spécialistes de ce groupe s'accordent plutôt à les définir comme des prédateurs, car ces derniers mettent fin à l'activité métabolique de leur hôte en induisant la mort de leur proie dans les 15 minutes suivant l'infection (Chen et Williams, 2012). Et comme tout prédateur dont le besoin est de se nourrir, les BALOs entament à nouveau une recherche dynamique de nouvelles proies, ce qui les différencie des « parasites » *sensu stricto* (voir le Complément électronique 1). Si les BALOs ne sont pas les seuls prédateurs bactériens connus (Complément électronique 2), ils sont les plus étudiés (Harini *et al.*, 2013).

Malgré une distribution qui semble ubiquiste et, donc, un rôle fonctionnel supposé important ou avéré dans certains cas, très peu d'études ont été consacrées au rôle et à l'impact de ces prédateurs sur la communauté bactérienne des environnements naturels et anthropisés. Les interactions biotiques qui ont été très étudiées pour les bactéries ont surtout été celles impliquant les virus de bactéries (phages ou bactériophages) et les protistes nanoflagellés. En effet, il a souvent été décrit que les bactériophages et les protistes contribuent majoritairement à la mortalité bactérienne et au renouvellement de cette communauté au sein des écosystèmes aquatiques (Miki et Jacquet, 2010). Cependant certains auteurs avancent aujourd'hui que cette affirmation pourrait être revue à la baisse. En effet, bien que les virus restent à ce jour l'entité biologique la plus abondante de la biosphère, leur concentration a vraisemblablement été surestimée, notamment suite à la découverte des vésicules membranaires extracellulaires qui se confondent avec les virus (Gaudin *et al.*, 2014 ; Soler *et al.*, 2015).

Cette synthèse présente les BALOs et montre leur importance dans les écosystèmes microbiens.

Caractéristiques générales des BALOs

La découverte des BALOs est le fruit accidentel

Notes académiques de l'Académie d'agriculture de France
Academic Notes from the French Academy of Agriculture
(N3AF)
Note de synthèse

des recherches menées dans les années 1960 par Stolp dédiées initialement à l'isolement des bactériophages du phytopathogène *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, l'agent responsable de la grasse du haricot. En compagnie de Petzold et Starr, Stolp décrit et désigna ce groupe de micro-organismes formant des plaques autour de bactéries sous le vocable

de *Bdellovibrio* (Stolp et Petzold, 1962 ; Stolp et Starr, 1963). Ce mot dérive de *Bdella*, signifiant sangsue en grec. En effet, le BALO s'attache à sa proie, y pénètre ou non selon l'espèce, et absorbe tel un vampire le contenu cellulaire de sa victime (Harini *et al.*, 2013). Découverts initialement dans le sol, puis dans des milieux variés tels que les environnements lacustres et

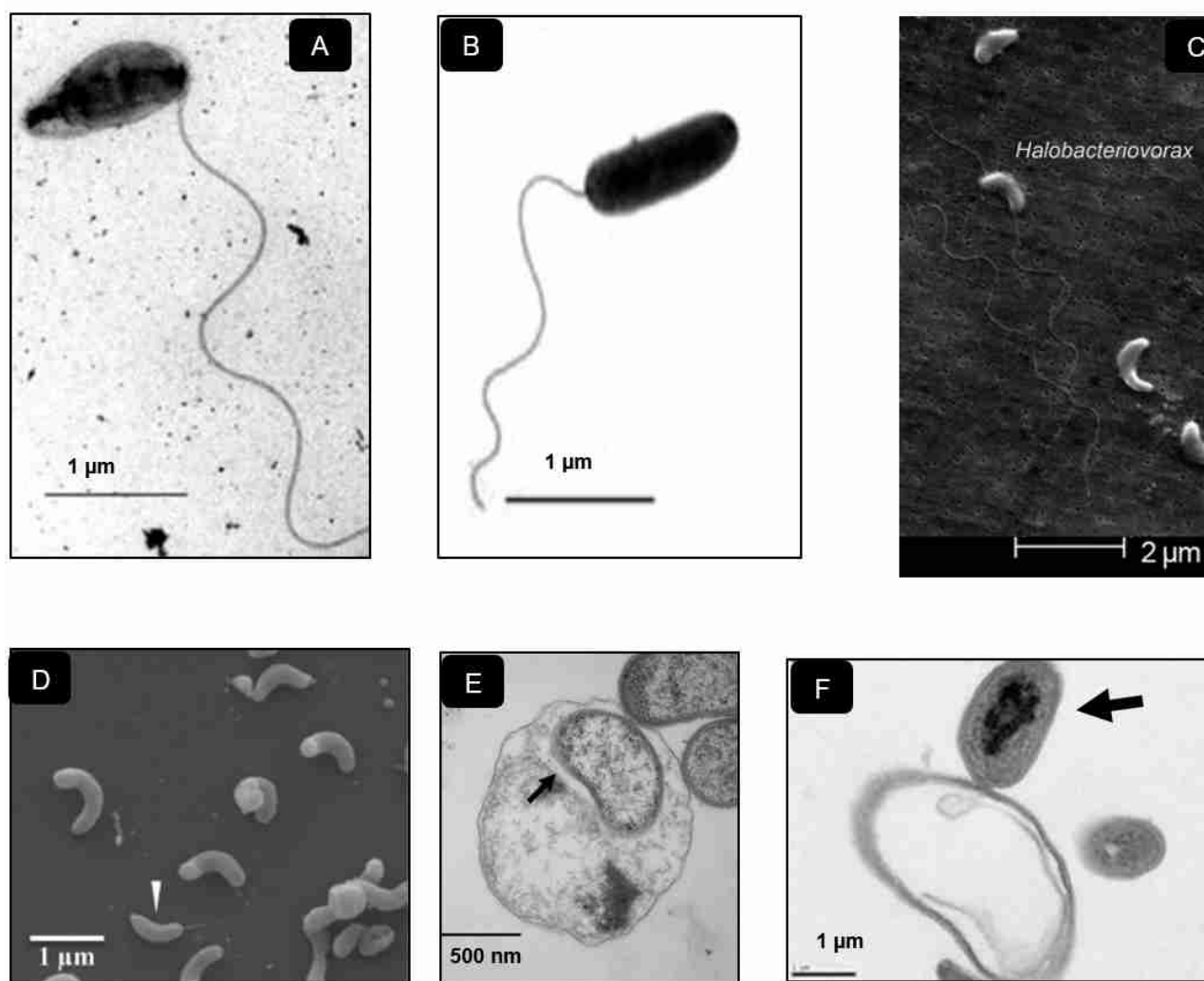


Figure 1. Images de microscopie électronique à transmission et à balayage montrant différents BALOs à l'état planctonique et en phase de prédation. A) *Micavibrio* sp. et B) *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J (extrait de Davidov *et al.*, 2006); C) *Halobacteriovorax* sp. (source Welsh *et al.*, 2016); D) *Bacteriovorax stolpii* (source Richards *et al.*, 2012); E) Formation d'un bdelloplaste (prédation endobiotique) (source Chen *et al.*, 2015); F) *B. exovorax* associé à sa proie (prédation épibiotique) (source Rotem *et al.*, 2014).

Notes académiques de l'Académie d'agriculture de France
Academic Notes from the French Academy of Agriculture
(N3AF)
Note de synthèse

marins (Schwudke *et al.*, 2001), les BALOs semblent être partout où on les cherche. Les BALOs à l'état planctonique (Figure 1) sont uniflagellés et mobiles, souvent en forme de vibroïde (Davidov *et al.*, 2006; Williams *et al.*, 2015).

Leur comportement de prédation est gouverné par le locus *hit* (*host interaction*). Toutefois une mutation spontanée de ce locus se traduit par la génération de BALOs hôte-indépendants (BALO-HI) capables de se répliquer par simple fission binaire (Roschanski *et al.*, 2011 ; Oyedara *et al.*, 2016). Les BALOs ont été détectés et étudiés à l'origine par des méthodes de culture classiques de laboratoire, avec leurs avantages, mais aussi leurs limites : cultiver des bactéries a généralement pour résultat de sous-estimer considérablement la diversité réelle. On rapporte d'ailleurs souvent que seulement 1 % des micro-organismes peuvent être cultivés et isolés par ces méthodes (Jørgensen *et al.*, 2014). Les BALOs ne font pas exception à cette règle (Van Essche *et al.*, 2011), et il apparaît aussi que ces bactéries ne constituent pas un groupe numériquement dominant dans des milieux naturels ouverts (Davidov *et al.*, 2006).

De plus, comme la prédation est une nécessité pour la réplique des BALOs, il est aussi primordial d'intégrer dans leur culture des proies qu'ils peuvent infecter. Cette co-culture proie-prédateur a souvent masqué la diversité des BALOs, car certains d'entre eux ne réussissent pas à se nourrir des proies qui leur sont proposées (Chen *et al.*, 2011). Les deux aspects précédemment évoqués ont d'ailleurs pu donner l'illusion d'un rôle mineur des BALOs au sein des communautés bactériennes. L'avènement des méthodes qui ne dépendent pas des conditions de culture, comme celles qui utilisent des amorces ADN spécifiques aux BALOs associées par exemple à l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE), ont alors révélé l'existence d'une diversité supérieure de BALOs. Mais c'est surtout le clonage suivi du séquençage qui a permis de révéler cette diversité (Davidov et Jurkevitch, 2004). Plus récemment, l'arrivée de techniques encore plus performantes, notamment les techniques de séquençage de nouvelle

génération (NGS), dites aussi à haut débit, a permis de franchir de nouvelles frontières dans l'analyse des communautés bactériennes en fournissant une grande quantité d'information dans l'identification des phylotypes microbiens (Li et Williams, 2015).

Les NGS et les outils bio-informatiques ont relancé ou favorisé les études de génomique ciblée, autrement dit la métagénétique ou metabarcoding (étude d'un seul marqueur moléculaire), et de métagénomique (étude de l'ensemble du génome). La détection des BALOs peut ainsi se faire en se basant sur le séquençage du gène 16S (caractéristique des procaryotes) codant la petite sous-unité des ribosomes (ARNr) mais aussi sur le gène de la sous-unité bêta de l'ARN polymérase (*rpoB*) (Pineiro *et al.*, 2004).

Aujourd'hui, suite aux remaniements réguliers de la taxonomie, les BALOs sont classés en deux groupes polyphylétiques distincts, les *Oligoflexia* et les α -*proteobacteria* (pour mieux comprendre la classification des bactéries, voir le Complément électronique 3). Bien qu'ils soient phylogénétiquement distants, ces groupes partagent des comportements de prédation similaires, à savoir l'obligation de prédation et un cycle de vie composé de deux phases séparées métaboliquement et spatialement (Pasternak *et al.*, 2014), décrites plus loin.

Le premier groupe comprend cinq familles appelées *Bdellovibrionaceae*, *Bacteriovoracaceae*, *Pseudobacteriovoracaceae*, *Peredibacteraceae* et *Halobacteriovoraceae*, et le second est constitué d'un genre unique, *Micavibrio* (Pasternak *et al.*, 2014 ; Koval *et al.*, 2015; McCauley *et al.*, 2015). Parmi les BALOs, l'espèce *Bdellovibrio bacteriovorus* de la famille des *Bdellovibrionaceae* a été la plus étudiée (Williams *et al.*, 2015). Comparativement à *Escherichia coli*, *B. bacteriovorus* et les BALOs en général sont de plus petite taille. En effet, si *E. coli* mesure environ 1 x 3 μm (Fenton *et al.*, 2010), *B. bacteriovorus* arbore des dimensions de l'ordre de 0,3 x 1 μm (Baker *et al.*, 2017) et la taille des *Bdellovibrionaceae* varie généralement entre 0,2 à 0,5 μm en largeur, et 0,5 et 2,5 μm en longueur (Crossman *et al.*, 2012). La

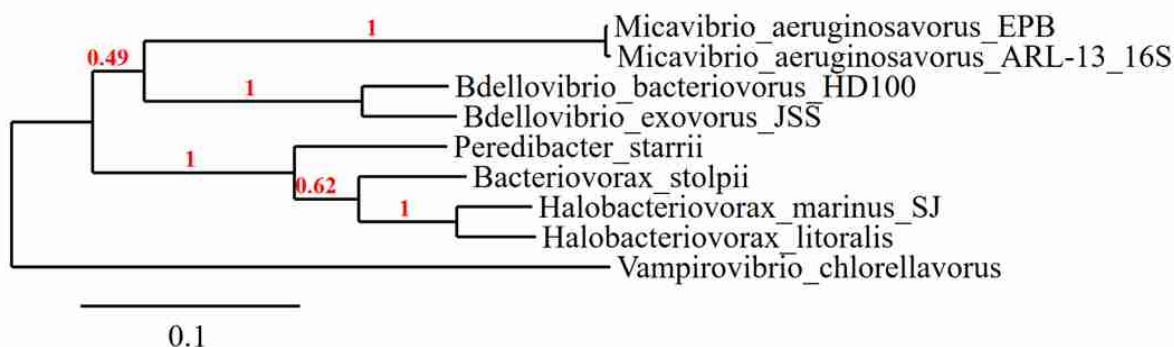


Figure 2. Arbre phylogénétique simplifié des BALOs. Les séquences du gène de la sous-unité ribosomique 16S des espèces/souches types de cinq genres de BALOs ont été téléchargées depuis le site www.arb-silva.de (Quast et al., 2013). Le modèle phylogénétique utilisé est GTR+G+I avec 100 « bootstraps » en maximum de vraisemblance (www.phylogeny.fr) (Dereeper et al., 2008). L'arbre est enraciné avec *Vampirovibrio chlorellavorus*. Concernant l'espèce *Micavibrio admirantus*, aucune séquence n'est répertoriée dans les bases de données classiques telles que NCBI ou *arb-silva*.

longueur des *Bacteriovoracaceae* est comprise entre 0,5 et 1,4 μm (Baer et al., 2000) et pour *Halobacteriovoracaceae* elle est de 0,6 à 1,0 μm (Crossman et al., 2012). *Micavibrio* possède aussi une petite taille qui est de l'ordre de 0,25-0,4 x 0,5-1 μm (Jurkevitch et Davidov, 2006).

Aspects phylogénétiques

Depuis la première caractérisation des BALOs par Stolp et pour les quatre décennies qui ont suivi (voir le Complément électronique, 4), ces prédateurs ont été placés dans un genre unique, *Bdellovibrio* (Davidov et al., 2006). Cette classification est née de deux constats. Le premier était que les bactéries prédatrices présentant le même cycle cellulaire typique étaient incluses automatiquement dans le genre *Bdellovibrio*, sans tenir compte de leur relation génétique et malgré de grandes différences dans les taux de GC des séquences d'ADN (Baer et al., 2000). Le second était que la classification taxonomique s'est longtemps appuyée sur le spectre de prédation des BALOs en présence de proies (Sutton et Besant, 1994), lorsque la co-culture était possible. En raison de la similitude du type de prédation entre *Halobacteriovorax* (BALOs halophile) et *B. bacteriovorus*, les

espèces *Halobacteriovorax* ont été classées à l'origine dans le genre *Bdellovibrio* (Enos et al., 2017), et l'appellation *Bdellovibrio* sp. marin a persisté pendant plus d'une décennie (Crossman et al., 2012). On sait aujourd'hui que les BALOs forment en fait des groupes très hétérogènes avec une grande diversité phylogénétique et présentent un spectre de prédation assez large (Davidov et al., 2006). L'analyse des séquences du gène de l'ARNr 16S et l'avènement du séquençage à haut débit ont conduit tout d'abord à une reclassification des *Halobacteriovorax* dans le genre *Bacteriovorax*, avant de finalement les placer dans leur propre genre (*Halo-bacteriovorax*) et famille (*Halobacteriovoracaceae*) (Enos et al., 2017). D'autre part, la reclassification de la bactérie *Bacteriovorax starri* en *Peredibacter starrii* a été proposée, et la famille des *Peredibacteraceae* est née. Elle comprend des souches d'eau douce et du sol (Pineiro et al., 2004).

Depuis les années 2000, diverses études plus approfondies de la phylogénie basée sur l'analyse des séquences complètes du gène de l'ARNr 16S (dont le nombre de copies varie de 1 à 3 chez les BALOs (Kandel et al., 2014, Pasternak et al., 2014)) et du gène *rpoB* provenant de prédateurs issus d'habitats très variés, ont été menées par plusieurs

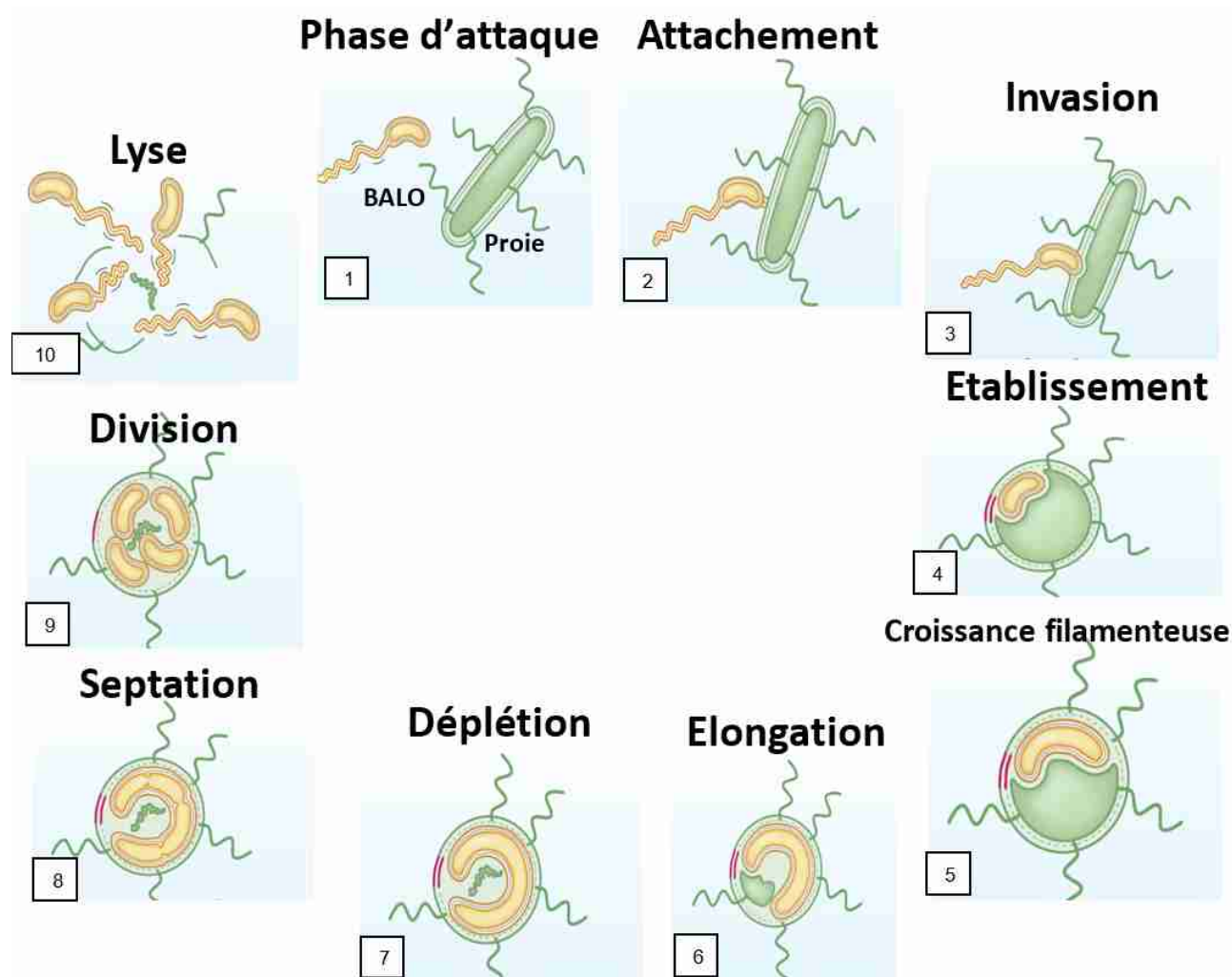


Figure 3. Cycle de prédation et de reproduction endobiotique de *B. bacteriovorus*, souche HD100 (Source Negus et al., 2017).

« bdellovibriologistes ». Ainsi les BALOs sont aujourd'hui classés en cinq familles, auxquelles il faut rajouter le genre *Micavibrio* (Figure 2). La classification présentée dans cette synthèse (Tableau 1) est la plus récente et elle est inspirée de Rotem et al. (2014), Koval et al. (2015) et Hahn et al. (2017),

Les cinq familles de BALOs s'insèrent dans la classe des *Oligoflexia* (à l'origine, membre des *Deltaproteobacteria*). Chaque famille est caractérisée par une espèce ou une souche type. Les deux souches types des *Bdellovibrionaceae* sont *B. bacteriovorus* HD100 et *B. exovorus* JSS. Les *Bacteriovoraceae* et les *Peredibacteraceae*

ne sont représentées que par une seule souche type chacune, respectivement *Bacteriovorax stolpii* UKi2 et *Peredibacter starrii* A3.12. De même, pour les *Pseudobacteriovoraceae*, avec la souche *Pseudobacteriovorax antillogorgiicola* RKEM611. Enfin *Halobacteriovorax marinus* SJ et *H. litoralis* JS5 sont les souches types de la famille des *Halobacteriovoraceae*. Le genre *Micavibrio*, quant à lui, s'insère dans la classe des *Alphaproteobacteries* et est représenté par deux espèces, *M. admirantus* et *M. aeruginosavorus*. Toutefois il n'est pas exclu que la classification actuelle des BALOs change encore à l'avenir

Notes académiques de l'Académie d'agriculture de France
Academic Notes from the French Academy of Agriculture
 (N3AF)
 Note de synthèse

Table 1. Classification actuelle des BALOs par Hahn et al. (2017) et Koval et al. (2015).

Phylum	Proteobacteria						
Classe	<i>Oligoflexia</i>						
Ordre	<i>Bdellovibrionales</i>		<i>Bacteriovoracales</i>				<i>Oligoflexiales</i>
Famille	<i>Bdellovibrionaceae</i>		<i>Peredibacteraceae</i>	<i>Bacteriovoracaceae</i>	<i>Halobacteriovoraceae</i>	<i>Pseudobacteriovoracaceae</i>	
Genre	<i>Bdellovibrio</i>		<i>Peredibacter</i>	<i>Bacteriovorax</i>	<i>Halobacteriovorax</i>		<i>Pseudobacteriovorax</i>
Espèce	<i>bacteriovorus</i>	<i>exovorus</i>	<i>starrii</i>	<i>stolpii</i>	<i>marinus</i>	<i>litoralis</i>	<i>antilogorgicola</i>
Souche	HD100	JSS	A3.12	UKi2	SJ	JS5	RKEM611

Phylum	Proteobacteria	
Classe	<i>α-proteobacteria</i>	
Ordre	<i>Bdellovibrionales</i>	
Famille		
Genre	<i>Micavibrio</i>	
Espèce	<i>admirantus</i>	<i>aeruginosavorus</i>
Souche		ARL-13

Cycle de vie

Il existe deux types de cycles de vie, d'une durée de 3,5 à 4 heures (Rogosky *et al.*, 2006) chez les BALOs : le cycle endobiotique ou périplasmique (Figure 3) où le prédateur pénètre et niche à l'intérieur de son hôte, et le cycle épibiotique (Figure 4) où le prédateur s'attache à sa proie mais n'y pénètre pas.

Il existe aussi chez certaines formes mutantes de BALOs la possibilité d'un cycle de vie hôte-indépendant (BALO-HI) consistant en une alimentation directe à partir d'un milieu riche sans obligation de prédation. Ce cycle HI a été observé dans la famille des *Bacteriovoracaceae* (Davidov et Jurkevitch, 2004), des *Halobacteriovoraceae* (Crossman *et al.*, 2012) et chez l'espèce *B. bacteriovorus* (BV).

En revanche, il semble que ce cycle ne puisse être induit chez d'autres espèces comme *Micavibrio* EPB ou *B. exovorus* JSS (Pasternak *et al.*, 2004). Hormis les BALOs-HI, les cycles de vie typiques, endobiotique et épibiotique, se déroulent toujours en deux phases : la phase d'attaque commune aux deux modes, suivie de la phase de croissance et de réplication, différente spatialement et par le nombre de progénitures obtenues.

avec le progrès constant des nouvelles techniques de séquençage et de biologie moléculaire.

La Table 2 présente le nombre de séquences pour chaque groupe de BALO disponible lors de la rédaction de cet article, dans les trois grandes bases en ligne qui répertorient les séquences de gènes et protéines bactériennes. La famille des *Bdellovibrionaceae* est la plus fréquente parmi les BALOs dans les environnements terrestres (Oyedara *et al.*, 2016). Bien que les BALOs soient représentés dans la grande majorité des écosystèmes, leurs séquences sont encore faiblement représentées dans les banques de données.

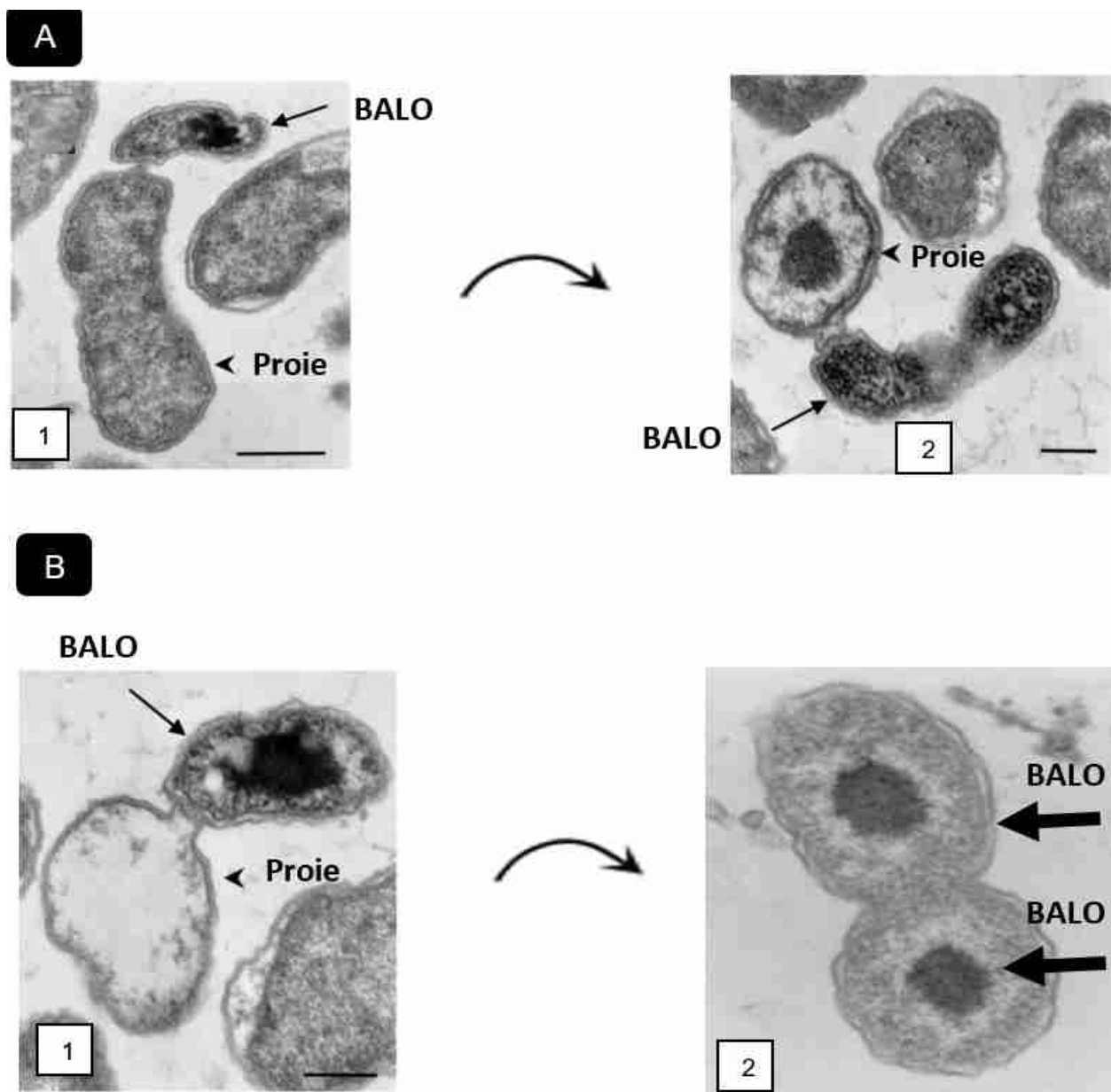


Figure 4. Les deux cas de figure caractéristiques des BALOs épibiotiques : (A) fission binaire en restant attachée à la proie ; (B) fission binaire suivie du détachement de la proie (Source : Chanyi et al., 2013).

Phase d'attaque

La phase d'attaque est conservée parmi toutes les espèces de BALOs, à l'inverse de la phase de croissance. La phase d'attaque est caractérisée par une grande mobilité soutenue par un flagelle polaire, une incapacité à répliquer l'ADN ou à se

diviser et une durée de vie courte en absence de proie (Pasternak et al., 2014). Cette phase d'attaque est la mieux étudiée chez la souche *B. bacteriovorus* HD100.

Stade I – Mécanismes de rencontre du prédateur

Notes académiques de l'Académie d'agriculture de France
Academic Notes from the French Academy of Agriculture
 (N3AF)
 Note de synthèse

Table 2. Nombre de séquences d'ADNr 16S partielles et complètes pour les six genres de BALOs répertoriées dans les principales bases de données : NCBI (Benson et al., 2013), RDP (Cole et al., 2014) et Arb-Silva (Quast et al., 2013).

Genre	NCBI	RDP	Arb-Silva
<i>Bdellovibrio</i>	1865	658	170
<i>Bacteriovorax</i>	904	663	429
<i>Peredibacter</i>	131	91	1
<i>Halobacteriovorax</i>	193	24	7
<i>Micavibrio</i>	818	137	9

et de sa proie : La phase d'attaque, mobile et libre (Chauhan *et al.*, 2009), est une phase planctonique où la recherche de la proie est aléatoire. Le prédateur, doté d'un unique flagelle polaire (Shatzkes *et al.*, 2016), peut se déplacer rapidement à plus de 50 $\mu\text{m/s}$ (Jashnsaz *et al.*, 2017) pour une vitesse maximale de 160 $\mu\text{m/s}$ (Williams *et al.*, 2015).

Chez BV, cette phase mobile fait intervenir différents gènes impliqués dans la motilité, et la synthèse et la structure du flagelle, qui sont localisés sur quatre loci indépendants (Rendulic *et al.*, 2004). Le déplacement du prédateur est aléatoire et la détection de la proie ne dépend pas de molécules de signalisation de type homosérine-lactones (*quorum sensing*) pouvant être produites par les bactéries proies (Rendulic *et al.*, 2004).

A ce jour, aucune réponse chimiotactique significative n'a été mesurée pour des concentrations de proies inférieures à 10^8 cellules/mL. Il a toutefois été constaté qu'à des concentrations élevées en proies, les prédateurs peuvent s'accumuler de façon chimiotactique autour des proies et de leurs lysats cellulaires (Jashnsaz *et al.*, 2017). La chémotaxie semble donc jouer un rôle modeste dans le ciblage des proies.

De plus, l'absence de récepteur spécifique sur la paroi de la proie corrobore cette hypothèse (Jashnsaz *et al.*, 2017). Que la stratégie de « chasse » bactérienne soit aléatoire est tout à fait concevable car des signaux chémo-attractifs émis par de multiples proies pourraient *in fine* envoyer des messages contradictoires aux prédateurs. Si la rencontre du prédateur avec sa

proie est donc fortuite, elle semble être favorisée par l'hydrodynamisme créé par les forces de rotation du flagelle et du corps du prédateur, qui, en plus du déplacement engendré, l'attire et le place (*via* la turbulence) vers des corps inertes dont des proies potentielles gravitent autour de ces corps (Jashnsaz *et al.*, 2017). Bien que le prédateur ne puisse pas se répliquer durant la phase d'attaque, il continue d'absorber les nutriments de l'environnement qu'il utilise pour synthétiser et sécréter une large gamme de protéines et d'enzymes hydrolytiques (Dwidar et Yokobayashi, 2017). Par ailleurs, en l'absence de nutriments, le prédateur peut consommer ses propres composants cellulaires pour se maintenir en vie (Dwidar *et al.*, 2017).

Stade II – Reconnaissance de la proie et ancrage du prédateur : Une fois que le prédateur rencontre une proie, il s'attache à elle d'abord de façon réversible pour une courte période dite de reconnaissance, puis l'attachement devient irréversible. D'après Rendulic *et al.* (2004), l'ancrage (ou adhésion) du prédateur sur la proie est gouverné par l'activité de nombreux gènes. Hormis l'existence d'interactions passives entre les membranes extérieures des cellules, du type protéine-protéine et LPS-LPS (lipopolysaccharide, composant essentiel de la face externe de la membrane externe des bactéries), l'adhésion active a lieu *via* l'activité des gènes du pilus. Les pili de type IV ou fimbriae réalisent plusieurs fonctions chez les bactéries comme celles de sécréter des protéines d'adhérence ou de permettre au prédateur un type de mobilité particulier, le *twitching*. L'extrémité du pilus

contient une multitude de biopolymères adhésifs qui sont spécifiques de différentes surfaces. Il est supposé que l'ensemble des pili de type *twitching* permettent d'attirer *B. bacteriovorus* à travers le pore d'entrée formé dans la membrane externe de la proie tout en étant attaché au côté interne de la paroi peptidoglycane.

Stade III – Pré-invasion et invasion de la proie : Avant de pénétrer sa cible, le prédateur génère une petite ouverture dans la membrane externe de la couche peptidoglycane de la proie. Cette ouverture se fait grâce à un ensemble d'enzymes hydrolytiques accumulées localement de façon à limiter les dégâts envers la proie. Il est supposé que les gènes responsables de cette fonction codent des protéases de type sérine, cystéine, aspartate et métal dépendant (Rendulic *et al.*, 2004).

Mode endobiontique

Stade IV – Formation du bdelloplaste et croissance : En plus des protéases, Lambert *et al.* (2015) ont décrit l'activité de la glycanase qui permet de solubiliser les peptidoglycanes de la proie au début et en cours d'invasion. En effet, deux peptidoglycanes (DD-endopeptidases Bd0816 et Bd3459) rompent les liaisons covalentes entre les chaînes de polymères (*decrosslinking*) de la paroi cellulaire en hydrolysant la structure nommée *3-4 peptide crosslinks*. Le *crosslinking* est un processus chimique permettant de joindre deux ou plusieurs molécules par liaison covalente, le terme équivalent en français est réticulation. L'action de la DD-endopeptidase est un signal de changement morphologique qui bloque l'entrée de la proie à d'autres prédateurs, éliminant ainsi toute compétition. Une fois entré dans son hôte grâce au système de type pilus IV qui est localisé au pôle non flagellé de la cellule (Fenton *et al.*, 2010), le prédateur se débarrasse de son flagelle. La phase de croissance intrapériplasmique est alors entamée (Chauhan *et al.*, 2009). Le signal d'occupation généré par la DD-endopeptidase provoque la formation du « bdelloplaste » (Lambert *et al.*, 2015). Précisément la proie

infectée est convertie en une structure hybride proie-prédateur, le bdelloplaste (Van Essche *et al.*, 2011), et la forme de la proie change à cause d'un procédé impliquant une hydrolyse des liaisons peptidiques de la paroi cellulaire et de la dégradation des biopolymères. Dans certains cas, la morphologie initiale de la proie peut être maintenue tout au long du processus de prédation (Chen et Williams, 2012). La bactérie proie agit à la fois comme une source de nourriture et comme un habitat (Baker *et al.*, 2017). La forme du bdelloplaste est ronde (Dwidar et Yokobayashi, 2017) ou en croissant de lune (Chen et Williams, 2012). Il constitue aussi une barrière contre les attaques des bactériophages, et protège le couple hybride des conditions physico-chimiques défavorables (Chen et Williams, 2012).

Dans le bdelloplaste, le prédateur secrète un cocktail d'hydrolases, de protéases et de peptidases (Monnappa *et al.*, 2014) pour hydrolyser et consommer les composants cellulaires, protéiques, ARN et ADN de la proie (Oyedara *et al.*, 2016). La modification de la membrane cytoplasmique de la proie par la formation du bdelloplaste augmente la perméabilité pour faciliter l'alimentation du prédateur sur les composés dégradés (Gophna *et al.*, 2006). Ces nutriments sont utilisés pour croître et se répliquer (Dwidar *et al.*, 2017).

Stade V – Réplication, septation et libération de la progéniture : Le prédateur se développe sous forme d'un filament au sein de son hôte ; puis la longue cellule filamenteuse se divise par segmentation (septation) en 2 à 7 ou en 3 à 6 progénitures de même taille (Fenton *et al.*, 2010 ; Dwidar et Yokobayashi, 2017). Selon Fenton *et al.* (2010), la septation et l'élongation filamenteuse pendant la réplication se produisent de manière synchrone pour l'ensemble de la progéniture. Ce synchronisme est même maintenu dans le cas où deux BALOs réussissent à envahir la même proie : les deux prédateurs « s'attendent » pour lyser l'hôte. Ce synchronisme pourrait être expliqué, soit par la diffusion d'un signal entre les prédateurs au sein de la même proie, soit par une réaction

simultanée à la déplétion finale du bdelloplaste. Ce cas rare de double multi-infection a été observé uniquement lorsque de nombreux prédateurs sont présents pour une quantité limitée de proies. Cependant les deux BALOs restant en compétition vis-à-vis de la ressource alimentaire, chaque prédateur donnera un nombre de progénitures différent. Lorsque le protoplasme de la proie est consommé entièrement et que la progéniture a atteint la taille maximale, celle-ci développe un flagelle en vue de préparer sa sortie. Deux mécanismes de sortie ont été observés, le premier consistant en une rupture enzymatique de la membrane du bdelloplaste (Rendulic *et al.*, 2004) et le second, une libération de la progéniture à travers des pores du bdelloplaste (Fenton *et al.*, 2010).

Mode épibiotique

Stade IV bis – Ancrage extérieur du prédateur à sa proie : Le genre *Micavibrio*, *B. exovorus* et exceptionnellement *B. bacteriovorus* en présence de bactéries à Gram positif (Iebba *et al.*, 2014 ; Pantanella *et al.*, 2018) sont des prédateurs caractérisés par une phase de croissance épibiotique. Ces prédateurs restent donc attachés à l'extérieur de la proie sans intrusion, tout en consommant les organelles de la proie (Shatzkes *et al.*, 2016). La proie ne s'arrondit pas pour former un bdelloplaste (Pasternak *et al.*, 2014). *Micavibrio aeruginosavorus* peut s'attacher à sa proie par le côté polaire (pili) non flagellaire, et aussi par le côté non polaire de manière longitudinale. Pour *B. exovorus*, le point d'ancrage ne se fait que du côté polaire. Par ailleurs, plusieurs prédateurs peuvent s'attacher à une même proie (Pasternak *et al.*, 2014).

Stade V bis – Fission binaire : A la fin de la consommation du contenu cellulaire, le prédateur épibiotique subit une fission binaire, créant ainsi uniquement deux cellules filles. Cette fission peut se produire de deux façons : soit le BALO reste attaché à sa proie pour rentrer en fission, soit il se détache de sa proie et effectue sa fission indépendamment (Chanyi *et al.*, 2013; Pasternak *et al.*, 2014).

Prédation

Les BALOs sont des bactéries à Gram négatif, prédatrices d'autres bactéries. Leurs proies de prédilection sont également des bactéries Gram négatif, certaines étant d'ailleurs des pathogènes pour les plantes, les animaux ou l'homme (Rendulic *et al.*, 2004 ; Davidov *et al.*, 2006 ; Fenton *et al.*, 2010). Par ailleurs, des BALO-HI peuvent émerger spontanément dans certaines cultures de laboratoire. Parmi les BALO-HI certains restent des prédateurs facultatifs alors que d'autres perdent la capacité de prédation (Roschanski *et al.*, 2011). Encore plus surprenant, en présence exclusive de proies Gram positif, *B. bacteriovorus* à l'origine prédateur endobiotique se transforme au bout de quelques heures en prédateur épibiotique (Iebba *et al.*, 2014). Ainsi, chez une même espèce comme *B. bacteriovorus*, trois cycles de vie sont possibles.

Hôte indépendant, BALO saprophytique ou axénique, BV peut spontanément manifester un phénotype hôte-indépendant (HI) si deux conditions sont réunies : l'absence totale de proies et un milieu de culture riche en protéines (milieu complet) (Capeness *et al.*, 2013). On distingue chez les HI deux types de mutants, le type I et le type II. Le type I ou saprophyte est un prédateur facultatif, qui conserve sa capacité d'envahir les bactéries vivantes. Cependant il a perdu en efficacité de prédation par rapport à la souche sauvage ; les plaques qui se forment autour des proies sont petites et turbides (Roschanski *et al.*, 2011). Les BALOs de ce type peuvent aussi croître en présence d'extraits cellulaires mais en aucun cas dans un milieu axénique (milieu de culture complet dépourvu de proies ou d'extrait cellulaire).

Au contraire, les BALOs du type II ou axéniques sont capables de croître uniquement sur un milieu axénique ou complet. Les types II peuvent être obtenus à partir des types I en mettant ces derniers répétitivement sur des milieux de culture complets sans ajout d'extrait cellulaire de proies. En général, les expériences au laboratoire ont montré que les BALOs-HI sont

composés à 99 % du type I et 1 % du type II (Roschanski *et al.*, 2011).

Parmi les BALOs hôtes dépendants (HD), seule une petite fraction est capable de devenir HI une fois exposée à un milieu de culture riche en protéine (milieu complet) (Capeness *et al.*, 2013). En effet, il faut au moins 10^6 à 10^7 cellules HD pour obtenir quelques cellules HI. L'origine du comportement de prédation de *B. bacteriovorus* dépend de l'intégrité du locus *hit* (*host interaction*), long de 959 paires de bases et qui contient une petite région présentant un seul cadre de lecture ouvert, ou ORF, dénommé Bd0108 (Cotter et Thomashow, 1992). Le locus *hit* fait partie d'un groupe de gènes responsables de la formation des pili de type IV et de l'adhérence cellulaire. Ces deux éléments sont indispensables pour l'attachement et l'invasion de la proie par le prédateur (Rendulic 2004; Schwudke *et al.*, 2005). Ainsi, chez des mutants HI, la capacité de prédation peut être restaurée par l'introduction du gène sauvage *hit* (Cotter et Thomashow, 1992). La mutation du locus *hit* est due à une délétion de 42 pb au niveau du gène *bd0108*. Cette mutation impacte le développement des pili de type IVa qui conditionne l'attachement du prédateur à la proie ; ainsi le mauvais développement des pili laisse le phénotype HI prendre le relais (Capeness *et al.*, 2013).

Toutefois certains isolats HI ne possèdent pas de mutation au niveau du locus *hit*. Cotter et Thomashow (1992) ont émis l'hypothèse de l'existence d'une deuxième mutation génératrice de BALOs-HI ailleurs dans le génome. Néanmoins, si on considère la souche *B. bacteriovorus* HD 100 (BV HD100), la majorité des souches HI générées (89 %) sont issues de la mutation du gène *bd0108*. En contrepartie, seulement 11 % des autres souches BV-HI ont été attribués à un contrôle différentiel de la transcription de l'ADN dans le génome (Wurtzel *et al.*, 2010). Le ou les processus menant à l'apparition du phénotype HI demeurent l'une des questions majeures dans la recherche sur les BALOs (Roschanski *et al.*, 2011).

Prédateur à Gram positif

Malgré leur préférence pour des proies à Gram négatif, les BALOs sont toutefois susceptibles de cibler, dans certaines conditions, certaines bactéries à Gram positif, comme cela a été montré pour le pathogène *Staphylococcus aureus* impliqué chez des sujets atteints de mucoviscidose (Caballero *et al.*, 2017). En présence de *S. aureus* comme unique proie, *B. bacteriovorus*, prédateur naturellement endobiotique, adopte un mode opératoire différent en cas d'indisponibilité d'autres proies en devenant épibiotique, et ce, après seulement 20 heures (Iebba *et al.*, 2014).

Ce temps d'action (comparable à la phase de latence pour la croissance de certaines bactéries, voir par exemple Pantanella *et al.*, 2018) représente le temps nécessaire pour (i) synthétiser de nouvelles enzymes capables d'agir sur la paroi des Gram positives, et aussi (ii) l'adaptation du prédateur à son nouvel environnement (ici la co-culture avec *S. aureus*). La prédation comme énoncée dans le paragraphe « Hôte indépendant, BALOs saprophytique ou axénique », dépend de la formation de pili de type IVa et des mécanismes d'adhérences cellulaires. Ces derniers dépendent de l'intégrité du locus *hit*.

Pour faire simple, le locus génétique *hit* conditionne la capacité des BALOs, en l'occurrence de BV, à s'attaquer à des proies (Schwudke *et al.*, 2001). Le locus est relié aux gènes *bd0108* et *bd0109* qui, par leurs interactions, régulent la production de pili chez le prédateur (Capeness *et al.*, 2013). Or l'analyse de la séquence du produit d'amplification spécifique du gène *bd0108* de *B. bacteriovorus* à partir d'échantillons obtenus à différents moments de co-culture de *B. bacteriovorus* et *S. aureus* (Gram positif) et de *B. bacteriovorus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif) n'a pas révélé de mutations qui peuvent découler du locus *hit* pour expliquer le mode épibiotique de *B. bacteriovorus* en présence de Gram positives (Pantanella *et al.*, 2018).

Les autres caractéristiques de la prédation des BALOs

Rogosky *et al.* (2006) ont rapporté que *B. bacteriovorus* peut prédater des cellules mortes dont le contenu cellulaire est intact. Par contre, la présence d'autres bactéries prédatrices, ne servant pas de proies, peut influencer l'efficacité de la prédation (Van Essche *et al.*, 2011). La dynamique entre le prédateur et ses proies est régie par un cycle de croissance et de déclin.

Les BALOs ont un spectre de prédation différent d'une espèce à une autre ; certaines sont semi-généralistes avec un large spectre de proies, d'autres sont spécialistes, c'est-à-dire restreintes à un type de proie bien spécifique, et d'autres sont versatiles ou polyvalentes, autrement dit à la fois semi-généralistes et spécialistes. Ce dernier cas constitue un avantage, puisque l'espèce qui l'adopte est moins limitée en termes de choix de proies, et minimise la compétition tout en favorisant sa dominance (Chen *et al.*, 2011). Cependant, être polyvalent ne confère pas forcément au prédateur une prédation plus efficace sur toutes les proies. L'efficacité de prédation change en fonction des proies. Cette tactique constitue un compromis : si le prédateur perd en efficacité, il gagne en nombre de proies potentielles (Chen *et al.*, 2011).

Les bactéries autochtones sont préférées par les prédateurs aux bactéries de culture ou celles venant d'autres habitats (Pineiro *et al.*, 2004 ; Chauhan *et al.*, 2009 ; Wen *et al.*, 2009). En effet, dans un scénario où *B. bacteriovorus* 109J est exposé à plusieurs proies potentielles, en nombre équivalent et de taille comparable, l'infection des proies n'est pas aléatoire et semble dirigée (Rogosky *et al.*, 2006). Ceci peut être expliqué par une plus grande facilité d'attachement qui oriente le prédateur. Ainsi l'attachement à une proie peut définir le spectre de prédation et attribuer le caractère semi-généraliste ou spécifique au prédateur. Une espèce semi-généraliste peut être considérée comme celle qui possède un « équipement » plus complet pour s'attacher à différents types de proies, alors que les moins équipées ont besoin de conditions particulières et/ou de proies plus spécifiques.

L'attachement du prédateur semble donc être affecté par la composition de la paroi de la cellule hôte (Rogosky *et al.*, 2006). La taille de la proie peut aussi être importante dans certaines situations : Chen *et al.* (2011), en utilisant *Vibrio parahaemolyticus* et *V. vulnificus* (cette dernière étant considérablement plus petite que la première) comme proies pour différentes espèces de *Bacteriovoraceae*, ont révélé une prédation préférentielle, conditionnée, semble-t-il, par la taille des proies. Malgré l'observation de cette préférence de prédation, aucun mécanisme tel que la présence de sites récepteurs ou de signaux de chimiotaxie n'a été identifié pour l'expliquer (Rogosky *et al.*, 2006). En général, la chimiotaxie chez les BALOs joue un rôle mineur (Lambert *et al.*, 2015). La question est donc de savoir comment les BALOs arrivent à intercepter leurs proies. Est-ce que le prédateur et la proie entrent en collision aléatoirement, comme le feraient deux passants distraits dans une rue ? Cette probabilité de rencontre est en réalité extrêmement faible dans un espace à trois dimensions. Dans un espace à deux dimensions, la probabilité de rencontre devient par contre plus importante.

Mais comment passer d'un volume à une surface pour un prédateur aquatique ? Cela semble possible grâce à l'hydrodynamisme. Il est connu que les microorganismes nageurs ayant des faibles nombres de Reynolds sont attirés par les surfaces solides. Le nombre de Reynolds est un nombre sans dimension utilisé en mécanique des fluides. Dans le cas de très faibles nombres de Reynolds, les forces d'inertie liées aux vitesses étant négligeables, les forces visqueuses et les forces de pression s'équilibrent. Cet effet engendre l'accumulation des micro-nageurs et va donc concentrer à la fois proies et prédateurs dans un espace donné. La combinaison des effets hydrodynamiques conduit à un mouvement circulaire à la fois du prédateur et de la proie autour d'un objet, augmentant efficacement la co-localisation des organismes en les confinant à de plus petits volumes ou à des trajectoires dans une dimension. La rencontre aléatoire est rendue probable grâce à l'action de l'hydrodynamisme

et son effet réducteur de dimensionalité (Jashnsaz *et al.*, 2017 ; Prasad, 2017).

La prédation des BALOs peut être altérée voire inhibée par certains produits secondaires d'origine bactérienne. En effet, la prédation de BV HD100 sur *Chromobacterium piscinae* est inhibée. La cause est la production de cyanure par *C. piscinae* lorsque celle-ci est cultivée dans un milieu de culture qui permet de fournir des acides aminés pour la formation du cyanure. A l'inverse dans un milieu caractérisé par une absence d'acides aminés, le relargage de cyanure est presque inexistant. D'une part, le cyanure cause une diminution (jusqu'à la perte) de la motilité du prédateur pendant la phase d'attaque. D'autre part, le cyanure retarde le développement et la lyse du prédateur. De la même manière, l'indole produit par certaines bactéries est toxique pour BV HD100. Par contre, le violacéine qui inhibe la prédation des protistes et nématodes, n'a aucun effet sur BV HD100, et cela même à forte concentration (Mun *et al.*, 2017).

Une résistance phénotypique vis-à-vis des mécanismes de prédation est observée chez certaines proies (Shemesh *et al.*, 2004 ; Chauhan *et al.*, 2009). Ce phénomène, qui a été largement observé chez les bactéries face à la prédation des protistes (Corno et Jürgens, 2006), existe donc ici avec les BALOs. En effet, dans les expériences de Shemesh et Jurkevitch (2004), l'interaction de *Bdellovibrio* sp. et de *Bacteriovorax* sp. avec leurs proies n'engendre pas l'éradication totale des proies. Ce résultat est expliqué par le développement de formes de résistance par une partie de la population de proies, leur permettant de survivre. Même si le nombre des prédateurs est 3 à 5 fois supérieur au nombre de proies, une sous-population résistante reste toujours en vie. Cette résistance n'est pas génétique mais phénotypique (durcissement de la paroi et/ou élargissement cellulaire), transitoire et réversible. Effectivement, une fois que la pression de prédation s'est estompée, les proies perdent cette capacité de résistance. Comme la résistance à la prédation n'est pas totale, ce mécanisme conduit à la survie à la fois du

prédateur et de la proie (Shemesh et Jurkevitch, 2004).

Rôle écologique

Dotés d'une grande capacité d'adaptation (Yu *et al.*, 2017), les BALOs, qui peuvent être halophiles ou non halophiles, sont omniprésents dans la nature. On les retrouve dans tous les types d'habitats, naturels et artificiels, sous forme planctonique ou associés à des biofilms (Jurkevitch, 2012). Les écosystèmes qu'ils occupent sont nombreux et divers : milieux terrestres (sols, plants de rhizosphères), milieux aquatiques (rivières, lacs, mers, océans, estuaires, sédiments, récifs coralliens, étangs, mangroves, etc.), environnements dits extrêmes comme l'Antarctique, les eaux géothermales, le sous-sol océanique, les environnements anoxiques (Sutton et Besant, 1994 ; Davidov et Jurkevitch, 2004 ; Williams *et al.*, 2018). On les retrouve encore dans les bassins salés pour la culture de crevettes (Wen *et al.*, 2009), les boues activées et les eaux usées (Aguirre *et al.*, 2017), les intestins d'animaux (humain, esturgeon sibérien, etc.) (Rendulic *et al.*, 2004 ; Cao *et al.*, 2015), les poumons humains (Iebba *et al.*, 2014), les branchies de crabes bleus (Jurkevitch et Davidov, 2007), les fèces (Schwudke *et al.*, 2001 ; Van Essche *et al.*, 2011), et même dans les nuages où ils sont d'autant plus abondants que les nuages sont pollués et riches en pathogènes (Amato *et al.*, 2017).

La prédation par les microbes est l'un des moteurs principaux de la mortalité bactérienne dans l'environnement (Johnke *et al.*, 2017). Or, les bactéries sont fondamentales pour l'écologie des environnements en fournissant un support à la production primaire à travers leur rôle dans la chaîne trophique et la minéralisation des nutriments (Azam *et al.*, 1983). Entre autres, les bactéries contrôlent le réservoir de carbone organique dissout, par assimilation ou par reminéralisation. Ce contrôle varie en fonction de la composition taxonomique et de l'état physiologique des bactéries autochtones, qui

dépend de la pression de prédation et des conditions physico-chimiques de l'environnement (Chauhan *et al.*, 2009). Dans la plupart des écosystèmes, les prédateurs sont constamment en compétition vis-à-vis de la même ressource bactérienne. L'action et l'interaction entre les prédateurs peuvent conduire à un changement drastique au sein du monde microbien (Johnke *et al.*, 2017) et par extension impacter les services offerts par les bactéries.

La grande diversité et le caractère ubiquiste des BALOs impliquent une incidence pouvant être forte sur la structure et la dynamique des communautés microbiennes (Davidov *et al.* 2004 ; Williams *et al.*, 2015). Effectivement il est supposé que les BALOs agissent en tant « qu'équilibreur écologique », dit autrement qu'ils puissent être d'importants régulateurs de la biomasse et de la diversité bactériennes (Iebba *et al.*, 2014 ; Williams *et al.*, 2015 ; Oyedara *et al.*, 2016) au même titre que les bactériophages (Jacquet *et al.*, 2010). Malgré cela, on ne sait presque rien sur ce rôle écologique, ce compartiment ayant été très largement ignoré (Chauhan *et al.*, 2009 ; Williams *et al.*, 2015). Bien que les phages et les BALOs participent au recyclage des nutriments *via* la boucle microbienne, les mécanismes de ce recyclage sont très différents. La lyse virale entraîne la libération du contenu intracellulaire de la proie dans l'environnement pour servir de nutriments à d'autres bactéries et organismes (Fuhrman, 1999 ; Weinbauer, 2004). Concernant les BALOs, ils consomment la plupart du contenu cellulaire de leur proie pour leur propre croissance, ne libérant donc que très peu de matière après la lyse de l'hôte. En revanche, ils deviennent riches en nutriments divers. En effet, la cellule proie-hôte (bdelloplaste) peut contenir jusqu'à sept progénitures, si bien qu'elle devient à son tour une proie potentielle préférentielle pour les phages et les protistes ou métazoaires prédateurs (Williams *et al.*, 2015). Il n'y a que très peu d'études ayant comparé le rôle fonctionnel des BALOs et des phages, et celle de Williams *et al.* (2015) est riche d'enseignement car ces auteurs ont révélé que les BALOs pouvaient éclipser les bactériophages en nombre de (certaines)

bactéries lysées comme *Vibrio parahaemolyticus*. Les auteurs restent toutefois prudents en indiquant que ce résultat pouvait être exceptionnel et donc à relativiser. En effet, il est probable que plusieurs facteurs aient pu interférer dans les résultats de cette étude, comme par exemple le stade cellulaire des proies, sachant que les phages préfèrent les proies en croissance rapide, alors que les BALOs préfèrent les proies en croissance lente ou en phase stationnaire (Chen et Williams, 2012). En outre, le cycle lysogénique des virus peut dissimuler l'efficacité de la lyse virale (Williams *et al.*, 2015).

La pression de prédation peut être différente d'un BALO à un autre, si bien que leurs effets peuvent être très hétérogènes sur la communauté microbienne dans un environnement donné. Ils s'attaquent à une variété de bactéries, à l'inverse des bactériophages qui sont hôtes spécifiques (Chen et Williams, 2012). Toutefois ils ont tout de même une préférence pour certaines proies selon qu'ils sont semi-généralistes, spécialistes ou versatiles. Par ailleurs, il semble qu'il ne soit pas nécessaire que les BALOs soient en forte abondance pour être efficaces, c'est-à-dire pour observer une baisse significative du nombre de bactéries proies (Williams *et al.*, 2015). Généralement, les abondances de BALOs dans l'environnement sont effectivement relativement faibles, inférieures à 1 % (Chauhan *et al.*, 2009 ; Paix *et al.*, 2019). Les BALOs ne dominent pas d'un point de vue numérique, mais peuvent former des populations assez abondantes qui fluctuent en fonction des saisons (Kandel *et al.*, 2014 ; Paix *et al.*, 2019) et dont l'impact peut être significatif dans un espace donné (Kandel *et al.*, 2014).

Enfin les BALOs peuvent être à leur tour consommés et/ou parasités par d'autres organismes tels que les bactériophages (Hashimoto *et al.*, 1970), les protistes flagellés et ciliés (Johnke *et al.*, 2017) et sûrement le zooplancton métazoaire, en dépit de leur petite taille et leur capacité à se déplacer. Par ailleurs, il ne faut pas oublier qu'il existe aussi d'autres bactéries prédatrices de bactéries susceptibles

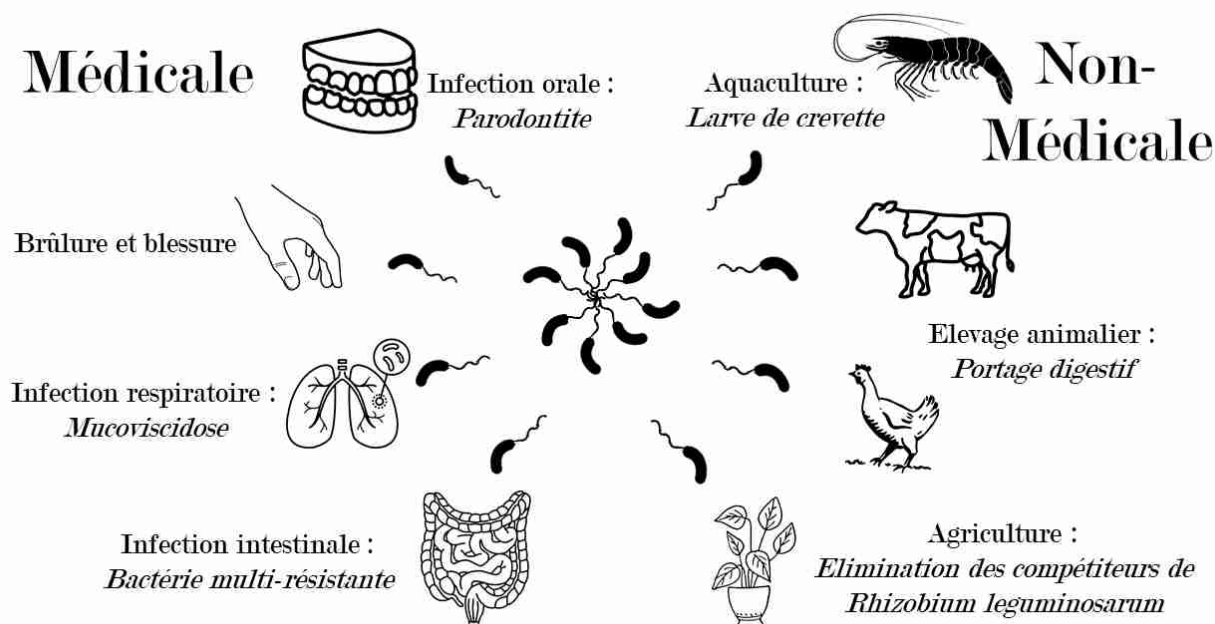


Figure 5. Diverses applications des BALOs comme bioagents (Source The Noun Project, Dwidar et al., 2012).

d'impacter l'ensemble de la communauté microbienne. Les effets de tous les prédateurs et symbiontes parasites formant l'ensemble des interactions biotiques au sein du monde microbien sont complexes à étudier et restent donc encore largement sous-explorés. La plupart des études ne considèrent que des expériences *in vitro* qui sont souvent très simplifiées et contrôlées. Cette revue est l'occasion de souligner que les études portant sur le rôle fonctionnel des BALOs devraient être encouragées et soutenues.

Applications (biotechnologie et médecine)

Au même titre que les virus bactériophages (utilisés dans le cadre de la thérapie phagique, Górski *et al.*, 2018), le comportement de prédation des BALOs fait de ces microorganismes des candidats intéressants pour de nombreuses applications (Figure 5) dans le contrôle biologique de certaines populations bactériennes (Cao *et al.*, 2015). Les bactéries à Gram négatif sont

typiquement responsables de plus de 30 % des infections acquises à l'hôpital (infections nosocomiales), et elles sont aussi associées à des niveaux de morbidité et de mortalité souvent très élevés dans les unités de soins intensifs (Baker *et al.*, 2017). La raison est que la plupart des patients sont infectés par des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (Monnappa *et al.*, 2014). On comprend ainsi que le recours à des solutions alternatives est aujourd'hui une nécessité, et ce en dépit du développement et de la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques au cours des dernières décennies. Ainsi, la capacité prédatrice des BALOs a été proposée afin de combattre les bactéries à Gram négatif, Gram positif et autres biofilms multi-résistants chez l'homme, mais aussi chez les animaux et les plantes (Sockett et Lambert, 2004 ; Johnke *et al.*, 2017). Les BALOs étant présents partout, nous en ingérons sûrement et sans le savoir quotidiennement et de façon inoffensive (Willis *et al.*, 2016). Plusieurs groupes de chercheurs, dont Im *et al.* (2017), ont

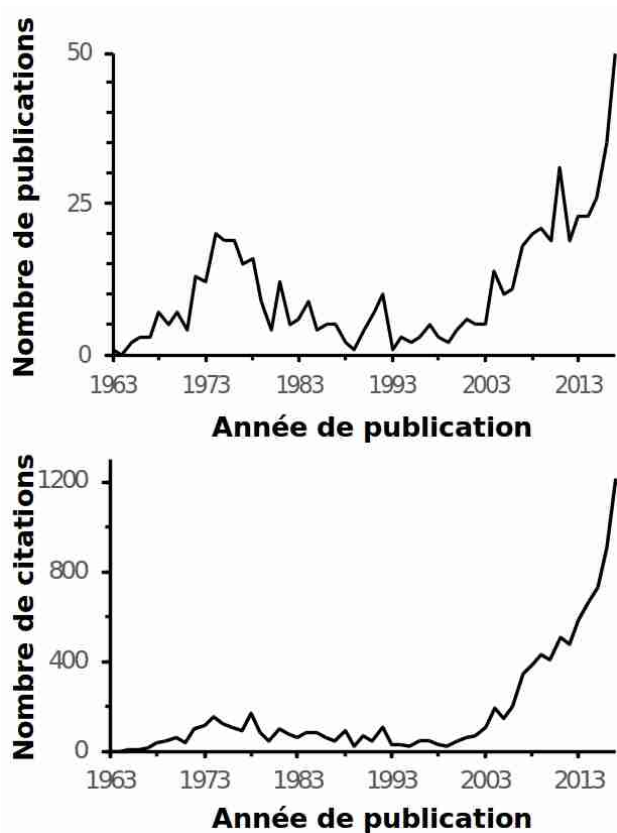


Figure 6. Nombre de publications scientifiques (en haut) et de citations (en bas) parues dans Web of Science (consultation le 29 mars 2019) en relation avec les *Bdellovibrio* et organismes apparentés, de 1963 à 2017 inclus. Les critères de recherche ont été le mot-clef : *Bdellovibrio* (ce mot est retrouvé dans l'ensemble des publications traitant des BALOs).

en effet démontré que ces bactéries prédatrices ne sont pas nocives pour les cultures cellulaires humaines et animales. D'ailleurs, les bactéries prédatrices inoculées dans des modèles animaux tels que les souris, lapins, cochons d'inde, ou encore la poule ne présentent pas de toxicité (Shatzkes *et al.*, 2016). A ce jour, aucune maladie n'a été associée ou attribuée à une infection par des BALOs (Willis *et al.*, 2016). Chez l'homme ou l'animal, l'absence d'une réponse inflammatoire forte et soutenue en présence de bactéries prédatrices par rapport à d'autres bactéries peut

s'expliquer par la composition altérée de la membrane lipopolysaccharidique (LPS) des BALOs.

Les LPS chargés négativement, localisés à la surface des bactéries à Gram négatif induisent des réponses immunitaires innées par l'organisme dans le but de protéger l'hôte contre l'infection. Néanmoins, pour les BALOs, le LPS exprimé est de charge neutre et faiblement immunogène *in vitro* (Willis *et al.*, 2016). En outre, l'activité de prédation des BALOs a été vérifiée *in vitro* sur plus de 100 pathogènes humains (Mun *et al.*, 2017). A titre d'exemple, *B. bacteriovorus* HD100 s'attaque et détruit les pathogènes humains tels que *E. coli*, *Salmonella* ou encore *Klebsiella pneumoniae* (Im *et al.*, 2017). D'autre part, l'avantage de l'utilisation des BALOs est l'absence de résistance permanente chez leurs proies vis-à-vis de leurs modes de prédation. En effet, les BALOs envahissent les pathogènes Gram négatifs sans utiliser de système de reconnaissance à base de récepteur, ce qui rend complexe la possibilité pour les proies d'acquiescer une quelconque résistance génétique (Willis *et al.*, 2016).

Cependant des résistances liées à de la plasticité phénotypique peuvent apparaître chez les proies, mais sont tout de même réversibles. Clairement, des thérapies employant différentes espèces de BALOs pour diminuer les résistances sont facilement envisageables à la manière des cocktails de phages proposés en thérapie phagique (Chan *et al.*, 2013).

Pour une application réelle dans un hôte humain, animal ou végétal, il faut aller au-delà des systèmes proies-prédateurs étroitement contrôlés dans des solutions tampon de laboratoire classiquement employées. Il faut par exemple tenir compte de la présence d'autres espèces bactériennes, faisant office de perturbateurs, pour évaluer l'application clinique des BALOs.

Dans le corps humain, plusieurs facteurs immunologiques et antimicrobiens tels que les anticorps, les peptides antimicrobiens et les leucocytes peuvent agir sur les bactéries prédatrices. Potentiellement, ces facteurs peuvent perturber ou causer la mort des

prédateurs bactériens avant qu'ils n'entament leurs cycles ou comportements de prédation. Pour comprendre ces impacts, deux expériences de prédation de *B. bacteriovorus* sur *K. pneumoniae* (pathogène humain résistant aux carbapénèmes) ont été menées par Baker *et al.* (2017), l'une dans une solution de tampon classique de laboratoire (*in vitro*) et l'autre dans un sérum humain (*in vitro*). Les résultats ont révélé que *B. bacteriovorus* est capable de réduire la charge de *K. pneumoniae* dans les deux milieux, mais à des échelles temporelles différentes.

En effet, dans le sérum humain, le comportement de prédation initial affiche un délai de 19 heures, alors que dans le tampon classique la prédation s'opère de façon rapide et reproductible. Ce délai de prédation est dû à l'incapacité du prédateur à s'attacher à une proie. En effet, en contact avec le sérum humain, *B. bacteriovorus* change de physiologie et passe d'une forme vibroïde à une forme ronde. Cette forme est réversible, mais le prédateur a besoin d'un certain temps pour s'acclimater à son nouveau milieu. En outre, il est possible d'éviter ce délai en pré-exposant au laboratoire le prédateur à du sérum humain avant de l'administrer. Une fois *B. bacteriovorus* adapté à son nouvel environnement, Baker *et al.* (2017) ont montré que la prédation de ce dernier sur les pathogènes dans le sérum humain est possible.

La dynamique de prédation dans le sérum humain est différente de celle dans le tampon de solution de laboratoire classique, mais cette dynamique est variable d'un sérum humain à un autre. Il est nécessaire de mener des expériences à large échelle pour comprendre tous les mécanismes sous-jacents de la prédation dans le sérum humain. Par ailleurs, un autre problème a été constaté : la population de bactéries pathogènes réduite par la prédation de *B. bacteriovorus* réussit à émerger à nouveau au bout de quelques heures.

Cela suggère le développement de résistance par les pathogènes, et cette reprise de croissance peut mettre en péril l'utilisation des BALOs comme bio-agents thérapeutiques (Baker *et al.*, 2017). Cette résistance est la même que celle observée par Shemesh et Jurkevitch (2004) et est

liée à la présence de débris suite à l'action de prédation qui « mettent en garde » les proies vivantes.

Im *et al.* (2017) ont, eux aussi, évalué l'activité bactéricide de *B. bacteriovorus* HD100 dans le sérum sanguin humain contre *K. pneumoniae* et d'autres souches bactériennes associées à des infections, notamment *E. coli* et *Salmonella enterica* sur 24 heures. Leurs tests ont montré que *B. bacteriovorus* HD100 n'est pas sensible au complément sérique (immunité innée) ni à son activité bactéricide. En effet, la viabilité du prédateur est restée stable pendant 24 heures, n'affichant qu'une perte de 33%. Toutefois, la prédation a été inhibée dans le sérum humain à cause de l'osmolalité et de l'albumine. L'activité prédatrice a montré une transition nette entre 200 et 250 mOsm/kg et a été progressivement réduite à mesure que l'osmolalité augmentait. Comme l'osmolalité du sérum sanguin est de 285 à 295 mOsm/kg, les résultats suggèrent ici que la prédation dans les sérums sanguins devrait être sévèrement inhibée en raison de l'osmolalité seule. L'albumine de sérum humain a également agi pour inhiber la prédation en se liant aux cellules prédatrices et en les enrobant complètement, même au niveau du flagelle, empêchant ainsi le prédateur d'attaquer sa proie. Heureusement, les souches de BALOs sont diversifiées et sont présentes dans une multitude d'environnements tels que les eaux salées. Des thérapies utilisant des souches halophiles comme les *Halobacteriovoraceae* plutôt que *B. bacteriovorus* sont à envisager et à étudier à l'avenir. La partie 5 du Complément électronique propose divers exemples d'applications des BALOs en tant que bio-agents.

Conclusion

Les *Bdellovibrio* et organismes apparentés (BALOs) représentent un groupe de prédateurs bactériens remarquable, notamment par leur caractère ubiquiste, leur cycle de vie (endo- et/ou épibiotique), leur spectre de prédation (spécialiste ou semi-généraliste), et leur

diversité. Ils sont aussi remarquables par leurs capacités d'adaptation aux conditions de leur environnement. Enfin leur action permet d'imaginer de nombreuses applications dans divers domaines médicaux et biotechnologiques. Toutefois il reste de nombreux tests à entreprendre pour comprendre le mode d'action des BALOs et les conditions optimales pour la réussite de leurs utilisations notamment thérapeutiques. On comprend mieux dès lors que le nombre de publications et de citations portant sur ce groupe bactérien ait considérablement augmenté au cours des deux dernières décennies (Figure 6), mais force est aussi de constater que la connaissance sur l'écologie de ces microorganismes et de leur rôle fonctionnel dans les environnements naturels reste confidentielle. L'avancée des nouvelles techniques de séquençage à haut débit et de bio-informatique vont permettre de décrypter leur diversité et leurs interactions avec l'environnement biotique et abiotique. C'est tout l'enjeu porté par le projet INRA-USMB C-BALO qui vise à étudier la diversité, la structure et l'abondance des BALOs dans divers environnements aquatiques.

Remerciements

Cette synthèse bibliographique a été réalisée dans le cadre de la thèse de doctorat de Jade Ezzedine, bénéficiant d'un co-financement par l'INRA (via le département Ecologie des Forêts, Prairies et milieux Aquatiques) et l'Université Savoie Mont-Blanc (via l'école doctorale Sciences et Ingénierie des Systèmes de l'Environnement et des Organisations). Les auteurs remercient chaleureusement les professeurs Yves Desdevises (Sorbonne Université), Edouard Jurkevitch (Université hébraïque de Jérusalem), l'éditeur des N3AF et les réviseurs anonymes pour leur relecture critique et leur aide pour améliorer ce manuscrit.

Références

Azam F, Fenchel T, Field JG, Gray JS, Meyer-Reil LA, Thingstad F. 1983. The ecological role

of water-column microbes in the sea, *Marine Ecology Progress Series*, 10, 257–263. <https://doi.org/10.3354/meps010257>.

Baer ML, Ravel J, Chun J, Hill RT, Williams HN. 2000. A proposal for the reclassification of *Bdellovibrio stolpii* and *Bdellovibrio starrii* into a new genus, *Bacteriovorax* gen. nov. as *Bacteriovorax stolpii* comb. nov. and *Bacteriovorax starrii* comb. nov., respectively, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50 (1), 219–224. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-1-219>.

Baer ML, Ravel J, Piñeiro SA, Guether-Borg D, Williams HN. 2004. Reclassification of salt-water *Bdellovibrio* sp. as *Bacteriovorax marinus* sp. nov. and *Bacteriovorax litoralis* sp. nov., *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54 (4), 1011–1016. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02458-0>.

Baker M, Negus D, Raghunathan D, Radford P, Moore C, Clark G, Diggle M, Tyson J, Twycross J, Sockett RE. 2017. Measuring and modelling the response of *Klebsiella pneumoniae* KPC prey to *Bdellovibrio bacteriovorus* predation, in human serum and defined buffer, *Scientific Reports*, 7 (1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08060-4>.

Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. 2013. GenBank, *Nucleic Acids Research*, 41, 36–42. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1195>.

Caballero JDD, Vida R, Cobo M, Maiz L, Suarez L, Galeano J, Baquero F, Canton R, Delcampo R, GEIGQ Study Group. 2017. Individual patterns of complexity in cystic fibrosis lung microbiota including predator bacteria, over a 1-year period, *American Society for Microbiology*, 8 (5), 1–12.

Cao H, An J, Zheng W, He S. 2015. *Vibrio cholerae* pathogen from the freshwater-cultured whiteleg shrimp *Penaeus vannamei* and control with *Bdellovibrio bacteriovorus*,

Notes académiques de l'Académie d'agriculture de France
Academic Notes from the French Academy of Agriculture
(N3AF)
Note de synthèse

Journal of Invertebrate Pathology, 130, 13–20.
<https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.06.002>.

Chanyi RM, Ward C, Pechey A, Koval SF. 2013. To invade or not to invade: two approaches to a prokaryotic predatory life cycle, *Canadian Journal of Microbiology*, 59, 273–79. <https://doi.org/10.1139/cjm-2013-0041>.

Chauhan A, Cherrier J, Williams HN. 2009. Impact of sideways and bottom-up control factors on bacterial community succession over a tidal cycle, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106 (11), 4301–4306. <https://doi.org/10.1073/pnas.0809671106>.

Chen H, Athar R, Zheng G, Williams HN. 2011. Prey bacteria shape the community structure of their predators, *The ISME Journal*, 5 (8), 1314–1322. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.4>.

Chen H, Brinkac LM, Mishra P, Li N, Lymperopoulou DS, Dickerson TL, Gordon-Bradley N, Williams HN, Badger JH. 2015. Draft genome sequences for the obligate bacterial predators *Bacteriovorax* spp. of four phylogenetic clusters, *Standards in Genomic Sciences*, 10 (1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1944-3277-10-11>.

Chen H, Williams HN. 2012. Sharing of prey: coinfection of a bacterium by a virus and a prokaryotic predator, *MBio*, 3 (2), 1–3. <https://doi.org/10.1128/mBio.00051-12>.

Cole JR, Wang Q, Fish JA, Chai B, McGarrell DM, Sun Y, Brown CT, Porras-Alfaro A, Kuske CR, Tiedje JM. 2014. Ribosomal database project: data and tools for high throughput rRNA analysis, *Nucleic Acids Research*, 42 (D1), 633–642. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1244>.

Corno G, Jürgens K. 2006. Direct and indirect effects of protist predation on population size structure of a bacterial strain with high phenotypic plasticity, *Applied and*

Environmental Microbiology, 72 (1), 78–86. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.78-86.2006>.

Crossman LC, Chen H, Cerdeño-Tárraga AM, Brooks K, Quail MA, Pineiro SA, Hopley L, Sockett RE, Bentley SD, Parkhill J, Williams HN, Stine OC. 2013. A small predatory core genome in the divergent marine *Bacteriovorax marinus* SJ and the terrestrial *Bdellovibrio bacteriovorus*, *ISME Journal*, 7 (1), 148–60. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.90>.

Davidov Y, Friedjung A, Jurkevitch E. 2006. 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, *Environmental Microbiology*, 8 (9), 1667–1673. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01052.x>.

Davidov Y, Jurkevitch E. 2004. 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., *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54 (5), 1439–1452. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02978-0>.

Dereeper A, Guignon V, Blanc G, Audic S, Buffet S, Chevenet F, Dufayard JF, Guindon S, Lefort V, Lescot M, Claverie JM, Gascuel O. 2008. Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist, *Nucleic Acids Research*, 36 (Web Server issue), 465–469. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn180>.

Dwidar M, Monnappa AK, Mitchell RJ. 2012. The dual probiotic and antibiotic nature of *Bdellovibrio bacteriovorus*, *BMB Reports*, 45 (2), 71–78. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2012.45.2.71>

Dwidar M, Yokobayashi Y. 2017. Controlling *Bdellovibrio bacteriovorus* gene expression and predation using synthetic riboswitches,

- ACS *Synthetic Biology*, 6 (11), 2035-2041. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.7b00171>.
- Enos BG, Anthony MK, Degiorgis JA, Williams LE. 2017. Prey range and genome evolution of *Halobacteriovorax marinus* predatory bacteria from an estuary, *BioRxiv*, 3 (1), 1–14. <https://doi.org/10.1101/180265>.
- Fenton AK, Kanna M, Woods RD, Aizawa SI, Sockett RE. 2010. Shadowing the actions of a predator: backlit fluorescent microscopy reveals synchronous nonbinary septation of predatory *Bdellovibrio* inside prey and exit through discrete bdelloplast pores, *Journal of Bacteriology*, 192 (24), 6329–6335. <https://doi.org/10.1128/JB.00914-10>.
- Gaudin M, Krupovic M, Marguet E, Gauthier E, Cvirkaite-Krupovic V, Le Cam E, Oberto J, Forterre P. 2014. Extracellular membrane vesicles harbouring viral genomes, *Environmental Microbiology*, 16 (4), 1167–1175. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12235>.
- Górski A, Międzybrodzki R, Łobocka M, Głowacka-Rutkowska A, Bednarek A, Borysowski J, Jończyk-Matysiak E, Lusiak-Szelachowska M, Weber-Dabrowska B, Baqinska N, Letkiewicz S, Dabrowska K, Scheres J. 2018. Phage therapy: what have we learned?, *Viruses*, 10 (6), 1–28. <https://doi.org/10.3390/v10060288>.
- Hahn MW, Schmidt J, Koll U, Rohde M, Verborg S, Pitt A, Nakai R, Naganuma T, Lang E. 2017. *Silvanigrella aquatica* gen. nov., sp. nov., isolated from a freshwater lake, description of *Silvanigrellaceae* fam. nov. and *Silvanigrellales* ord. nov., reclassification of the order *Bdellovibrionales* in the class *Oligoflexia*, reclassification of the families *Bacterio-voracaceae* and *Halobacterio-voraceae* in the new order *Bacteriovoracales* ord. nov., and reclassification of the family *Pseudo-bacteriovoracaceae* in the order *Oligoflexiales*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67 (8), 2555–2568. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001965>.
- Harini K, Ajila V, Hegde S. 2013. *Bdellovibrio bacteriovorus*: a future antimicrobial agent?, *Journal of Indian Society of Periodontology*, 17 (6), 823. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.124534>.
- Hashimoto T, Diedrich DL, Conti SF. 1970. Isolation of a bacteriophage for *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Journal of Virology*, 5 (1), 97–98.
- Iebba V, Totino V, Santangelo F, Gagliardi A, Ciotoli L, Virga A, Ambrosi C, Pompili M, De Biase RV, Selan L, Artini M, Pantanella F, Mura F, Passariello C, Nicoletti M, Nencioni L, Trancassini M, Quattrucci S, Schippa S. 2014. *Bdellovibrio bacteriovorus* directly attacks *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cystic fibrosis isolates, *Frontiers in Microbiology* 5, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00280>.
- Im H, Son S, Mitchell RJ, Ghim CM. 2017. Serum albumin and osmolality inhibit *Bdellovibrio bacteriovorus* predation in human serum, *Scientific Reports*, 7 (1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06272-2>.
- Jacquet S, Miki T, Noble R, Peduzzi P, Wilhelm S. 2010. Viruses in aquatic ecosystems: important advancements of the last 20 years and prospects for the future in the field of microbial oceanography and limnology, *Advances in Oceanography and Limnology*, 1 (1): 97–141. <https://doi.org/10.1080/19475721003743843>.
- Jashnsaz H, Al Juboori M, Weistuch C, Miller N, Nguyen T, Meyerhoff V, McCoy B, Perkins S, Wallgren R, Ray BD, Tsekouras K, Anderson GG, Pressé S. 2017. Hydrodynamic hunters, *Biophysical Journal*, 112 (6), 1282–1289. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.02.011>.
- Johnke J, Boenigk J, Harms H, Chatzinotas A.

2017. Killing the killer: predation between protists and predatory bacteria, *FEMS Microbiology Letters*, 364 (9), 1–8. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx089>.
- Jørgensen TS, Xu S, Hansen MA, Sørensen SJ, Hansen LH. 2014. Hundreds of circular novel plasmids and DNA elements identified in a rat cecum metagenome, *PLoS ONE*, 9 (2), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087924>.
- Jurkevitch E. 2012. Isolation and classification of *Bdellovibrio* and like organisms, *Current Protocols in Microbiology*, chapter 7, unit 7B.1. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc07b01s00>.
- Kandel PP, Pasternak Z, Van Rijn J, Nahum O, Jurkevitch E. 2014. Abundance, diversity and seasonal dynamics of predatory bacteria in aquaculture zero discharge systems, *FEMS Microbiology Ecology*, 89 (1), 149–161. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12342>.
- Koval SF, Williams HN, Stine OC. 2015. Reclassification of *Bacteriovorax marinus* as *Halobacteriovorax marinus* gen. nov., comb. nov. and *Bacteriovorax litoralis* as *Halobacteriovorax litoralis* comb. nov.; description of *Halobacteriovoraceae* fam. nov. in the class *Deltaproteobacteria*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65 (2), 593–597. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.070201-0>.
- Lafferty KD, Kuris AM. 2002. Trophic strategies, animal diversity and body size, *Tree*, 17 (11), 507–513. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02615-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02615-0).
- Lambert C, Cadby IT, Till R, Bui NK, Lerner TR, Hughes WS, Lee DJ, Alderwick LJ, Vollmer W, Socket RE, Lovering AL. 2015. Ankyrin-mediated self-protection during cell invasion by the bacterial predator *Bdellovibrio bacteriovorus*, *Nature Communications*, 6, 1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms9884>.
- Li N, Williams HN. 2015. 454 pyrosequencing reveals diversity of *Bdellovibrio* and like organisms in fresh and salt water, *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 107 (1), 305–311. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0327-9>.
- Miki T, Jacquet S. 2010. Indirect interactions in the microbial world: specificities and similarities to plant-insect systems, *Population Ecology*, 52 (4), 475–83. <https://doi.org/10.1007/s10144-010-0235-4>.
- Monnappa AK, Dwidar M, Seo JK, Hur JH, Mitchell RJ. 2014. *Bdellovibrio bacteriovorus* inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and invasion into human epithelial cells, *Scientific Reports*, 4, 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep03811>.
- Mun W, Kwon H, Im H, Choi SY, Monnappa AK, Mitchell RJ. 2017. Cyanide production by *Chromobacterium piscinae* shields it from *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 predation, *Mbio*, 8(6), 1–12. <https://doi:10.1128/mBio.01370-17>.
- Ottaviani D, Chierichetti S, Angelico G, Forte C, Rocchegiani E, Manuali E, Leoni F. 2018. *Halobacteriovorax* isolated from marine water of the Adriatic sea, Italy, as an effective predator of *Vibrio parahaemolyticus*, non-O1/O139 *V. cholerae*, *V. vulnificus*, *Journal of Applied Microbiology*, 125, 1199–1207. <https://doi:10.1111/jam.14027>.
- Oyedara OO, De Luna-Santillana EJ, Olguin-Rodriguez O, Guo X, Mendoza-Villa MA, Menchaca-Arredondo JL, Elufisan TO, Garza-Hernandez JA, Leon IG, Rodriguez-Perez MA. 2016. Isolation of *Bdellovibrio* sp. from soil samples in Mexico and their potential applications in control of pathogens, *MicrobiologyOpen*, 5 (6), 992–1002. <https://doi.org/10.1002/mbo3.382>.
- Paix B, Ezzedine JA, Jacquet S. 2019.

- Diversity, dynamics and distribution of *Bdellovibrio* and like organisms in peri-alpine lakes, *Applied and Environmental Microbiology*, Jan 11. pii: AEM.02494-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.02494-18>.
- Pantanella F, Iebba V, Mura F, Dini L, Totino V, Neroni B, Bonfiglio G, Trancassini M, Passariello C, Schippa S. 2018. Behaviour of *Bdellovibrio bacteriovorus* in the presence of Gram-positive *Staphylococcus aureus*, *New Microbiologica*, 41 (2), 145–152. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29498744>.
- Pasternak, ZM, Njagi M, Shani Y, Chanyi R, Rotem O, Lurie-Weinberger MN, Koval S, Pietrokovski S, Gophna U, Jurkevitch E. 2014. In and out: an analysis of epibiotic vs periplasmic bacterial predators, *ISME Journal*, 8 (3), 625–635. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.164>.
- Pineiro SA, Sahaniuk GE, Romberg E, Williams HN. 2004. Predation pattern and phylogenetic analysis of *Bdellovibrionaceae* from the great salt lake, Utah, *Current Microbiology*, 48 (2), 113–117. <https://doi.org/10.1007/s00284-003-4136-z>.
- Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Glo FO, Yarza P. 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools, *Nucleic Acids Research*, 41, 590-596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.
- Rendulic S. 2004. A predator unmasked: life cycle of *Bdellovibrio bacteriovorus* from a genomic perspective, *Science*, 303 (5658), 689–692. <https://doi.org/10.1126/science.1093027>.
- Richards, Gary P., Johnna P. Fay, Keyana A. Dickens, Michelle A. Parent, Douglas S. Soroka, and E. Fidelma Boyd. 2012. Predatory bacteria as natural modulators of *Vibrio Parahaemolyticus* and *Vibrio Vulnificus* in seawater and oysters, *Applied and Environmental Microbiology*, 78 (20), 7455–66. <https://doi.org/10.1128/AEM.01594-12>.
- Rogosky AM, Moak PL, Emmert EA. 2006. Differential predation by *Bdellovibrio bacteriovorus* 109, *J. Current Microbiology*, 52 (2), 81–85. <https://doi.org/10.1007/s00284-005-0038-6>.
- Roschanski N, Klages S, Reinhardt R, Linscheid M, Strauch E. 2011. Identification of genes essential for prey-independent growth of *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100, *Journal of Bacteriology*, 193 (7), 1745–1756. <https://doi.org/10.1128/JB.01343-10>.
- Rotem O, Pasternak Z, Jurkevitch E. 2014. *The genus Bdellovibrio and like organisms*. In Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F (Eds), *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-39044-9>.
- Schwudke D, Strauch E, Krueger M, Appel B. 2001. Taxonomic studies of predatory *Bdellovibrions* based on 16S rRNA analysis, ribotyping and the hit locus and characterization of isolates from the gut of animals, *Systematic and Applied Microbiology*, 24, 385-394. [https://doi.org/S0723-2020\(04\)70048-X](https://doi.org/S0723-2020(04)70048-X) [pii] [r10.1078/0723-2020-00042](https://doi.org/10.1078/0723-2020-00042).
- Shatzkes K, Singleton E, Tang C, Zuena M, Shukla S, Gupta S, Dharani S, Onyile O, Rinaggio J, Connell ND, Kadouri DE. 2016. Predatory bacteria attenuate *Klebsiella pneumoniae* burden in rat lungs. *Mbio*, 7 (6), 1–9. <https://doi.org/10.1128/mBio.01847-16>.
- Shemesh Y, Jurkevitch E. 2004. Plastic phenotypic resistance to predation by *Bdellovibrio* and like organisms in bacterial prey, *Environmental Microbiology*, 6 (1), 12–18. <https://doi.org/10.1046/j.14622920.2003.00530.x>.

- Sockett RE, Lambert C. 2004. *Bdellovibrio* as therapeutic agents: a predatory renaissance?, *Nature Reviews Microbiology*, 2 (8), 669–675. <https://doi.org/10.1038/nrmicro959>.
- Soler N, Krupovic M, Marguet E, Forterre P. 2015. Membrane vesicles in natural environments: a major challenge in viral ecology, *ISME Journal*, 9, 793–96. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.184>.
- Stolp H, Starr MP. 1963. *Bdellovibrio bacteriovorus* gen. et sp. n., a predatory, ectoparasitic, and bacteriolytic microorganism, *Antonie van Leeuwenhoek*, 29 (1), 217–248. <https://doi.org/10.1007/BF02046064>.
- Stolp H, Petzold H. 1962. Untersuchungen über einen obligat parasitischen Mikroorganismus mit lytischer Aktivität für *Pseudomonas* Bakterien, *Journal of Phytopathology*. 45 (4) : 364-390. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0424.1962.tb02050.x>
- Sutton DC, Besant PJ. 1994. Ecology and characteristics of *Bdellovibrios* from threotropical marine habitats, *Marine Biology*, 119(2), 313–20. <https://doi.org/10.1007/BF00349571>.
- Van Essche M, Quirynen M, Slieden I, Loozen G, Boon N, Van Eldere J, Teughels W. 2011. Killing of anaerobic pathogens by predatory bacteria, *Molecular Oral Microbiology*, 26 (1), 52–61. <https://doi.org/10.1111/j.2041-1014.2010.00595.x>.
- Velicer GJ, Mendes-Soares H. 2009. Bacterial predators, *Current Biology*, 19 (2), 55–56. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.10.043>.
- Wen CQ, Lai XT, Xue M, Huang YL, Li HX, Zhou SN. 2009. Molecular typing and identification of *Bdellovibrio*-and-like organisms isolated from seawater shrimp ponds and adjacent coastal waters, *Journal of Applied Microbiology*, 106 (4), 1154–1162. <https://doi.org/10.1111/j.13652672.2008.04081x>
- Williams HN, Li N, Expedition Scientists. 2018. Data report: exploring the presence of *Bdellovibrio* and like organisms in deep-sea sediment by culture-independent and culture-dependent methods, *International Ocean Discovery Program*, 349, 1–4. <https://doi.org/10.14379/iodp.proc.349.202.2028>.
- Williams HN, Lympelopoulou DS, Athar R, Chauhan A, Dickerson TL, Chen H, Laws E, Berhane TK, Flowers AR, Bradley N, Young S, Blackwood D, Murray J, Mustapha O, Blackwell C, Tung Y, Noble RT. 2015. *Halobacteriovorax*, an underestimated predator on bacteria: potential impact relative to viruses on bacterial mortality, *The ISME Journal*, 10 (2), 491–499. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.129>.
- Willis AR, Moore C, Mazon-Moya M, Krokowski S, Lambert C, Till R, Mostowy S, Sockett RE. 2016. Injections of predatory bacteria work alongside host immune cells to treat *Shigella* infection in zebrafish larvae, *Current Biology*, 26 (24), 3343–3351. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.09.067>.
- Yu R, Zhang S, Chen Z, Li C. 2017. Isolation and application of predatory *Bdellovibrio*-and-like organisms for municipal waste sludge biolysis and dewaterability enhancement, *Frontiers of Environmental Science and Engineering*, 11 (1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11783-017-0900-3>.

Edité par

Dominique Job, directeur de recherche émérite au CNRS, membre de l'Académie d'agriculture de France.

Rapporteurs

Alain Philippon est professeur émérite de Faculté de Médecine Paris Descartes et membre de l'Académie vétérinaire de France

Notes académiques de l'Académie d'agriculture de France
Academic Notes from the French Academy of Agriculture
(N3AF)
Note de synthèse

Arlette Laval est professeur émérite à Oniris et membre de l'Académie d'agriculture de France

Gérard Corthier est directeur de recherche honoraire à l'INRA et membre de l'Académie d'agriculture de France



Rubrique

Cet article a été publié dans la rubrique «Notes de synthèse» des *Notes Académiques de l'Académie d'agriculture de France*.

Reçu

7 novembre 2018

Accepté

12 mars 2018

Publié

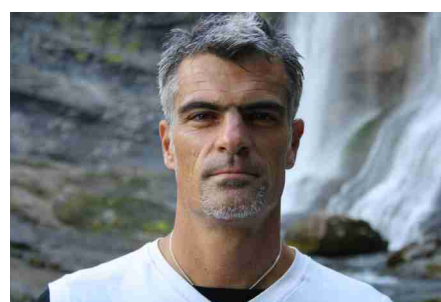
29 mars 2019

Jade A. Ezzedine est doctorant au sein du CARRETEL. Son travail de thèse porte sur les BALOs au sein de divers environnements aquatiques.

Citation

Ezzedine JA, Jacquet S. 2019. Diversité et rôles des bactéries prédatrices de bactéries : zoom sur les *Bdellovibrio* et organismes apparentés (BALOs), *Notes Académiques de l'Académie d'agriculture de France / Academic Notes from the French Academy of Agriculture (N3AF)*, 7(2), 1-25. <https://doi.org/10.58630/pubac.not.a192346>.

Ce texte est accompagné d'un document complémentaire.



Stéphane Jacquet est chercheur au CARRETEL (Centre Alpin de Recherches sur les Réseaux Trophiques et Ecosystèmes Limniques) et instructeur de plongée. Il est directeur de recherche à l'INRA, spécialiste en écologie microbienne et virale aquatique.

Compléments à la note

Ezzedine JA, Jacquet S. 2019. *Diversité et rôles des bactéries prédatrices de bactéries : zoom sur les *Bdellovibrio* et organismes apparentés (BALOs)*, Notes Académiques de l'Académie d'agriculture de France / Academic Notes from the French Academy of Agriculture, 2019, 2, 1-25.

Jade A. Ezzedine¹, Stéphan Jacquet¹

¹ Université Savoie Mont-Blanc, Inra, UMR CARRETEL, 75 bis avenue de Corzent, 74200 Thonon-les-Bains, France

Correspondance :

stephan.jacquet@inra.fr

1 - Prédateur ou parasite ?

Un prédateur est caractérisé par la consommation de plusieurs proies au cours de sa vie. Il est aussi généralement plus grand que sa proie. Le prédateur a également tendance à provoquer la mort de sa proie et, ainsi, évincer sa valeur sélective ou fitness. En revanche, pour un microprédateur, les deux dernières règles ne sont pas toujours applicables. Un microprédateur n'est pas forcément plus grand que sa proie et n'induit pas systématiquement la mort de celle-ci, car il peut prélever en petite quantité des repas non létaux.

Un parasite attaque une seule victime par cycle de vie, sans nécessairement éliminer la fitness de son hôte. L'hôte est inévitablement plus grand que le parasite. Le parasite au cours d'un stade donné de son cycle de vie ne va normalement pas chercher à sortir de son hôte pour aller en infecter un autre.

A l'instar du parasite, le parasitoïde va infecter un seul hôte par cycle de vie, mais il provoque inévitablement la mort de son hôte.

En général, c'est le développement de la progéniture qui met fin à l'hôte. Concernant les BALOs (*Bdellovibrio* et organismes apparentés), la frontière est mince entre ces différentes catégories. Toutefois les BALOs sont considérés comme des prédateurs, car l'hôte est immédiatement tué, et cela même avant le développement de la progéniture. De plus, le prédateur cherche systématiquement une nouvelle proie à la fin de son cycle. Enfin l'hôte qui a succombé au prédateur ne fait office que d'un réservoir de ressource énergétique, ainsi que d'un environnement inerte, stable osmotiquement et protecteur contre les attaques de prédateurs et les fluctuations des conditions environnementales.

D'après Lafferty M, Kuris M. 2002. Trophic strategies, animal diversity and body size, *Tree*, 17 (11), 507–513.

Document complémentaire

2. Inventaire des prédateurs bactériens : mode de vie, morphologie et stratégie de prédation

Une bactérie est considérée comme un prédateur dès lors qu'elle tue d'autres microbes et les consomme en tant que ressource nutritionnelle (Velicer *et al.*, 2009). Une dizaine d'espèces bactériennes prédatrices correspondant à divers taxa [*Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria* (<https://en.wikipedia.org/wiki/Proteobacteria>), *Chloroflexi* ([https://en.wikipedia.org/wiki/Chloroflexi_\(phylum\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Chloroflexi_(phylum))), etc. a été identifiée à ce jour. On les trouve dans les environnements terrestres, aquatiques et extrêmes (sources chaudes, milieux hypersalés, etc.).

Le point commun à tous les prédateurs bactériens est la capacité à dégrader les polymères de leurs proies. Cependant il existe une grande diversité au sein des prédateurs bactériens. Ainsi certaines bactéries sont des prédateurs facultatifs ou obligatoires. De plus, la stratégie de prédation peut se faire individuellement ou en groupes nommés essaims ou meutes, de l'anglais wolfpacks. Enfin certaines cellules ont besoin d'établir un contact cellule-cellule pour initier la prédation. En effet, deux types de contacts peuvent être distingués : le contact endobiotique qui résulte de l'envahissement de la proie par le prédateur (Figure 1, E de la Note), et le contact épibiotique (Figure 1, F de la Note), qui n'implique pas une intrusion au sein de la proie.

Toutefois d'autres prédateurs ne nécessitent pas de contact et se contentent d'enclencher la prédation à distance par sécrétion d'enzymes lytiques, provoquant ainsi l'éclatement des cellules sensibles à l'action de ces enzymes. Ces différents mécanismes, stratégies et mode de prédation distinguent les BALOs des autres prédateurs bactériens, bien que certaines espèces prédatrices puissent présenter plusieurs stratégies de prédation au cours de leur vie, à savoir le

mode épibiotique et le mode endobiotique.

Les prédateurs *Bdellovibrio* spp., *Bacteriovorax* spp. et *Peredibacter* spp. appartenant à la classe des *Oligoflexia* (récemment retirée de la classe des *Deltaproteobacteria*) (Hahn *et al.*, 2017. *Silvanigrella aquatica* gen. nov., sp. nov., isolated from a freshwater lake, description of *Silvanigrellaceae* fam. nov. and *Silvanigrellales* ord. nov., reclassification of the order *Bdellovibrionales* in the class *Oligoflexia*, reclassification of the families *Bacteriovoracaceae* and *Halobacteriovoraceae* in the new order *Bacteriovorales* ord. nov., and reclassification of the family *Pseudobacteriovoracaceae* in the order *Oligoflexales*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 67 (8), 2555–2568), ainsi que *Micavibrio* spp. de la classe des *Alphaproteobacteria* ont été réunis au sein du même groupe des *Bdellovibrio* and like organisms (BALOs), puisqu'ils présentent des caractéristiques similaires du point de vue de la morphologie (forme vibroïde) (Figure 1 de la Note), de la motilité (présence de flagelle), de l'arsenal enzymatique, du mode de prédation individuel (obligatoire pour la nourriture et la multiplication), et du mécanisme d'attachement à la proie (épibiotique et endobiotique périplasmique ou cytoplasmique).

De plus, les travaux de phylogénie fondés sur la séquence du gène 16S de la petite sous-unité ribosomique renforcent la classification des trois espèces modèles de la classe des *Oligoflexia* dans le groupe des BALOs (Figure 2 de la Note). Par ailleurs, *Micavibrio* ne ressemble à aucun autre prédateur de la classe des *Alphaproteobacteria*. Il s'intègre néanmoins dans le groupe des BALOs par la similitude de son mode d'action, de prédation et sa morphologie.

Ci-dessous sont listés des exemples de prédateurs bactériens n'appartenant pas au groupe des BALOs :

Document complémentaire

Alphaproteobacteria : *Ensifer adhaerens* : Bactérie du sol, Gram-négatif, en forme de bâtonnet, rencontrée à l'état individuel ou par paire. Elle forme des nodules fixateurs d'azote sur les racines et les tiges de légumineuses. Toutefois elle présente un comportement de prédation lorsque les conditions nutritives deviennent limitantes. *In vitro*, la prédation s'opère par un groupe d'*E. adhaerens* qui s'attache à une proie les uns à côté des autres, à l'image d'une palissade.

Betaproteobacteria : *Cupriavidus necator* : Bactérie du sol en forme de bâtonnet, ayant un comportement de prédation facultative. Sa croissance nécessite la présence de concentrations élevées en cuivre.

Gammaproteobacteria : *Lysobacter* : Bactérie à mobilité « glissante » qui prolifère en formant de longues cellules et filaments. La prédation s'effectue suivant la stratégie de meute (*wolfpack*). Un contact est établi entre le prédateur et la proie, mais, contrairement aux BALOs, aucune structure d'attachement à la proie n'est observée ou définie.

Deltaproteobacteria : *Myxobacteria* : Bactérie en bâtonnet relativement volumineuse et qui se déplace par glissement dans les sols. La caractéristique la plus marquante de ce groupe est également la formation d'essaims (*wolfpack*), ainsi que son mode de vie multicellulaire. La prédation s'opère par un déplacement de l'essaim jusqu'à rencontrer fortuitement une proie. La prédation se déroule en deux temps, d'abord par les cellules mères qui attaquent, piègent et affaiblissent la proie, puis les nouvelles recrues générées principalement par division cellulaire forcent la proie dans un espace contraint afin de la dévorer.

D'après Jurkevitch E, Davidov Y 2007. *Phylogenetic diversity and evolution of predatory prokaryotes*. In Jurkevitch E (ed.). *Predatory Prokaryotes - Biology, ecology, and evolution*. Springer-Verlag, Heidelberg et Velicer GJ, Mendes-Soares H. 2009. Bacterial predators, *Current Biology*, 19 (2), 55–56.

3. Classification des bactéries

La classification vise à décrire et à regrouper des espèces bactériennes sur la base de caractères similaires. Cette classification apparaît dans deux publications officielles qui sont *The International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (<https://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem>) et le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (https://en.wikipedia.org/wiki/Bergey%27s_Manual_of_Systematic_Bacteriology).

De plus, *The International Committee on Systematics of Prokaryotes* (<https://www.the-icsp.org>) supervise la nomenclature des procaryotes et détermine les règles de désignation.

Historiquement les bactéries ont été classées selon la coloration de Gram (qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne ; https://fr.wikipedia.org/wiki/Coloration_de_Gram), la morphologie, la mobilité, la température de croissance, la sporulation, les besoins nutritionnels, etc. De nos jours et depuis la découverte des techniques moléculaires, la taxonomie se fonde sur la constitution chimique (caractéristiques électrophorétiques des protéines) et sur la structure de l'ADN. Cette dernière se fonde sur l'étude du génome, lui-même par l'intermédiaire de techniques telles que le pourcentage en GC (densité et température de dénaturation des paires de bases guanine G et cytosine C), l'électrophorèse de l'ADN en champ pulsé, l'hybridation ADN-ADN, l'hybridation ADN-ARN et le séquençage de l'ARN ribosomique (16S ou/et 23S). Enfin en bactériologie médicale, il existe aussi une autre classification qui se fonde sur les marqueurs épidémiologiques pour caractériser les bactéries à intérêt clinique.

La base de données en ligne *List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3965054/>) répertorie et

Document complémentaire

maintient des informations relatives au nom et à la taxonomie des procaryotes. A ce jour, cette base contient 34 phyla bactériens (*Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Aquificae*, *Armatimonadetes*, *Bacteroidetes*, *Balneolaeota*, *Caldiserica*, *Calditrichaeota*, *Chlamydiae*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Chrysiogenetes*, *Cyanobacteria*, *Deferribacteres*, *Deinococcus-Thermus*, *Dictyoglomi*, *Elusimicrobia*, *Fibrobacteres*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Kiritimatiellaeota*, *Lentisphaerae*, *Nitrospira*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, *Rhodothermaeota*, *Spirochaetes*, *Synergistetes*, *Tenericutes*, *Thermodesulfobacteria*, *Thermotogae*, *Verrucomicrobia*, et une liste de non assignées).

4. Historique et étymologie

En 2000, Baer et ses co-auteurs (Baer ML, Ravel J, Chun J, Hill RT, Williams HN. 2000. A proposal for the reclassification of *Bdellovibrio stolpii* and *Bdellovibrio starrii* into a new genus, *Bacteriovorax* gen. nov. as *Bacteriovorax stolpii* comb. nov. and *Bacteriovorax starrii* comb. nov., respectively, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50 (1), 219–224) ont proposé de transférer les deux espèces *Bdellovibrio stolpii* Uki2 et *Bdellovibrio starrii* A3.12 vers un nouveau genre nommé *Bacteriovorax*.

Ce terme est composé de *baktron*, mot grec signifiant petit bâtonnet, et du mot latin *vorax*, exprimant l'action de dévorer. Ainsi *Bacteriovorax stolpii* et *Bacteriovorax starrii* ont vu le jour. Par ailleurs, le terme *stolpii* provient de Stolp, nom du microbiologiste allemand Heinz Stolp (https://de.wikipedia.org/wiki/Heinz_Stolp), découvreur du premier BALO.

En 2004, Davidov et Jurkevitch (Davidov Y, Jurkevitch E. 2004. 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, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54 (5), 1439–1452) reclassent l'espèce *B. starrii* dans un nouveau genre *Peredibacter*. Ainsi l'espèce *B. starrii* devient *Peredibacter starrii*. *Peredibacter* dérive du latin *peredere* qui signifie « dévorer » et du néo-latin *bacter* qui dépeint la forme en bâtonnet. Ainsi le terme *Peredibacter* signifie « dévoreur de bactéries ». Le mot *starrii* provient quant à lui de Starr, nom du microbiologiste américain Mortimer P. Starr (https://www.researchgate.net/scientific-contributions/77379731_Mortimer_P_Starr).

La même année, Baer *et al.* (2004) proposent à leur tour de reclasser les BALOs marins *Bdellovibrio* sp. en *Bacteriovorax marinus* et *Bacteriovorax litoralis*, *marinus* pour environnement marin et *litoralis* pour la côte. Ensuite ces deux espèces ont été transférées dans un nouveau genre *Halobacteriovorax*. Ce terme est composé du mot grec *hals* ou *haloes*, autrement dit sel, du mot latin *bacterium*, pour la forme en petit bâtonnet, et, enfin, du suffixe latin *vorax*, pour dévoreur. L'ensemble définit les *Halobacteriorax* comme « des dévoreurs de bactéries en milieu halophile ».

Dans un article récent de Hahn *et al.* (2017. *Silvanigrella aquatica* gen. nov., sp. nov., isolated from a freshwater lake, description of *Silvanigrellaceae* fam. nov. and *Silvanigrellales* ord. nov., reclassification of the order *Bdellovibrionales* in the class *Oligoflexia*, reclassification of the families *Bacteriovoracaceae* and *Halobacteriovoracaceae* in the new order *Bacteriovoracales* ord. nov., and reclassification of the family *Pseudobacteriovoracaceae* in the order *Oligoflexales*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67 (8), 2555–2568), la classification des BALOs a encore une fois subi des changements. L'ordre des *Bdellovibrionales* a été transféré de la classe des

Document complémentaire

Deltaproteobacteria à la classe des *Oligoflexia*. Cet ordre contenait à l'origine deux familles : les *Bdello-vibrionaceae* et les *Pseudobacterio-voracaceae*. Depuis, les *Pseudo-bacteriovoracaceae* ont quitté cet ordre pour rejoindre l'ordre des *Oligoflexiales*. De même, l'ordre des *Bacteriovorales*, contenant les familles *Peredibacteraceae*, *Bacterio-voracaceae* et *Halobacteriovoraceae* a aussi été incorporé à la classe des *Oligoflexia* (Table 1 de la Note).

5. Quelques exemples d'applications des BALOs en tant que bio-agents anti bactériens

Exemple I : La mucoviscidose est une maladie génétique létale. L'évolution naturelle de la mucoviscidose est un déclin progressif de la fonction respiratoire des poumons occasionné par un cercle vicieux d'inflammation et de destruction des tissus, enclenché et maintenu par une colonisation bactérienne chronique des voies respiratoires inférieures. *B. bacteriovorus* a été détecté naturellement dans le microbiote des poumons de sujets sains et parvient à survivre dans ces conditions anoxiques. Il a donc été proposé d'inoculer des souches du prédateur au début du stade de colonisation des poumons chez des sujets atteints de mucoviscidose pour contribuer à contrôler la colonisation chronique des deux bactéries dominantes du microbiote, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif) et *Staphylococcus aureus* (Gram positif). Effectivement, une fois que les bactéries pathogènes sont installées, rien ne peut les déloger, pas même les antibiotiques (Iebba *et al.*, 2014. *Bdellovibrio bacteriovorus* directly attacks *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cystic fibrosis isolates. *Frontiers in Microbiology* 5, 1–9).

L'action des BALOs semble se traduire par une réduction significative des biofilms de *S.*

aureus et de *P. aeruginosa* (Iebba *et al.*, 2014 ; Pantanella *et al.*, 2018. *Behaviour of Bdellovibrio bacteriovorus in the presence of Gram-positive Staphylococcus aureus*. *New Microbiologica* 41 (2), 145–152).

Exemple II : *B. bacteriovorus* est injecté dans le rhombencéphale (cerveau postérieur) en tant que traitement antibactérien *in vivo* chez des larves de *Danio rerio* (poisson-zèbre) infectées par une souche pathogène humaine résistante à l'antibiotique, *Shigella flexneri*. La survie des animaux infectés est alors significativement améliorée, ainsi que le taux de survie des larves du poisson-zèbre qui augmente de 35 %. Le système immunitaire du poisson-zèbre est hautement homologue à celui de l'homme, avec des réponses associées aux neutrophiles et macrophages. Après injection du prédateur dans les larves, le temps de persistance de ce dernier est de 24 heures. En effet, *B. bacteriovorus* est englouti par les neutrophiles et les macrophages du poisson qui se chargent de l'éliminer efficacement après 24 heures, même quand une dose importante du prédateur est apportée. Par contre, malgré ce temps de persistance relativement court, *B. bacteriovorus* est capable de réduire efficacement la charge pathogène *in vivo* avant d'être éliminé par l'action du système immunitaire de l'hôte. De plus, l'action prédatrice ne perturbe pas le système immunitaire, c'est-à-dire que la bactérie ne stimule pas une réponse immunitaire supplémentaire quand une infection est déjà présente ; au contraire on parle d'une réaction synergétique, puisque les leucocytes et *B. bacteriovorus* participent ensemble à l'élimination de *Shigella* (Willis *et al.*, 2016. *Injections of predatory bacteria work alongside host immune cells to treat Shigella infection in zebrafish larvae*. *Current Biology*, 26 (24), 3343–3351).

Exemple III : La parodontite est une maladie infectieuse polymicrobienne (Van Essche *et al.*, 2011. *Killing of anaerobic pathogens by*

Document complémentaire

predatory bacteria. *Molecular Oral Microbiology*, 26 (1), 52–61) qui provoque l'inflammation des tissus de soutien de la dent (parodonte). L'infection est due à de nombreux pathogènes Gram négatifs tels que *Porphyromonas gingivalis*, *Aggre-gatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevo-tella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga sputigena*, *Eikenella corrodens* et *Actinomyces naeslundii* (Harini *et al.*, 2013. *Bdellovibrio bacteriovorus: a future antimicrobial agent?* *Journal of Indian Society of Periodontology*, 17 (6), 823.; Van Essche *et al.*, 2011. *Killing of anaerobic pathogens by predatory bacteria. Molecular Oral Microbiology* 26 (1), 52–61) qui sont enchâssés dans un biofilm complexe constitutif de la plaque dentaire.

Les traitements de la parodontite qui consiste à éradiquer le biofilm par des thérapies classiques comme l'utilisation d'antibiotiques se révèlent de plus en plus compliqués et sont souvent inefficaces, voire déconseillés (Van Essche *et al.*, 2011). En effet, les bactéries développent le plus souvent des résistances aux antibiotiques et les agents antimicrobiens ont du mal à pénétrer le biofilm dentaire.

En effet, les bactéries en biofilm sont 1000 fois plus résistantes aux agents antimicrobiens que ceux sous formes libres ou planctoniques (Van Essche *et al.*, 2011). Néanmoins, l'application locale de BALOs permet de réduire spécifiquement le taux de pathogènes à Gram négatif dans la cavité buccale. Les BALOs sont capables de pénétrer profondément dans le biofilm et ainsi de le détruire. De ce fait, il est suggéré de compléter les bains de bouche classiques par un cocktail de BALOs.

Toutefois il existe quelques inconvénients à leurs utilisations. D'abord, ils n'éliminent pas entièrement les proies même quand la concentration des prédateurs est augmentée, probablement à cause de l'apparition de résistance phénotypique transitoire ou parce que le spectre de prédation de la souche de

BALO employée ne permet pas d'éradiquer l'ensemble des pathogènes.

De plus, leur activité est affectée par l'état physiologique de leurs proies et par la présence d'autres bactéries qui peuvent contrecarrer leurs activités par encombrement stérique (Van Essche *et al.*, 2011). Enfin les BALOs sont des bactéries aérobies strictes si bien que leur action est limitée en cas d'absence d'oxygène.

Exemple IV : L'aquaculture en eau douce de crevettes à pattes blanches (*Penaeus vannamei*) en Chine produit annuellement 300 000 tonnes d'animaux à destination alimentaire. Les pathogènes *Vibrio harparahaemolyticus* et *V. cholerae* provoquent des épidémies généralisées et sont responsables d'une perte atteignant les 90%. L'infection de *Vibrio* n'est pas toujours contrôlable par des antibiotiques, et les antibiotiques ont un coût prohibitif et sont néfastes pour l'environnement ainsi que pour la santé humaine. Or il a été démontré que *B. bacteriovorus* H16 parvient à éradiquer 10 souches différentes de *Vibrio*. En effet, des expériences ont montré une diminution de 99,9 % de l'abondance de *V. cholerae* par rapport aux conditions contrôles. Le prédateur a indéniablement un effet protecteur pour la crevette contre les infections à *Vibrio* et le pourcentage de survie *in vivo* des crevettes augmente de 47,7 % à 63,3 % (Cao *et al.*, 2015. *Vibrio cholerae pathogen from the fresh water cultured whiteleg shrimp Penaeus vannamei and control with Bdellovibrio bacteriovorus. Journal of Invertebrate Pathology* 130, 13–20). Il a été aussi indéniablement établi par Ottaviani *et al.* (2018. *Halobacteriovorax isolated from marine water of the Adriatic sea, Italy, as an effective predator of Vibrio parahaemolyticus, non-O1/O139 V. cholerae, V. vulnificus. Journal of Applied Microbiology* 125, 1199- 1207) et Richards *et al.* (2012. *Predatory bacteria as natural modulators of Vibrio parahaemolyticus and Vibrio vulnificus in seawater and oysters.*

Document complémentaire

Applied and Environmental Microbiology 78 (20), 7455–7466) que les BALOs marins tel que *Halobacteriovorax* HBXCO1 sont des modulateurs écologiques des populations de *Vibrio* sp. notamment *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, et *V. vulnificus* chez les bivalves. En effet, certaines souches de *Vibrio* s'accumulent naturellement dans les huitres (*Mytilus galloprovincialis* et *Crassostrea virginica*), moules et autres palourdes provoquant des maladies chez l'homme quand la cuisson des fruits de mer est insuffisante.

Les éleveurs n'arrivant pas toujours à décontaminer les bivalves d'une façon efficace, les BALOs ont été considérés comme une bonne solution de contrôle biologique de par une activité de prédation spécifique et rapide (< 24 h) même quand une faible concentration de prédateurs est apportée (< 10⁸ CFU). Aujourd'hui, pour que les BALOs marins puissent être utilisés dans ce but, il reste à les isoler et trouver le moyen de les commercialiser.

Exemple V: *B. bacteriovorus* SSB et SKB peuvent être employés comme amplificateurs naturels en agriculture. Les deux souches n'agissent pas sur *Rhizobium leguminosarum* qui vit en symbiose avec les racines des plants de légumineuses et favorise la croissance des plants par fixation d'azote atmosphérique, mais leur action est utile pour éliminer les compétiteurs de *R. leguminosarum* (Oyedara *et al.*, 2016. *Isolation of Bdellovibrio sp. from soil samples in Mexico and their potential applications in control of pathogens*. Microbiology Open 5 (6), 992–1002).

Exemple VI : Les boues activées biologiques sont principalement constituées de microorganismes et de fibres organiques associées à des particules inorganiques (sel et sable). Le procédé le plus largement utilisé

pour le traitement biologique des boues activées génère de grandes quantités de boues résiduelles avec une humidité de plus de 95 %.

L'incinération, le compostage, l'épandage et l'enfouissement sont les approches les plus couramment utilisées pour la gestion de ces boues. En tenant compte de l'espace de stockage, de l'apport d'énergie, des coûts pour le transport et la manipulation des boues, un processus efficace de déshydratation et de réduction de volume de boues est nécessaire pour les stations d'épuration municipales. Globalement, pour améliorer la déshydratation des boues, les technologies de prétraitement comme l'ultrasonication, l'irradiation aux micro-ondes et l'électrolyse sont généralement appliquées.

Des réactifs chimiques de conditionnement sont généralement ajoutés pour perturber la structure des floccs et pour lyser les cellules afin de libérer l'eau interne. Cependant, ces réactifs diminueraient les performances de décantation des boues et provoqueraient des pollutions secondaires.

Une alternative à ces procédés est l'utilisation des BALOs. En effet, en raison de la grande densité de microorganismes dans les boues et de l'abondance des matières organiques, les BALOs y sont naturellement présents. Ainsi un apport supplémentaire de BALOs permet de perturber la composition des biofilms et par extension la structure des boues, favorisant considérablement leur déshydratation.

Le processus de biolyse stimulé par les BALOs présente des avantages opérationnels, économiques, écologiques et hygiéniques (Yu *et al.*, 2017. *Isolation and application of predatory Bdellovibrio-and like organisms for municipal waste sludge biolysis and dewaterability enhancement*. Frontiers of Environmental Science and Engineering 11 (1), 1–11).

Notes
académiques
de
l'Académie
d'agriculture
de
France



ACADÉMIE
d'AGRICULTURE
de FRANCE

AGRICULTURE ■ ALIMENTATION ■ ENVIRONNEMENT