

# Les bactériophages de *Bacillus cereus*, prédateurs naturels de leurs hôtes

**Master Biologie Gestion (2017/2018), Université de Rennes 1, mars 2018.**

**Cible : niveau de biologie de L1/L2.**

## Une alternative aux antibiotiques !

Terreurs de leurs bactéries hôtes, les phages furent découverts en 1919 par le Franco-canadien Félix d'Hérelle. Immédiatement, ils suscitent l'intérêt des scientifiques, avant de se faire remplacer par les antibiotiques. Dans un contexte de guerre où les anti-infectieux de masse furent une nécessité, les phages furent délaissés à cause de leur instabilité et leur manque de praticité. 70 ans après, d'innombrables bactéries multirésistantes viennent à bout des antibiotiques. Le temps est venu pour les phages de revenir sur le devant de la scène. La relation de coévolution entre phages et hôtes donne un bel avantage à ces premiers sur leurs homologues chimiques (Ravat et al., 2015).

## La famille *Bacillus cereus*

Les trois frères *B. anthracis* (*Ba*), *B. thuringiensis* (*Bt*) et *B. cereus sensu stricto* (*Bc*) n'ont pas le même caractère. *Ba* cause l'anthrax et *Bc* des intoxications alimentaires. *Bt*, lui, aide les agriculteurs et est utilisé en tant que biopesticides pour éliminer un grand nombre de larves indésirables. Mais la famille *cereus* est grande et tous ses membres ne sont pas connus. Les cousins *B. weihenstephanensis* et *B. wiedmannii* causent du gaspillage alimentaire. *B. pseudomycoïdes* et *B. mycoïdes* protègent les plantes contre les nuisibles tels que virus et champignons. *B. cytotoxicus* est toxique pour les cellules, tandis que *B. toyonensis* est utilisé en probiotique en production animal. Les petits derniers, simplement pour les citer, *B. manliponensis*, *B. bingmayongensis* et *B. gaemokensis* viennent d'être découverts et attendent d'être caractérisés.

## Les phages nous éclairent sur l'évolution des bactéries

Au-delà de leur pouvoir pathogène, les phages sont très utiles pour étudier les liens entre les membres d'une même famille bactérienne. En effet, lors des phénomènes de transduction, les phages peuvent insérer par erreur un fragment de leur génome dans celui de la bactérie. Cependant, concernant les phages de la famille *cereus*, les découvertes ne sont pas homogènes. Plus de 80 phages infectant *Ba*, *Bt* ou *Bc* ont été découverts et non plus d'une poignée pour les phages infectant les autres membres. Etant donné que le spectre d'hôte des phages n'est pas tout le temps restreint (diversité de bactérie que le phage peut infecter), étudier les proximités entre les membres du groupe *B. cereus* permettrait de déterminer si un phage est capable d'infecter un taxon proche de sa bactérie-hôte. Le spectre d'hôte d'un phage s'étudie par la technique de la plaque de lyse. Elle consiste à mettre en contact une suspension de phages purs sur un tapis de culture de différentes bactéries. Si le tapis bactérien s'éclaircit, cela veut dire que le phage est capable d'infecter et lyser la bactérie cultivée.

## Trois familles de phages infectant *Bacillus cereus sensu lato* (groupe *B. cereus*)

Les phages à *Bacillus cereus sensu lato* appartiennent essentiellement aux familles *Myoviridae*, *Siphoviridae* et *Tectiviridae* qui se distinguent par leur morphologie, leur génome et leur cycle de vie (tempéré ou lytique). Les phages de ces 3 familles ont une queue isométrique. Les Myovirus ont une

queue contractile constituée d'une gaine et d'un tube central. Les Siphovirus ont une longue queue non contractile et les Tectivirus n'ont pas de queue mais une vésicule lipoprotéique interne et des pointes apicales (figure 1) (Ackermann, 2003).

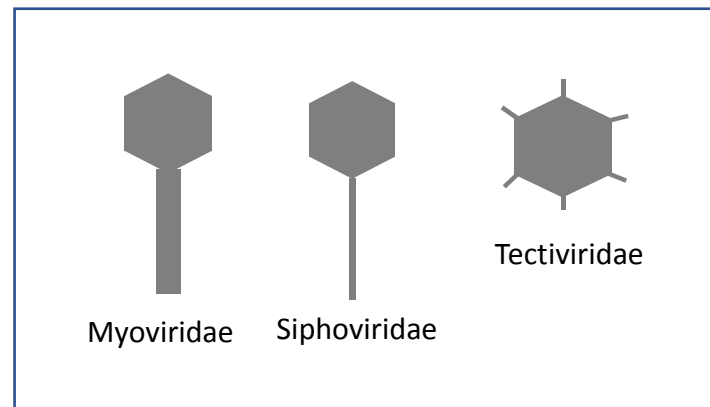


Figure 1: Morphologie des phages infectant *B. cereus sensu lato* (Gillis and Mahillon, 2014)

Les phages à *Bacillus cereus sensu lato* sont aussi catégorisés en 3 groupes (I, II et III) selon l'organisation de leur génome, similaire dans chaque groupe. Les phages du groupe I par exemple, (Myovirus), ont des clusters de gènes liés à une fonction : l'empaquetage, la lyse bactérienne ou encore des clusters de structure (figure 2) (Lee et al., 2014).



Figure 2: Organisation schématique du génome des phages du groupe I (Lee et al., 2014)

### Apprenti scientifique, quelques conseils pour cultiver les phages

La recherche des phages se fait suivant quatre principales étapes : l'isolation, la propagation, la purification et l'extraction de l'ADN. Le protocole diffère en fonction du type de phages. Si celui-ci est tempéré (état lysogénique et état lytique), cela veut dire que le phage (ou prophage) est ancré dans le génome de la bactérie. Un stimulus extérieur provoque l'induction (passage de l'état lysogénique à l'état lytique) du prophage qui va donc utiliser la machinerie traductionnelle et transcriptionnelle de la bactérie pour former des particules virales (et éclater la cellule hôte). En revanche, si le phage est virulent (état exclusivement lytique), il suffit de filtrer l'échantillon contenant bactéries et phages pour isoler ce dernier (pores de filtration allant de 0.2 à 0.45  $\mu\text{m}$ ). Etant donné que le filtrat contient plusieurs phages, il est nécessaire de sélectionner le phage d'intérêt par propagation et purification.

L'inoculation et l'incubation d'une souche de propagation (spécifique au phage d'intérêt) et le filtrat conduit à la formation de plages de lyse. L'une des plages isolées est ensuite piquée (par pipette Pasteur) et mise à nouveau en contact avec une souche de propagation. Ces répétitions permettent d'être certain que seul le phage d'intérêt est conservé. La solution est ensuite filtrée puis purifiée pour en extraire l'ADN phagique.

Pour cela, les ARN et ADN bactérien résiduels sont éliminés par traitement enzymatique (RNase et DNase spécifiques). Les phages sont ensuite détruits par traitements chimique et thermique (60°C). La protéinase K peut être ajoutée pour digérer les protéines phagiques. Les protéines sont ensuite concentrées par traitement chimique à l'aide d'un mélange de phénol, chloroforme et d'alcool. Le surnageant est ainsi constitué d'ADN phagique purifié (Geng et al., 2017).

**A propos de l'auteur :**

Guéhenec, Thomas. Etudiant en master 2 Biologie Gestion à l'Université de Rennes 1  
Email : [thomas.guehenec@outlook.fr](mailto:thomas.guehenec@outlook.fr)  
Tel. : 06 58 69 18 65

**A propos du tuteur :**

Gautier, Michel. Directeur Adjoint du Département Productions Animales Agro-alimentaire et Nutrition (P3AN) AGROCAMPUS OUEST  
Responsable du laboratoire de microbiologie d'AGROCAMPUS OUEST

**Bibliographie :**

- Ackermann, H.-W., 2003. Bacteriophage observations and evolution. *Res. Microbiol.* 154, 245–251.  
[https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(03\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(03)00067-6)
- Geng, P., Tian, S., Yuan, Z., Hu, X., 2017. Identification and genomic comparison of temperate bacteriophages derived from emetic *Bacillus cereus*. *PLOS ONE* 12, e0184572.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184572>
- Gillis, A., Mahillon, J., 2014. Phages Preying on *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*: Past, Present and Future. *Viruses* 6, 2623–2672.  
<https://doi.org/10.3390/v6072623>
- Lee, J.-H., Shin, H., Ryu, S., 2014. Characterization and comparative genomic analysis of bacteriophages infecting members of the *Bacillus cereus* group. *Arch. Virol.* 159, 871–884.  
<https://doi.org/10.1007/s00705-013-1920-3>
- Ravat, F., Jault, P., Gabard, J., 2015. Bactériophages et phagothérapie: utilisation de virus naturels pour traiter les infections bactériennes. *Ann. Burns Fire Disasters* 28, 13–20.