

Predacija bakterije *Bdellovibrio bacteriovorus* nad patogenim bakterijama čovjeka

Peček, Laura

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:070021>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Laura Peček

**Predacija bakterije *Bdellovibrio bacteriovorus*
nad patogenim bakterijama čovjeka**

Završni rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Laura Peček

***Bdellovibrio bacteriovorus* – bacterial
predation of human pathogenic bacteria**

Bachelor thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj završni rad izrađen je u sklopu Preddiplomskog sveučilišnog studija Biologija na Zavodu za mikrobiologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Martine Šeruge Musić.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Predacija bakterije *Bdellovibrio bacteriovorus* nad patogenim bakterijama čovjeka

Laura Peček

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Sažetak: Predacija među bakterijama i dalje je prilično slabo istražena u usporedbi s ekvivalentnim životinjskim međuodnosima. No, kako se zbog ubrzanog širenja antimikrobne rezistencije patogenih bakterija čovjeka teži pronalasku alternativnih načina liječenja, posljednjih su godina objavljeni brojni eksperimenti temeljeni na uporabi predatorskih bakterija u tom aspektu. Reprezentativna vrsta, *Bdellovibrio bacteriovorus* obligatni je monoflagelatni aerobni Gram-negativni predator, prirodno zastupljen u kopnenim i vodenim ekosustavima te ljudskoj crijevnoj mikrobioti. Napada druge Gram-negativne bakterije ulazeći u njihov periplazmatski prostor, gdje nastavlja svoj rast i razvoj u obliku bdelloplasta, a vrlo učinkovito djeluje i protiv bakterija u sastavu biofilmova. Preživljavajući na nutrijentima domadara, predator produžno raste i dijeli se simultano na nekoliko stanica kćeri, koje zatim izlaze iz probavljene stanice plijena i spremne su započeti ciklus predacije iznova. U širok raspon plijena ove vrste ulaze i brojni poznati uzročnici bolesti, primjerice *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* i *Acinetobacter baumannii*. Budući da višestruko rezistentni patogeni ne razvijaju otpornost prema napadima ovog predatora, razmatra se korištenje sojeva *B. bacteriovorus* kao „živih antibiotika“.

Ključne riječi: predatorske bakterije, *Bdellovibrio*, antimikrobna rezistencija, infekcija, patogen
(32 stranice, 5 slika, 1 tablica, 93 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv. prof. dr. sc. Martina Šeruga Musić

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Bdellovibrio bacteriovorus – bacterial predation of human pathogenic bacteria

Laura Peček

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Abstract: If compared with animal predatory behavior, bacterial predation is studied and understood quite poorly. As multidrug-resistant human bacterial pathogens are evolving and getting stronger rapidly, it is crucial to develop an alternative for classic antibiotic treatments. During the last couple of decades, predatory bacteria are thought to be one of the possible solutions. Among them, the most well-studied species, *Bdellovibrio bacteriovorus* is an obligate free-swimming Gram-negative aerobic predator preying upon wide range of other Gram-negative bacteria. It is ubiquitous in nature and can also be found within the human gut microbiota. Upon attacking its prey, the predator enters its periplasmic space and forms a protective structure called a bdelloplast. When the prey is exhausted of all of its nutrients, *B. bacteriovorus* undergoes a simultaneous non-binary division, which is extremely rare amongst bacteria. The multiple progeny are then released and able to encounter new host cells. Its ability to destroy biofilms and a broad prey range that includes many human pathogens make its use as a “living antibiotic” plausible.

Keywords: predatory bacteria, *Bdellovibrio*, antimicrobial resistance, infection, pathogen
(32 pages, 5 figures, 1 table, 93 references, original in: Croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Martina Šeruga Musić

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Bakterijske interakcije	2
2.1. Predatorstvo	4
3. Patogene bakterije čovjeka	6
3.1. Bakterijska rezistencija	7
3.2. ESKAPE patogeni	8
4. Porodica Bdellovibrionaceae	10
4.1. Rod <i>Bdellovibrio</i>	10
4.2. <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i>	11
4.2.1. Životni ciklus vrste <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i>	13
4.3. <i>Bdellovibrio</i> i slični organizmi (BALOs, engl. <i>Bdellovibrio and like organisms</i>)	16
5. „Živući antibiotici“	18
5.1. Prednosti i ograničenja	18
5.2. Dosadašnja otkrića	19
6. Zaključak	22
7. Literatura	23
8. Životopis	32

1. Uvod

Naglo i nekontrolirano širenje rezistencije bakterijskih patogena na tretman antibioticima uvelike otežava njihovo suzbijanje, zbog čega se teži što skorijem razvoju i usavršavanju alternativnih terapijskih pristupa (Negus i sur., 2017; Saralegui i sur., 2022).

Predatorske bakterije i njihova uporaba česta su tema znanstvenih rasprava tijekom posljednjih nekoliko godina. *Bdellovibrio bacteriovorus*, najpoznatija je i najbolje istražena među njima, a otkrivena je slučajno u drugoj polovici prošloga stoljeća (Stolp i Starr, 1963). Obligatno napada širok spektar ostalih Gram-negativnih bakterija, među kojima su brojni patogeni čovjeka, a čak i njihovi višestruko rezistentni sojevi (Sackett i Lambert, 2004). Dodatnu prednost predstavlja sposobnost invazije bakterija organiziranih u biofilme (Kowalska i Włodarczyk, 2017). Složeni životni ciklus *B. bacteriovorus* netipičan je za bakterijski svijet: predatori rastu u periplazmatskom prostoru plijena, sve dok se ne podijele nepravilno i na neodređen broj stanica kćeri (Laloux, 2020). Vrste roda *Bdellovibrio* i njima slični organizmi jedini su, uz bakteriofage, poznati prokariotski patogeni bakterija (Guerrero i sur., 1986).

Iz navedenih se razloga sve više razmatra uporaba ovih predatora u terapijske svrhe. No, prije korištenja sojeva *B. bacteriovorus* kao „živih antibiotika“ *in vivo*, nužno je detaljnije istražiti njihove interakcije s ostalim bakterijama s kojima bi mogli doći u kontakt, kao i moguće posljedice unosa živog predatora u ljudski organizam (Bukowska-Faniband i sur., 2020).

Uz antibiotsku, predlaže se i probiotička primjena ove vrste. Shodno tome, Dwidar i sur. (2012) nazivaju sve predatorske bakterije amfibiotskima, budući da uz suzbijanje teških bakterijskih infekcija imaju i sposobnost održavanja biokontrole bakterijskih populacija.

2. Bakterijske interakcije

Svi mikroorganizmi pa tako i bakterije, osim samostalnog preživljavanja stupaju u kompleksne ekološke međudnose. O istima ovise njihova abundancija i opstanak; kako u raznim okolišnim uvjetima tako i u, odnosno na domadaru (Faust i Raes, 2012). Uspostava interakcija rezultat je odgovora na biotičke ili abiotičke podražaje koji posljedično utječu na ekspresiju gena svakog organizma u zajednici (Weiland-Bräuer, 2021). Tijekom evolucijske prošlosti, postupno usavršavanje sličnih interakcija, a specifično bakterijskih, dovodi do ponajvećih prekretnica u razvoju života na Zemlji: nastanka prvih mitohondrija, plastida, eukariotskih stanica i višestaničja (Gray, 2017).

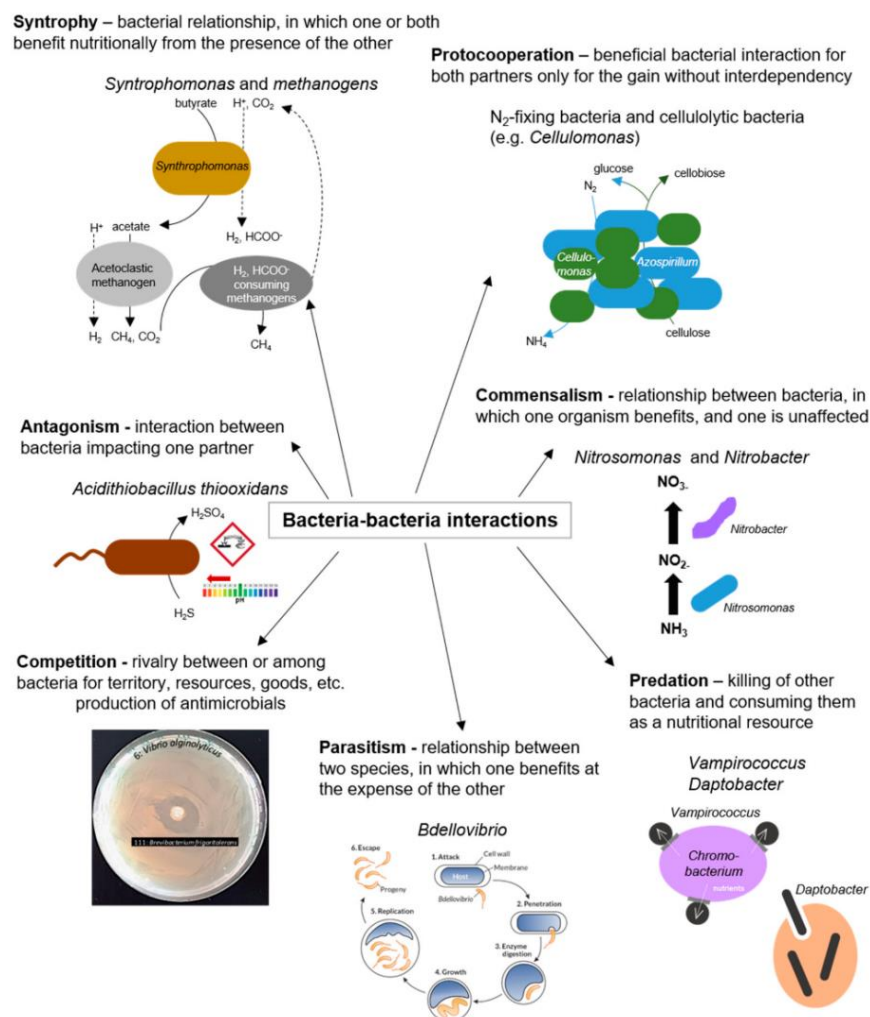
Postoji nekoliko podjela mikrobnih međudnosa, od neutralnih, štetnih i povoljnih, preko simbiotskih i nesimbiotskih pa sve do pozitivnih i negativnih (Pacheco i Segrè, 2019). Potonja, konvencionalna razdioba obuhvaća mutualizam, protokooperaciju i komenzalizam (koji uključuje i sintropizam) kao pozitivne te predatorstvo, parazitizam, kompeticiju i amenzalizam kao negativne oblike. (Willey i sur., 2008).

Protokooperacijom se naziva svaka interakcija koja pozitivno utječe na rast i razvoj oba uključena organizma, koji, za razliku od mutualizma, ne moraju biti međusobno ovisni. Na primjer dušik-fiksirajuće i celulolitičke bakterije u probavilu preživača (Prescott, 2002). Komenzalizam označava odnos od kojeg jedan organizam ima izravnu korist, dok na drugog nema utjecaja. Kao primjer mogu poslužiti rodovi *Nitrosomonas* i *Nitrobacter* koji sudjeluju u asimilaciji amonijaka; suživot nema utjecaja na rod *Nitrosomonas*, ali zato pogoduje bakterijama roda *Nitrobacter* jer se u međukoraku oslobađa njihov supstrat, nitritni ion (Willey i sur., 2008). Sintropizam je tip pozitivnog međudnosa u kojem rast jednog organizma ovisi o ili biva pospješen supstratom kojeg proizvodi drugi organizam; primjerice metanogene bakterije i rod *Syntrophomonas* koji sudjeluju u fermentaciji (Weiland-Bräuer, 2021).

S druge strane, parazitizam opisuje interakciju od koje jedna vrsta, parazit, dobiva korist u vidu primanja nutrijenata na račun druge vrste, odnosno domadara. Parazitske se bakterije nerijetko naziva patogenima budući da često uzrokuju bolesti; primjeri su *Bacillus anthracis*, *Borrelia* spp., a prema nekim navodima i rod *Bdellovibrio*. Predatorstvo predstavlja odnos u kojem jedan organizam, predator, napada i ubija drugog, svoj plijen. Nekoliko primjera su bakterijski rodovi *Bdellovibrio*, *Daptobacter* i *Vampirococcus*, koji imaju sposobnost predacije nad velikim brojem bakterijskih vrsta. Ponekad je vrlo teško razaznati predatorsku od parazitske prirode odnosa

(Willey i sur., 2013). Kompeticija prikazuje suparništvo među bakterijskim populacijama, većinom zbog nutrijenata ili prostora za rast. Najpoznatiji primjer kompeticije je kultura antibiotika, gdje se prati rast bakterijske populacije okružene onom koju inhibira (Prescott, 2002). Antagonizam (ponekad se koristi i naziv amenzalizam) je negativna interakcija bakterijskih populacija u sklopu koje jedna populacija proizvodi supstance koje pogoduju ili nemaju učinka na njen rast, ali inhibira rast druge. Primjer je bakterija *Acidithiobacillus thiooxidans* u proizvodnji biofilmova (Weiland-Bräuer, 2021). Navedeni međubakterijski odnosi, neovisno radi li se o stanicama istih ili različitih bakterijskih vrsta, zajedno s primjerima prikazani su na Slici 1.

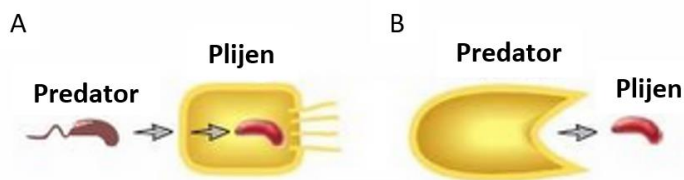
Također, ukoliko se želi naglasiti prostorni odnos organizama u suživotu, moguće je razlučiti ekto- i endosimbiozu; ovisno o tome nalazi li se jedan organizam na površini ili unutar drugog. U slučaju da s domadarom u suživot stupa više od jednog organizma, formira se konzorcij (Prescott, 2002).



Slika 1. Različite vrste bakterijskih međudnosa u prirodi. Preuzeto iz Weiland-Bräuer, 2021

2.1. Predatorstvo

Znanstvenici smatraju predatorstvo posebno zanimljivim oblikom interakcije još od davnina. Napad prvog organizma, odnosno predatora, dovodi do smrti njegovog plijena (Slika 2) (Kowalska i Włodarczyk, 2017). Predator ovisi o svom plijenu kao izvoru nutrijenata, zaštite, mogućnosti rasta, reprodukcije (Chase i sur., 2002). Predatorstvo se oduvijek asociiralo primarno sa životinjskim i manje biljnim svijetom; tek je u drugoj polovici prošlog stoljeća otkriven i opisan takav odnos među bakterijama, upravo u vrste *Bdellovibrio bacteriovorus* (Pérez i sur., 2016). Zahvaljujući tako kasnom otkriću, parazitske bakterije još uvijek nisu istražene u potpunosti i iznova impresioniraju svojim specifičnim načinom preživljavanja (Willey i sur., 2008).



Slika 2. Shematski prikaz tipičnog predatorskog ciklusa: započinje tako što predator prodire u stanicu plijena (A), a rezultira smrću plijena (B), nakon koje je predator slobodan napasti novu žrtvu. Preuzeto iz Willey i sur., 2013

Od njihovog otkrića pokušava se odrediti trebaju li se takve bakterije smatrati predatorskima ili pak parazitskima, budući da je razliku u nekim slučajevima teško, pa čak i nemoguće definirati (Guerrero i sur., 1986; Martin, 2002). Prema Pérez i sur. (2016), predatorske su one bakterije sposobne vršiti intenzivan i aktivan lov plijena koji rezultira njegovom smrću i prikupljanjem nutrijenata njegovom razgradnjom, dok se u parazitske svrstavaju one koje nakon suživota nužno ne ubijaju svog domadara. Autori nadalje specificiraju kako je predatorska svaka bakterija koja energiju i nutrijente u obliku organskih makromolekula stječe nakon što je usmrtila drugu živuću stanicu.

Za razliku od većih i kompleksnijih eukariotskih predatora, parazitske su bakterije u pravilu manje od svog ciljanog plijena. Upravo iz tog razloga podliježu alternativnim načinima uspostave predacije. Nemaju sposobnost apsorbirati plijen zbog problema veličine, ali su zato razvile prilagodbe za prodiranje i daljnji razvoj unutar domadara ili sposobnost sinteze izvanstaničnih enzima koji razgrađuju okolne stanice na čestice koje je moguće konzumirati (Jurkevitch, 2007).

Prema prostornom rasporedu, postoje prvo endobiotske, odnosno unutarstanične predatorske bakterije, koje penetriraju površinu stanice domadara te se tamo nastanjuju i nastavljaju tok rasta, razvoja i reprodukcije (Walker i sur., 2014). Dodatno razlikujemo citoplazmatske i periplazmatske predatore; ovisno jesu li u mogućnosti probiti i citoplazmatsku membranu te se nastaniti u citosolu ili pak probijaju samo staničnu stijenku i zaostaju u periplazmatskom prostoru (Vesteg i Krajčović, 2008). Nasuprot unutarstaničnima, epibiotske, odnosno izvanstanične parazitske bakterije parazitiraju pričvršćene na površinu stanice domadara i tako crpe nutrijente, bez da ikada prodru u svoj plijen (Brubaker, 1985).

S druge strane, bakterije unutar reda Myxococcales, od kojih je najpoznatiji predstavnik vrsta *Myxococcus xanthus*, svoj plijen napadaju grupno. Poput čopora vukova, brojni predatori napadaju u skupini. Okružuju ciljanu stanicu ili koloniju te, nakon uspostave kontakta, ispuštaju specijalizirane sekundarne metabolite i hidrolitičke enzime kojima razgrađuju okolne stanice plijena (Pérez i sur., 2016).

Osim intracelularne periplazmatske vrste *Bdellovibrio bacteriovorus* (Slika 3) (Martin, 2002), najpoznatije i najpodrobnije istražene predatorske bakterije pripadnici su rodova *Vampirococcus*, *Vampirovibrio*, *Micavibrio* i *Daptobacter*. Među navedenim rodovima potonji parazitira citoplazmatski, a ostali rodovi ekstracelularno (Esteve i Gaju, 1999).

U ovisnosti o domadaru predatorske se bakterije također mogu podijeliti na obligatne, značenja da nemaju mogućnost samostalnog preživljavanja bez domadara (prethodno navedeni rodovi) (Laloux, 2020; Mu i sur., 2020) te na fakultativne predatore, koji se u prisustvu odgovarajućih nutrijenata mogu uzgojiti i neovisno o plijenu, poput rodova *Lysobacter* i *Myxococcus* (Mu i sur., 2020).



Slika 3. Prikaz predatorske bakterije iz roda *Bdellovibrio* smještene u periplazmatskom prostoru napadnute Gram-negativne bakterije. Preuzeto iz Willey i sur., 2008

3. Patogene bakterije čovjeka

Bakterije koje uzrokuju bolesti u biljaka ili životinja nazivaju se patogenima. Razvile su specijalne strukture i biokemijska svojstva koja određuju njihovu virulenciju, definiranu simptomima infekcije (Balloux i van Dorp, 2017). Navedeno svojstvo uključuje sposobnost kolonizacije i napada ciljane stanice, mogućnost odupiranja antibakterijskim obrambenim strategijama domadara te sposobnost proizvodnje i otpuštanja raznih toksičnih supstanci štetnih za domadara (Brooks i sur., 2007).

Od svih opisanih bakterijskih vrsta, svega ih je nekoliko identificirano patogenima za čovjeka (Willey i sur., 2008). Nekolicina takvih rodova navedena je uz kratak opis u Tablici 1.

Izbijanja bakterijskih infekcija, bilo globalno ili regionalno, imaju značajan utjecaj na razvoj ljudske populacije kroz povijest. Odrasle su se na ishode ratova, rast i pad civilizacija, ekonomsku stabilnost; na ljudski život u cijelosti (Balloux i van Dorp, 2017). Najupečatljiviji takav slučaj je infekcija bakterijom *Yersinia pestis*, uzročnikom kuge; prema mnogim autorima najzloglasnije epidemijske humane bakterijske infekcije koja je, prvenstveno u 14. stoljeću, preplavila gotovo čitavu Euroaziju te dobila naziv „Crna smrt“ (Ravančić, 2006).

Tablica 1. Klasifikacija i karakteristike najznačajnijih patogenih bakterija čovjeka. Prilagođeno prema Prescott, 2002

Koljeno	Razred	Kratak opis	Značajni patogeni rodovi
Actinobacteria	Actinobacteria	Gram-pozitivne, morfološka plastičnost, visok udio gvanina i citozina (G+C)	<i>Actinomyces</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia</i>
Firmicutes	Bacilli	Gram-pozitivni koki ili štapići, nizak udio G+C	<i>Bacillus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Listeria</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i>
	Clostridia	Gram-pozitivni koki ili štapići, rijetke vrste Gram-negativne, nizak udio G+C	<i>Clostridium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Peptostreptococcus</i>
Tenericutes	Mollicutes	vanjska membrana izostaje, nizak udio G+C	<i>Mycoplasma</i> , <i>Ureaplasma</i>
Bacteroidetes	Bacteroidia	Gram-negativni anaerobni oportunistički patogeni	<i>Bacteroides</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Prevotella</i>
	Flavobacteria	Gram-negativni anaerobni oportunistički patogeni	<i>Elizabethkingia</i> , <i>Flavobacterium</i>
Chlamydiota	Chlamydiae	Gram-negativni obligatni unutarstanični patogeni	<i>Chlamydia</i> , <i>Chlamydomphila</i>
Fusobacteriota	Fusobacteria	Gram- negativni anaerobni filamenti	<i>Fusobacterium</i> , <i>Leptotrichia</i>
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Gram-negativni fototrofni simbionti	<i>Bartonella</i> , <i>Brucella</i>
	Betaproteobacteria	Gram-negativni obligatni ili fakultativni aerobi, kemolitotrofi ili fototrofi	<i>Bordetella</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Neisseria</i>
	Gammaproteobacteria	Gram-negativni obligatni ili fakultativni anaerobi, vrlo česti patogeni	<i>Aeromonas</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Yersinia</i>
	Epsilonproteobacteria	Gram-negativni zarezi i spirili, u sastavu crijevne mikrobiote	<i>Arcobacter</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Helicobacter</i>
Spirochaetes	Spirochaetia	Gram-negativni flagelatni spiralni anaerobni kemoheterotrofi	<i>Borrelia</i> , <i>Leptospira</i> , <i>Treponema</i>

3.1. Bakterijska rezistencija

U današnjem, suvremenom dobu, osim prethodno spomenutih bakterijskih patogena, sve veći izazov medicini predstavlja brzorastući fenomen bakterijske rezistencije (Acar, 1997). Otpornost na tretman antibioticima rezultat je populacijske selekcije mutanata, neovisno radi li se o slobodno pokretnim bakterijskim stanicama, pričvršćenima na površinu ili onima u sastavu biofilmova (Dashiff i sur., 2011).

Antimikrobna rezistencija dijeli se na prirođenu; koja se javlja kao posljedica urođenih mutacija genoma, proizvodnje raznih nefunkcionalnih enzima i slično ili, puno opasnije, onu stečenu naknadno. Stečena otpornost posljedica je genetičke promjene; mutacije bakterijskog genoma ili stjecanja seta novih gena horizontalnim prijenosom. No, može nastati i fiziološki, kao odgovor na stres i određene okolišne faktore ili kao posljedica života u biofilmu (Abram i sur., 2018). Drastičan porast udjela rezistentnih bakterija u posljednjih nekoliko desetljeća pripisuje se globalno nikad učestalijoj bespotrebnoj i suvišnoj primjeni antibiotika (Banin i sur., 2017).

Prema stupnju mnogostruke rezistencije na antibiotike međunarodno se razlikuje nekoliko skupina bakterija takvog tipa: višestruko rezistentne (MDR, engl. *multidrug-resistant*), koje karakterizira stečena otpornost prema barem jednom antibiotiku u tri ili više skupina takvih lijekova; prošireno rezistentne (XDR, engl. *extensively drug-resistant*), što podrazumijeva da ne reagiraju na terapiju barem jednim antibiotikom u svim, osim dvije ili manje njihovih klasa te finalno potpuno rezistentne (PDR, engl. *pandrug-resistant*), otporne na sve supstance prisutne u svim skupinama antibiotika (Basak i sur., 2016). Često se za sve višestruko rezistentne humane bakterijske patogene koristi kolokvijalan naziv „superbakterije“, a ponekad stoje i pod općenitim terminom višestruko rezistentni mikroorganizmi (MDRO, engl. *multidrug resistant organisms*) (Abram i sur., 2018).

3.2. ESKAPE patogeni

Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO, engl. *World health organisation*), nozokomijske infekcije, odnosno one povezane sa zdravstvenom skrbi, ubrajaju se u vodeće globalne zdravstvene prijetnje (Darvishi i sur., 2020). Daleko najčešći uzročnici su im upravo višestruko rezistentne bakterije, od kojih tijekom posljednjih nekoliko godina sve veći zamah uzima skupina takozvanih ESKAPE patogena (Rice, 2008; Boucher i sur., 2009).

Iza prikladno osmišljenog akronima ESKAPE kriju se: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* te rod *Enterobacter* (De Oliveira i sur., 2020). Navedene bakterije uzrokuju gotovo dvije trećine svih bakterijskih infekcija općenito, ne samo onih bolničkih (Pendleton i sur., 2013; Abram i sur., 2018). Zbog svoje otpornosti na učinke virtualno svih dostupnih antibiotika, kako im i ime govori, uspijevaju „pobjeći“ (engl. *to escape*) i oduprijeti se naporima moderne medicine (Navidinia, 2016; Marturano i Lowery, 2019).

Od ESKAPE patogena, samo su *Enterococcus faecium* i *Staphylococcus aureus* Gram-pozitivni. Sastavni su dio prirodne mikrobiote probavnog sustava, sluznica i kože čovjeka (Abram i sur., 2018). Poseban problem predstavljaju sojevi *E. faecium* otporni na antibiotik vankomicin (VRE sojevi, engl. *vancomycin-resistant E. faecium*) te široko raširen meticilin-rezistentni *S. aureus*, poznatiji kao MRSA (Köck i sur., 2010; Mulani i sur., 2019).

Dok ipak postoje malobrojni novootkriveni antibiotici koji djeluju protiv MRSA i VRE sojeva, to nije slučaj za Gram-negativan, potpuno rezistentan (engl. *pandrug-resistant*) ostatak skupine. Ističu se sojevi *A. baumannii* i *P. aeruginosa* otporni na djelovanje karbapenemskih antibiotika te sojevi *K. pneumoniae* i *Enterobacter* spp. koji su, uz neosjetljivost na karbapeneme razvili i sposobnost sinteze skupine enzima nazvanih β -laktamaze proširenog spektra (ESBL, engl. *extended-spectrum β -lactamases*), zaslužnih za rezistenciju na velik broj antibiotskih supstanci (Shaikh i sur., 2015; Mulani i sur., 2019; De Oliveira i sur., 2020). Posljedično tome, od iznimne je važnosti razviti i usavršiti oblike liječenja alternativne antibioticima.

U novije se vrijeme također sve više pažnje pridodaje razvoju metoda selektivne inaktivacije faktora virulencije, čime bi se potpuno uklonila štetnost ovih patogena, zatim pristupima s namjerom uklanjanja njihove antimikrobne rezistencije, strategijama ograničavanja formacije biofilmova, usavršavanju ciljne terapije bakteriofagima ili pak predatorskim bakterijama (Cheng i sur., 2014).

Naročito je obećavajuć potonji pristup, usmjeren upravo na bakterije roda *Bdellovibrio*: iako napadaju specifično Gram-negativan plijen, sposobne su nanijeti štetu čak i bakterijama u sastavu biofilma. Zavidna je to prednost nad drugim sličnim organizmima budući da bakterije organizirane na taj način pokazuju daleko izraženiju otpornost na antimikrobne tretmane od slobodno živućih populacija. Nadalje, inače u potpunosti neotporni bakterijski sojevi mogu spontano razviti otpornost nakon formiranja biofilma (Dincer i sur., 2020).

4. Porodica Bdellovibrionaceae

Smješten unutar koljena Proteobacteria i razreda Oligoflexia (do nedavno Deltaproteobacteria), red Bdellovibrionales obuhvaća jedino porodicu Bdellovibrionaceae, sastavljenu od 4 roda: *Bdellovibrio*, *Pseudobdellovibrio*, *Vampirovibrio* i *Micavibrio* (Garrity i sur., 2015).

Pripadnici ove porodice fakultativni su ili obligatni paraziti, ali morfološki i fiziološki jako plastični. Tako su rodovi *Vampirovibrio* i *Micavibrio* te vrste *Bdellovibrio exovorus* i analogno *Pseudobdellovibrio exovorus* primjeri epibiotskih predatora, dok se ostali pripadnici rodova *Bdellovibrio* i *Pseudobdellovibrio* nastanjuju u periplazmatskom prostoru stanice plijena (Garrity i sur., 2015; Pérez i sur., 2016).

4.1. Rod *Bdellovibrio*

Imena izvedenog iz grčke riječi *bdella*, što znači pijavica, rod *Bdellovibrio* objedinjuje obligatno aerobne, Gram-negativne, slobodno i iznimno dobro pokretne parazitske bakterije. Morfološki nalikuju zarecima, a na jednom im se polu nalazi neuobičajeno zadebljali bič, uvijek dulji od stanice. Zadebljan je zbog membranozne strukture koja ga obavija cijelom duljinom, nastavljajući se na vanjski sloj stanične stijenke (engl. *sheath*; *sheathed bacteria*) (Willey i sur., 2008).

Daleko najpoznatiji predstavnik roda periplazmatski je predator *Bdellovibrio bacteriovorus*, standardni primjer za proučavanje predatorskog ponašanja u bakterija. Slijede ga već spomenuti, iznimno epibiotski parazit *B. exovorus* koji ne formira bdeloplaste te *B. stolpii* i *B. starrii* koji su bili korišteni u ranijim fazama istraživanja bakterijske predacije (Torrella i sur., 1978).

Predstavnici roda *Bdellovibrio* nastanjuju kopnene i vodene ekosustave; rasprostranjeni su u tlu, slatkovodnim i morskim staništima, a budući da su pronađeni i u fecesu sisavaca, zaključeno je da su u sastavu njihove crijevne mikrobiote (Beck i sur., 2004; Sockett i Lambert, 2004).

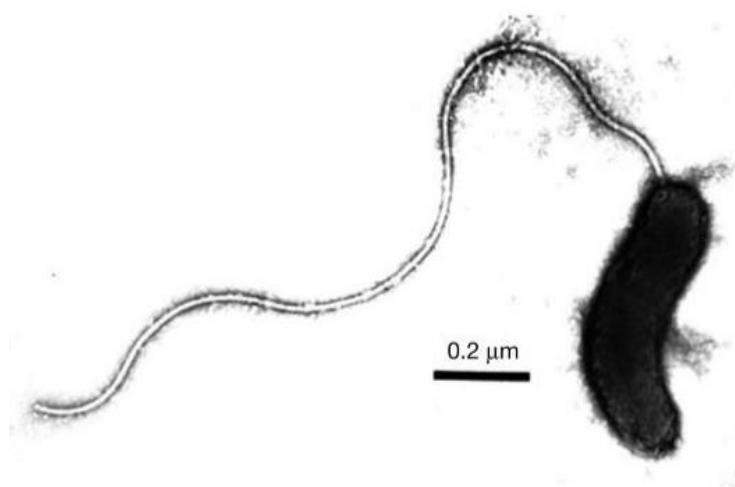
Nadalje, imaju sposobnost predacije nad širokim spektrom drugih heterotrofnih Gram-negativnih bakterija, uključujući i brojne poznate uzročnike bolesti, poput vrsta *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*... (Bukowska-Faniband i sur., 2020)

4.2. *Bdellovibrio bacteriovorus*

Istraživajući terapiju bakteriofagima, 1962. godine njemački znanstvenici Stolp i Petzold sasvim su slučajno u uzorku suspenzije tla primijetili neobičnu pojavu: na pojedinim su se nevjabilnim bakterijskim stanicama roda *Pseudomonas* nalazile sitne zakrivljene misteriozne bakterije, koje su, upijajući stanični sadržaj neodoljivo podsjećale na pijavice (Stolp i Petzold, 1962; Harini i sur., 2013). Stoga je već sljedeće godine opisana i prigodno imenovana novootkrivena vrsta: *Bdellovibrio bacteriovorus* (Stolp i Starr, 1963).

Kroz iduća dva desetljeća provode se brojna istraživanja ove vrste, no nakon tog perioda parazitske bakterije zbog nemogućnosti daljnjih, posebice genetskih istraživanja, praktički padaju u zaborav (Sackett i Lambert, 2004). Tek se naglim razvojem genomike devedesetih godina ponovno javljaju nova otkrića (Cotter i Thomashow, 1992), a najveću prekretnicu predstavlja sekvenciranje genoma soja *B. bacteriovorus* HD100 (Rendulic i sur., 2004).

Kao najpoznatija i najbolje istražena vrsta, *B. bacteriovorus* danas se smatra modelnim organizmom za praćenje jedinstvenog načina života predatorskih bakterija (Martin, 2002; Bukowska-Faniband i sur., 2020).



Slika 4. Reprezentativni primjerak vrste *Bdellovibrio bacteriovorus* u mjerilu; Gram-negativna, obligatno aerobna, monoflagelatna predatorska bakterija oblika zarez. Preuzeto iz Willey i sur., 2008

Budući da kao obligatni predator divlji tip nema sposobnost diobe izvan stanice domadara, postoje poteškoće u uspostavljanju i održavanju kulture *in vitro*. Izolati vrlo loše uspijevaju u uzgoju na standardnim agarским podlogama za uzgoj bakterija, dok im pogoduje uzgoj u tekućoj kulturi i na mekanom agaru (Sackett i Lambert, 2004).

No ipak su, kao posljedica spontanijh mutacija, primijećeni sojevi koji mogu preživjeti u uvjetima bez prisutnosti domadara (Laloux, 2020). Promjene u ekspresiji gena koje dovode do takve promjene u načinu života i dalje se istražuju. Predlaže se i postojanje određenih signala koji uzrokuju prethodno spomenute mutacije, ali i njihovu reverzibilnost (Seidler i Starr, 1969; Bratanis i sur., 2020).

Tijekom godina otkriveni su i opisani brojni sojevi *B. bacteriovorus*, no u istraživanjima se najviše koriste sojevi HD100 i 109J (Dashiff i sur., 2011; Iebba i sur., 2014). U ranijim se eksperimentima favorizirao soj 109J, no jedino je genom soja HD100 sekvencioniran; Rendulic i sur. (2004), nakon gotovo pola stoljeća od otkrića ove vrste, napokon pružaju uvid u iznenađujuće velik genom za jednog malenog unutarstaničnog parazita. Unatoč veličini, nema dokaza o lateralnom prijenosu gena između predatorske stanice i plijena kojeg konzumira (Hobley i sur., 2012).

Bakterije soja 109J specifične su po tome što, za razliku od soja HD100 nisu oblika zareza, već štapića (Sackett i Lambert, 2004). S druge strane, soj *B. bacteriovorus* Tiberius, pronađen u rijeci Tiber, jedinstven je po tome što u kulturi simultano raste kao aktivan predator hraneći se živim dostupnim plijenom i neovisno o domadaru, preživljavajući na dodatnim nutrijentima u hranjivoj podlozi (Hobley i sur., 2012). Veoma je zanimljiv i soj *B. bacteriovorus* W, koji ima sposobnost preživljavanja nepovoljnih uvjeta pretvorbom stanica plijena u kojima parazitira u takozvane bdelociste; izolirane strukture nalik klasičnim bakterijskim cistama, s ciljem pružanja zaštite prilikom dugotrajnih anaerobnih uvjeta, visokih temperatura i tlaka, isušivanja i slično (Tudor i Conti, 1977). Od mutiranih sojeva neovisnih o domadaru u istraživanjima se ističe soj HI100 (Beck i sur., 2004).

Također je zanimljivo što sojevi *B. bacteriovorus* nikada neće napadati jedni druge, čak ni u uvjetima kada se jedan soj uzgaja aksenično kao plijen i u takvu kulturu uvede izolat drugog soja (Hobley i sur., 2012).

B. bacteriovorus, može se, budući da je mezofilni aerobni kemoheterotrof, pronaći praktički bilo gdje uz dovod kisika i prisutnost Gram-negativnog potencijalnog plijena. Shodno tome, ova je vrsta izolirana iz tla, rizosfernog područja kritosjemenjača, mora, oceana, rijeka i njihovih obala i sedimenta, otpadnih voda, probavnog trakta i fecesa ptica i sisavaca, a zabilježena je i u škragama rakova i ljušturama školjaka (Shemesh i sur., 2003). Nasuprot tome, prema Fry i Staples (1976), *B. bacteriovorus* ne nastanjuje svježe i nezagađene izvorske vode. Autori su također zamijetili

proporcionalnost abundancije populacija ove predatorske bakterije i razine onečišćenja uzorkovanih vodenih staništa.

Sukladno definiciji aerobnog načina života, rast, razvoj i reprodukcija *B. bacteriovorus* moguća je isključivo u prisustvu kisika, ali promjena okolišnih uvjeta u anaerobne ipak ne mora nužno biti kobna. Naime, tijekom kratkotrajne faze napada na stanicu plijena ili tijekom zaštitnog stadija, bdelociste, predatori imaju mogućnost tolerancije anaerobnog mikrookoliša (Tudor i Conti, 1977)

Pokazano je isto tako da *B. bacteriovorus* vrlo učinkovito djeluje prilikom invazije plijena organiziranog u biofilm, postupno reducirajući njegovu masu svojom predatorskom aktivnošću. Nadalje, Kowalska i Włodarczyk (2017) dokazuju djelotvornost ovog predatora i na vrsno homogenim i heterogenim biofilmovima. Prema Kadouri i O'Toole (2005), sve su to karakteristike koje predstavljaju velik potencijal u sklopu recentnih istraživanja vezanih za suzbijanje infekcija uzrokovanih višestruko rezistentnim patogenima.

4.2.1. Životni ciklus vrste *Bdellovibrio bacteriovorus*

Iako relativno kratak, trajanja svega 3 do 4 sata, životni ciklus *B. bacteriovorus* nije nimalo jednostavan. Načini na koji ovaj predator odabire stanicu koju će napasti i dalje nisu poznati (Rotem i sur., 2015). Pokreće se pomoću biča, a prema područjima bogatima plijenom orijentira se kemotaksijom (Sockett i Lambert, 2004).

Prema Rotem i sur. (2015), predatorski životni ciklus dijeli se u tri faze: fazu napada, prijelaznu i fazu rasta (Slika 4). Započinje fazom napada (AP, engl. *attack phase*), tijekom koje stanice naglo prilaze Gram-negativnom plijenu, u ovom primjeru *E. coli*. Kreću se iznimno brzo; čak 100 duljina tijela po sekundi, sve do snažnog sudara s ciljanom stanicom (Willey i sur., 2008).

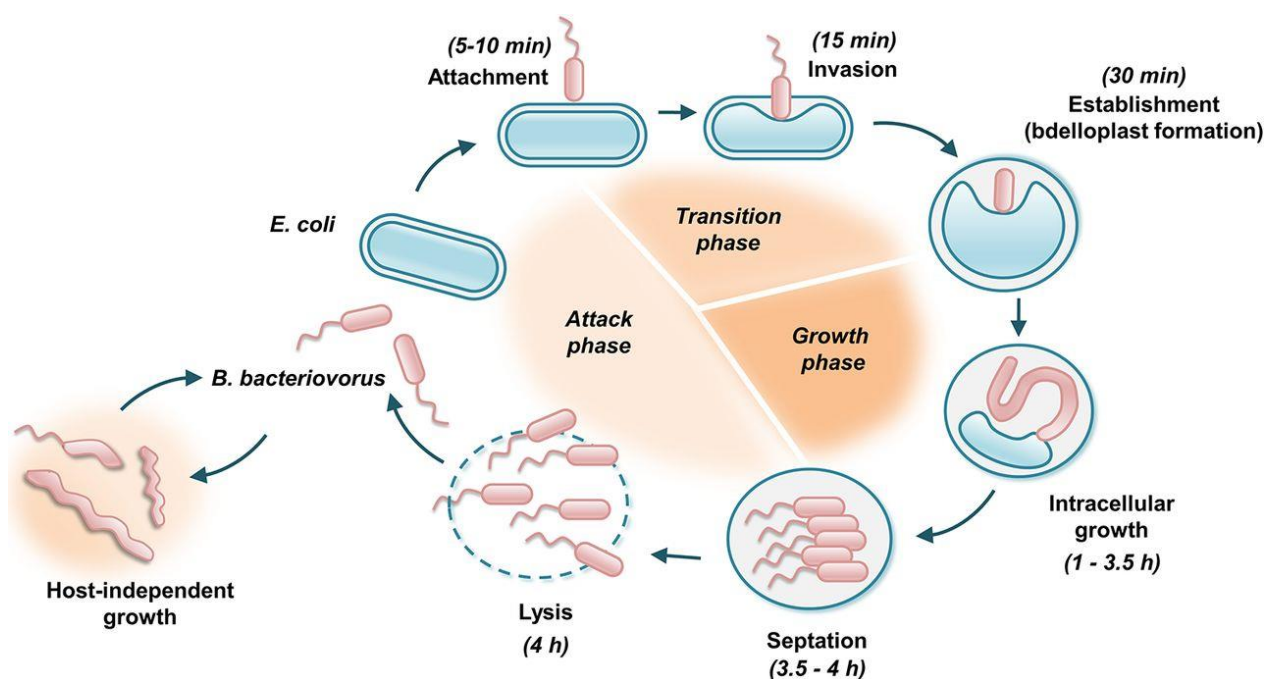
Uspješnost prihvaćanja za plijen ovisi o više faktora, poput temperature i pH medija (Varon i Shilo, 1968). U početku je vezanje reverzibilno, što omogućava odvajanje od neodgovarajućih stanica krivo prepoznatih kao plijen (Shemesh i sur., 2003), no nakon samo nekoliko minuta ta povezanost postaje ireverzibilna (Rotem i sur., 2014).

Uspostavom kontakta nastupa druga, prijelazna faza (TP, engl. *transition phase*). Predator se prihvaća za površinu napadnute bakterije pilima tipa IVa (Laloux, 2020) i počinje bušiti staničnu stijenku domadara, rotirajući se uz pomoć biča brzinom do 100 okretaja u sekundi. Dodatno

otpuštanje litičkih enzima pomaže pri omekšavanju površinskog sloja stijenke plijena. Opisana kombinacija mehaničke i hidrolitičke penetracije u prosjeku traje 15 minuta.

Prodiranjem kroz peptidoglikanski sloj i ulaskom u periplazmatski prostor, *B. bacteriovorus* izgubi bič i preuzima kontrolu nad domadarom, a rupa u staničnoj stijenci se ponovno popunjava (Bratanis i sur., 2020). U tom trenutku, otprilike 30 minuta od početka napada, kreće treća, faza unutarstaničnog rasta (GP, engl. *growth phase*). Potreban je vrlo kratak period vremena za degradaciju organela i potpunu inaktivaciju sinteze DNA, RNA i proteina unutar stanice plijena. Membranski sustav domadara se narušava, posljedično čemu izgubi oblik i nabubri. Formira se osmotski stabilan kompleks dvaju stanica zvan bdeloplast, zaštićen od onečišćenja, fotooksidacije i primjerice napada bakteriofaga (Shemesh i sur., 2003).

U sklopu bdeloplasta *B. bacteriovorus* produžno raste u dug filament koji se zatim nepravilno razdijeli u paran ili neparan broj manjih, bičastih potomaka (engl. *septation*). Domadar služi kao izvor nutrijenata: ugljika, dušika, aminokiselina, nukleotida, masnih kiselina i energije, koji omogućuju takav nagli rast (Willey i sur., 2008). Kroz pore na razgrađenoj staničnoj stijenci domadara otpuštaju se pokretne predatorske bakterije spremne započeti ciklus iznova. Unutar bdeloplasta, od nastanka segmentacijom do izlaska iz plijena, novonastale predatorske stanice u pravilu udvostruče svoju veličinu, a produžni se rast nastavlja i nakon oslobađanja (Fenton i sur., 2010).



Slika 5. Shematski prikaz životnog ciklusa vrste *Bdellovibrio bacteriovorus* na primjeru invazije vrste *Escherichia coli*. Prikazana su oba načina rasta u ovisnosti o domadaru. Aktivni predatorski ciklus ovisan o domadaru podijeljen je u faze i korake uz prosječna trajanja. Nakon prihvaćanja za plijen i prodiranja u periplazmatski prostor, *B. bacteriovorus* enzimatski narušava strukturu stanične stijenke domadara i formira se bdelloplast. Predator crpi nutrijente iz citoplazme plijena i produžno raste. Nakon iscrpljenja zalihe hranjivih tvari, izdužena se predatorska stanica segmentira u paran ili neparan broj flagelatnih potomaka, koji zatim izlaze iz probavljene stanice domadara spremni za ponovnu uspostavu predatorskog odnosa. Ponekad se spontano pojavljuju i mutantni sojevi neovisni o domadaru, koji u svom inaktivnom stanju ne gube sposobnost predacije. Preuzeto iz Bukowska-Faniband i sur., 2020

Navedeni je način višestruke diobe vrlo rijedak među prokariotima. Izduljena forma *B. bacteriovorus* dijeli se simultano i na nasumičan broj potomaka. Nadalje, broj stanica kćeri koje će nastati nema utjecaja na vrijeme potrebno za provođenje segmentacije; ovisi jedino o količini dostupnih nutrijenata. Težnja za optimalnim iskorištenjem nutrijenata iz domadara ponekad rezultira nastankom neparnog broja potomaka (Fenton i sur., 2010; Laloux, 2020).

Razgradnjom plijena slične veličine, jedna će stanica *B. bacteriovorus* proizvesti u prosjeku 4 do 6 potomaka (Fenton i sur., 2010), dok ih kod napada na veće bakterije može nastati čak i do 80 (Kessel i Shilo, 1976).

Ukoliko istu bakteriju u isto vrijeme napadne dvije ili više odvojenih stanica *B. bacteriovorus*, razvijat će se paralelno u periplazmatskom prostoru plijena. Dioba će nastupiti sinkronizirano, no svaki će se izduženi filament zasebno nasumično razdijeliti na različit broj

potomaka, koji će svi zajedno zatim izaći iz mrtve stanice domadara i krenuti u potragu za novim potencijalnim plijenom (Fenton i sur., 2010).

Mogućnost preživljavanja *B. bacteriovorus* bez prisutnosti plijena predstavlja veliku prednost nad ostalim sličnim organizmima. Iako se i dalje smatra obligatnim predatorom, to jest ovisnim o domadaru (HD, engl. *host-dependent*), postoje iznimke. Uslijed spontanih mutacija u populaciji ili posebnih uvjeta rasta u kulturi, pojavljuju se o domadaru neovisni (HI, engl. *host-independent*) primjerci ove vrste (Bratanis i sur., 2020). Malobrojni HI mutanti tvore žute kolonije i mogu se izolirati iz kulture divljeg (HD) tipa višestrukim presađivanjem temeljenim na selekciji streptomycinom (Seidler i Starr, 1969). Uzgajaju se ili saprofitski, uz dodatak ekstrakta plijena ili aksenično na dodatno obogaćenim hranjivim podlogama (Bratanis i sur., 2020). Tijekom HI faze predatorske su stanice amorfne i heterogene morfologije, sporo rastu i ne dijele se. U pravilu zadržavaju svoj predatorski potencijal i u odgovarajućim uvjetima mogu ponovno započeti životni ciklus ovisan o domadaru (Seidler i Starr, 1969; Laloux, 2020).

4.3. *Bdellovibrio* i slični organizmi (BALOs, engl. *Bdellovibrio and like organisms*)

Neposredno nakon otkrića, bakterijske se predatore mahom svrstavalo u rod *Bdellovibrio*. Čak je i danas većina poznatih obligatno predatorskih bakterija organizirana u polifiletsku skupinu, nazvanu *Bdellovibrio* i slični organizmi (BALOs, engl. *Bdellovibrio and like organisms*). Zajedničke karakteristike su im dobra pokretljivost i životni ciklus sastavljen od dva dijela: potrage za Gram-negativnim plijenom te rasta i reprodukcije (Rotem i sur., 2014).

Navedena skupina obuhvaća dvije podskupine: bakterije roda *Micavibrio* iz razreda Alphaproteobacteria, za koje se koriste i kratice α -BALOs i aBALOs te s druge strane analogno δ -BALOs, odnosno dBALOs u koju spadaju porodice Bdellovibrionaceae, Bacteriovoraceae, Halobacteriovoraceae i Peredibacteraceae iz razreda Oligoflexia (do nedavno Deltaproteobacteria) (Pérez i sur., 2016; Ezzedine i sur., 2020). Tijekom posljednjih dvadesetak godina njihov je taksonomski poredak nekoliko puta revidiran (Davidov i Jurkevitch, 2004; Koval i sur., 2015).

Široko su rasprostranjeni i imaju vrlo važnu ulogu u održavanju ekološke ravnoteže. Iako ih je većina eurivalentno, ne nastanjuju svi ista područja. Primjer tome je halofilni rod *Halobacteriovorax*, kojeg se ne može naći u slatkovodnim staništima (Ezzedine i sur., 2020).

Reprezentativnom vrstom morskih bakterijskih predatora smatra se *Halobacteriovorax marinus* (Sockett i Lambert, 2004).

Osim samog položaja kojeg zauzimaju tijekom invazije domadara, usporedbom epibiotskih predatora poput *Bdellovibrio exovorus* i *Micavibrio aeruginosavorus*, s periplazmatskima (primjerice *B. bacteriovorus* i *H. marinus*) ističu se razlika u veličini genoma, koji je kod epibiotskih za otprilike 1 Mpb manji, te način diobe (Pasternak i sur., 2014). Naime, epibiotski se predatori umnažaju binarnom diobom, dok kod periplazmatskih dolazi do segmentacije filamentne stanice uslijed naglog rasta, kao što je već ranije objašnjeno na primjeru *B. bacteriovorus* (Slika 4) (Rotem i sur., 2014; Pérez i sur., 2016).

Što se tiče ovisnosti o domadaru, jedinu iznimku od ostalih obligatnih predstavlja novootkriveni halofilni i fakultativno predatorski red Bradymonadales (Mu i sur., 2020).

Novija istraživanja pokazuju kako BALOs mogu biti korisni ne samo u borbi protiv ljudskih, biljnih ili životinjskih patogena kao alternativa antibioticima, već i u okvirima poljoprivrede i biotehnologije (Kowalska i Włodarczyk, 2017; Bratanis i sur., 2020). Objavljene su primjene u borbi protiv bakterija uzročnika zubnog plaka (Van Essche i sur., 2009), razmatraju se kao alternativa konzervansima pri produljenju trajanja prehrambenih proizvoda (Saxon i sur., 2014), a prema Li i sur. (2018) uloga im se pronalazi i u proizvodnji biodizela, gdje pomažu u kontroli kontaminacije drugim bakterijama. Qi i sur. (2009) koriste ih radi poboljšanja kvalitete vode u akvakulturi i pročišćavanja otpadnih voda, a razvija se i mogućnost primjene u živim životinjskim modelima (Rotem i sur., 2014; Negus i sur., 2017).

Za razliku od, primjerice, epibiotskih bakterijskih predatora, znatno više potencijala za navedeno pokazuje vrsta *B. bacteriovorus*. Razlog tome je znatno uži raspon plijena te nemogućnost rasta u njegovom odsustvu; epibiotski predatori nemaju HI stadij životnog ciklusa (Bratanis i sur., 2020). Sličan problem javlja se i u istraživanjima bakterija roda *Micavibrio*, koje vrlo teško preživljavaju u akseničnim kulturama (Wang i sur., 2011).

5. „Živući antibiotici“

S naglim povećanjem učestalosti antimikrobne rezistencije teži se otkrivanju i razvijanju alternativnih, ali prije svega i učinkovitih tretmana. Kao jedno od mogućih rješenja predlaže se razvoj ciljane terapije takozvanim „živućim antibioticima“. U usporedbi s terapijom bakteriofagima, favoriziraju se predatorske bakterije zbog njihove nespecifične predacije, odnosno širokog raspona plijena (Dwidar i sur., 2012).

Upotreba živih bakterija u liječenju i dalje se smatra prilično kontroverznim pristupom, budući da učinkovitost i sigurnost takve terapije nije u potpunosti razjašnjena. Upravo se iz tog razloga sve više istraživanja, osim na raznim izolatima, provodi *in vivo* na životinjskim modelima poput štakora, miševa, kokoši, kunića i zamoraca te u konačnici *in vitro* na ljudskim stanicama (Bratanis i sur., 2020). Kao što je i očekivano, *B. bacteriovorus* prednjači u količini provedenih eksperimenata i potencijalnih primjena u odnosu na ostale bakterijske predatore (Sckett i Lambert, 2004).

5.1. Prednosti i ograničenja

Osnova uspjeha ovog pristupa leži u sposobnosti *B. bacteriovorus* da napada višestruko rezistentne ljudske patogene, ali i činjenici da *B. bacteriovorus* (također i *M. aeruginosavorus*) nema sposobnost invazije stanica sisavaca (Bratanis i sur., 2020). Nadalje, za razliku od terapije antibioticima, velika je prednost što napadnute bakterije nemaju sposobnost razviti nasljednu otpornost na napad *B. bacteriovorus* (Van Essche i sur., 2011). Složeni mehanizmi pomoću kojih se otporni patogeni štite od konvencionalnih, kemijskih antibiotika ne djeluju prilikom susreta sa „živućim antibioticima“ (Mitchell i sur., 2020). Također, predatorske bakterije ne uzrokuju snažne obrambene imunološke reakcije niti ne utječu na povoljne komenzalno prisutne bakterije u sastavu ljudske mikrobiote (Harini i sur., 2013)

Već u ranim istraživanjima, Lenz i Hespell (1978) u neuspješnom pokušaju uzgoja *B. bacteriovorus* u eukariotskim stanicama potvrđuju ograničenost raspona plijena na Gram-negativne bakterije, čime se opovrgava njena štetnost ljudskom organizmu. Prema Bratanis i sur. (2020), u eksperimentima nisu zabilježeni nikakvi citotoksični ili patološki učinci navedenih bakterijskih predatora i prihvaćeno je kako isti nisu patogeni prema stanicama sisavaca.

S druge strane, unatoč brojčanoj nadmoći nad plijenom, ovi ga predatori nikada neće istrijebiti; mogu samo naglo smanjiti obujam populacije (Alexander, 1981). U okviru liječenja to bi značilo

da samostalna terapija predatorskim bakterijama neće rezultirati ozdravljenjem niti potpunim uništenjem uzročnika bolesti. Realnije bi bilo očekivati ublažavanje simptoma i usporavanje daljnjeg razvoja bolesti (Bratanis i sur., 2020).

Isto tako treba napomenuti da, iako *B. bacteriovorus* probija bakterijsku kapsulu, ne može probiti glikoproteinski S-sloj i, ukoliko ga imaju na površini, u pravilu neće biti učinkovit u borbi protiv takvih Gram-negativnih patogena (Harini i sur., 2013). Prema Koval i Hynes (1991), u tom je slučaju prihvaćanje *B. bacteriovorus* moguće jedino na mjestima gdje S-sloj nije potpun.

Također, dokazano je i da se aktivnost predatora znatno smanjuje pri niskom pH i u visokim koncentracijama glukoze i glicerola (Dwidar i sur., 2012), što svakako treba uzeti u obzir pri prilagodbi na uporabu *in vivo*. Primjerice, Fratamico i Whiting (1995) primjećuju djelotvornost *B. bacteriovorus* protiv *E. coli* isključivo pri pH u rasponu od 5.6 do 8.6.

5.2. Dosadašnja otkrića

Eksperimentalna terapija predatorom *B. bacteriovorus* pokazala se uspješnom u borbi protiv iznenađujuće širokog spektra patogenih bakterija čovjeka.

Zahvaljujući neočekivanoj sposobnosti preživljavanja ove, u načelu obligatno aerobne vrste u anoksičnim i mikroaerobnim uvjetima, javlja se mogućnost njene antimikrobne uporabe u probavnom sustavu sisavaca (Bratanis i sur., 2020). Schoffield i sur. (1995) dokazuju da neki sojevi *B. bacteriovorus* mogu preživjeti u anoksičnim uvjetima čak devet dana, dok ostali funkcioniraju nepromijenjeno pod mikroaerobnim uvjetima.

Prisutnost *B. bacteriovorus* u probavnom traktu čovjeka i ostalih sisavaca (Schwudke i sur., 2001) te predacija nad patogenima bez štetnih posljedica na organizam i ostale bakterije u sastavu crijevne mikrobiote glavne su prednosti pri njenoj uporabi u probiotičkom smislu (Sckett i Lambert, 2004). No, Saralegui i sur. (2022) upozoravaju da u kliničkim ispitivanjima s tim ciljem treba težiti korištenju sojeva *B. bacteriovorus* koji su u opisanom mikrookolišu prirodno prisutni i stoga prilagođeni suživotu s ostalim komenzalnim bakterijama (*ex vivo* izolata iz probavnog trakta čovjeka). Ponekad se upotrebljavaju sojevi izolirani iz tla, vodenih ekosustava i slično, koji možda ne daju rezultate koji bi odgovarali istima pri korištenju sojeva izoliranih iz ljudi.

Prema Markelova (2010), *B. bacteriovorus* uspješno suzbija biofilmove poznatih gastrointestinalnih patogena: *Helicobacter pylori* (Gram-negativna spiralna bakterija, najčešći uzročnik gastritisa) i *Campylobacter jejuni* (Gram-negativan bacil, jedan od vodećih uzročnika

trovanja hranom). Zabilježeno je kako soj *B. bacteriovorus* 109J napada *H. pylori*, ali ne i *C. jejuni*. U suzbijanju infekcije potonjim patogenom uspješnim se pokazao jedino rijetko korišteni soj 100NCJB.

S druge strane, obećavajuća je i potencijalna primjena ovog predatora kao direktnog antibiotika, kojeg bi se moglo nanositi topikalno na opekline i posjekotine. Razlog tome je što napada specifične pripadnike roda *Pseudomonas* koji mogu uzrokovati infekcije na opečenoj koži i otvorenim ranama (Sckett i Lambert, 2004; Dwidar i sur., 2012).

Iebba i sur. (2014) osvrnuli su se na cističnu fibrozu, letalnu genetičku bolest uzrokovanu mutacijama. Pacijenti koji boluju od cistične fibroze pate od kroničnih infekcija dišnog sustava, najčešće uzrokovanih formacijom biofilмова vrsta *Staphylococcus aureus* ili *Pseudomonas aeruginosa* na plućima. Spomenuti autori istraživali su interakciju *B. bacteriovorus* i navedenih patogena u samostalnim kulturama te statičkim i protočnim biofilmovima. Po prvi su puta zabilježili predaciju nad Gram-pozitivnim plijenom na primjeru vrste *S. aureus* i to epibiotski. Ovaj novootkriveni aspekt predacije vrste *B. bacteriovorus* vodi daljnjem razvoju njene antimikrobne uporabe. No, tretman je ipak bio nešto uspješniji nad Gram-negativnim patogenom *P. aeruginosa*.

Nadalje, Shanks i sur. (2013) istražuju potencijalnu primjenu *B. bacteriovorus* u liječenju očnih infekcija. Izolate *P. aeruginosa* i *Serratia marcescens* iz zečeva oboljelih od keratokonjuktivitisa (istovremene upale spojnice i rožnice oka) izložili su napadu predatorskih bakterija s uspješnosti od 100 % za soj HD100 i 70% za soj 109J.

Isto tako, predacija *B. bacteriovorus* uspješna je protiv uropatogeničnih sojeva *E. coli* i bakterija iz roda *Proteus* (uzročnicima infekcija urinarnog trakta), kao i pri tretmanu gastrointestinalnih infekcija uzrokovanih enterohemoragičnim sojevima *E. coli* (Sckett i Lambert, 2004; Harini i sur., 2013).

Također, Shatzkes i sur. (2016) objavljuju da nakon intranazalne inokulacije, *B. bacteriovorus* uz *M. aeruginosavorus* u plućima štakora uspješno suzbija poznatu patogenu vrstu *K. pneumoniae*, bez ikakvog direktnog utjecaja na stanje dišnog sustava modela. Serija eksperimenata proširena je s ciljem uvida u efikasnost tretmana prilikom intravenoznog unosa. Valja naglasiti i da se ovaj eksperiment smatra prvim tretmanom humanog patogena predatorskim bakterijama u *in vivo* modelu sisavaca.

Duncan i sur. (2018) opisuju uspješno djelovanje *B. bacteriovorus* protiv iznimno dobro pokretnog i široko rasprostranjenog patogena, *Vibrio cholerae*. Ali, dokazano je kako naglo i kontinuirano pokretanje plijena ipak usporava predaciju.

Brazilske znanstvenice Silva i sur. (2019) dokazuju pozitivan učinak soja *B. bacteriovorus* HD100 na suzbijanje Gram-negativnih oralnih patogena, uzročnika parodontitisa (kronične upale desni koja nastaje zbog prekomjernog nakupljanja bakterija, najčešće vrste *Porphyromonas gingivalis* i dovodi do oštećenja desni i zubi) na modelima štakora. Dashiff i Kadouri (2011) prethodno su izveli sličan eksperiment *in vitro*, koristeći soj 109J i također primijetili redukciju biofilмова oralnih patogena nakon uvođenja predatorske bakterije u kulturu. No, kao što je i ranije spomenuto, tretman ovim predatorom neće samostalno riješiti problem infekcije periodontopatogenima, već se očekuje korištenje navedenih sojeva uz standardne metode periodontalne terapije (Harini i sur., 2013).

Osim striktno medicinske uporabe, razvija se i primjena predatorskih bakterija u uspostavi biokontrole (Bratanis i sur., 2020). Primjerice, na farmama peradi ptice u uzgoju česti su nositelji infekcija uzrokovanih bakterijama roda *Salmonella*. Atterbury i sur. (2011) objavljuju kako je terapija predatorom *B. bacteriovorus* unesenim oralnim putem dovela do uspješnog suzbijanja infekcije kod mladih pilića, bez ikakvog utjecaja na njihovo zdravlje i razvoj. Slično tome, uporaba *B. bacteriovorus* pokazala se korisnom u slatkovodnoj akvakulturi, gdje je u nekoliko eksperimenata ispitivana mogućnost kontrole populacija račjih patogena *Vibrio cholerae* i *V. parahaemolyticus* (Cao i sur., 2015; Kongrueng i sur., 2017). Potaknuti uspješnim rezultatima ovih istraživanja, nekoliko godina kasnije, Cao i sur. (2019) razvijaju praškastu i čak nekoliko mjeseci stabilnu kulturu ovog predatora, namijenjenu prirodnoj dezinfekciji nastamba za uzgoj rakova.

6. Zaključak

Iako su predatorske bakterije široko rasprostranjene i nastanjuju razna staništa, više od pola stoljeća nakon otkrića i dalje predstavljaju enigm u znanstvenim krugovima. S druge strane, u prirodi imaju vrlo važnu ulogu u vidu održavanja ekološke ravnoteže. Istraživanja tijekom posljednjih dvadesetak godina naglasak stavljaju na njihovu potencijalnu uporabu u medicini kao alternativu liječenju antibioticima; posebno kod infekcija izazvanih višestruko rezistentnim ESKAPE patogenima. Sve učestaliji slučajevi razvoja antimikrobne rezistencije uvelike otežavaju liječenje brojnih bakterijskih infekcija, a posebno onih bolničkih.

Brojna istraživanja provedena su s ciljem uporabe predatorskih bakterija kao „živih antibiotika“. Još uvijek nedostaju brojna saznanja o njihovim interakcijama, ekologiji, složenim molekularnim i biokemijskim mehanizmima te utjecaju na zdravlje i razvoj uslijed dugoročnog korištenja u životinjskim modelima. *Bdellovibrio bacteriovorus* modelni je i najistraženiji bakterijski predator. Pokazuje zavidnu učinkovitost u suzbijanju populacija Gram-negativnih patogena. Nesposobnost invazije eukariotskih stanica, izostanak obrambenih imunoloških reakcija u organizmu, nenarušavanje sastava ljudske crijevne mikrobiote i vrlo mala vjerojatnost razvoja otpornosti plijena glavne su prednosti razvoja opisanog terapijskog pristupa.

Ipak, prije sljedećeg koraka prema zamjeni antibiotika, nužno je usavršiti uporabu predatorskih bakterija *in vivo* i razmotriti sve njene posljedice. Razlog za zabrinutost predstavlja i proširenje raspona predacije uočeno kod nekolicine predatora, što bi moglo imati negativan učinak na komenzalne bakterije u sastavu mikrobiote čovjeka. Stoga ne čudi kako je korištenje živih bakterija u liječenju bakterijskih infekcija i dalje kontroverzno, budući da nemamo uvid u sigurnost i učinkovitost takve terapijske alternative antibioticima.

7. Literatura

- Abram, M., Škrobonja, I., Ambrožić, D., Repac-Antić, D. i Bubonja Šonje, M. (2018) „ESKAPE–bakterije koje su uzbunile svijet“, *Medicina Fluminensis: Medicina Fluminensis*, 54(3), str. 242–253.
- Acar, J.F. (1997) „Consequences of bacterial resistance to antibiotics in medical practice“, *Clinical infectious diseases*, 24(Supplement_1), str. S17–S18.
- Alexander, M. (1981) „Why microbial predators and parasites do not eliminate their prey and hosts“, *Annual Review of Microbiology*, 35(1), str. 113–133.
- Balloux, F. i van Dorp, L. (2017) „Q&A: What are pathogens, and what have they done to and for us?“, *BMC biology*, 15(1), str. 91.
- Banin, E., Hughes, D. i Kuipers, O.P. (2017) „Editorial: Bacterial pathogens, antibiotics and antibiotic resistance“, *FEMS Microbiology Reviews*, 41(3), str. 450–452.
- Basak, S., Singh, P. i Rajurkar, M. (2016) „Multidrug resistant and extensively drug resistant bacteria: a study“, *Journal of Pathogens*, 2016(4), str. 1–5.
- Beck, S., Schwudke, D., Strauch, E., Appel, B. i Linschied, M. (2004) „Bdellovibrio bacteriovorus strains produce a novel major outer membrane protein during predacious growth in the periplasm of prey bacteria“, *Journal of bacteriology*, 186(9), str. 2766–2773.
- Boucher, H.W., Talbot, G.H., Bradley, J.S., Edwards, J.E., Gilbert, D., Rice, L.B., Scheld, M., Spellberg, B. i Bartlett, J. (2009) „Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious diseases society of America“, *Clinical Infectious Diseases*, 48(1), str. 1–12.
- Bratanis, E., Andersson, T., Lood, R. i Bukowska-Faniband, E. (2020) „Biotechnological potential of Bdellovibrio and like organisms and their secreted enzymes“, *Frontiers in Microbiology*, 11(4), str. 1–14.
- Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S. i Morse, S.A. (2007) „Medical microbiology, 24th edition“, *McGraw-Hill Education*, str. 832.
- Brubaker, R.R. (1985) „Mechanisms of bacterial virulence“, *Annual Review of Microbiology*, 39(1), str. 21–50.
- Bukowska-Faniband, E., Andersson, T. i Lood, R. (2020) „Studies on Bd0934 and Bd3507, two secreted nucleases from Bdellovibrio bacteriovorus, reveal sequential release of nucleases during the predatory cycle“, *Journal of bacteriology*, 202(18), str. 15–20.

- Cao, H., An, J., Zheng, W. i He, S. (2015) „Vibrio cholerae pathogen from the freshwater-cultured whiteleg shrimp *Penaeus vannamei* and control with *Bdellovibrio bacteriovorus*“, *Journal of Invertebrate Pathology*, 130, str. 13–20.
- Cao, H., Wang, H., Yu, J., An, J. i Chen, J. (2019) „Encapsulated *Bdellovibrio* powder as a potential bio-disinfectant against whiteleg shrimp-pathogenic *Vibrios*“, *Microorganisms* , 7(8), str. 244.
- Chase, J.M., Abrams, P.A., Grover, J.P., Diehl, S., Chesson, P., Holt, R.D., Richards, S.A., Nisbet, R.M. i Case, T.J. (2002) „The interaction between predation and competition: a review and synthesis“, *Ecology Letters*, 5(2), str. 302–315.
- Cheng, G. i ostali (2014) „Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry?“, *Frontiers in microbiology*, 5(217), str. 217.
- Cotter, T.W. i Thomashow, M.F. (1992) „Identification of a *Bdellovibrio bacteriovorus* genetic locus, hit, associated with the host-independent phenotype“, *Journal of bacteriology*, 174(19), str. 6018–6024.
- Darvishi, M., Forootan, M., Nazer, M.R., Karimi, E. i Noori, M. (2020) „Nosocomial infections, challenges and threats: a review Article - چالش‌ها و تهدیدها: مقاله مروری - عفونت‌های بیمارستانی“, *Iranian journal of medical microbiology*, 14(2), str. 162–181.
- Dashiff, A., Junka, R.A., Libera, M. i Kadouri, D.E. (2011) „Predation of human pathogens by the predatory bacteria *Micavibrio aeruginosavorus* and *Bdellovibrio bacteriovorus*“, *Journal of applied microbiology*, 110(2), str. 431–444.
- Dashiff, A. i Kadouri, D.E. (2011) „Predation of oral pathogens by *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J“, *Molecular Oral Microbiology*, 26(1), str. 19–34.
- Davidov, Y. i 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), str. 1439–1452.
- Dincer, S., Uslu, F.M. i Delik, A. (2020) „Antibiotic resistance in biofilm“, *Bacterial biofilms*, str. 135–148.

- Duncan, M.C., Forbes, J.C, Nguyen, Y., Shull, L.M., Gillette, R.K., Lazinski, D.W., Ali, A., Shanks, R.M.Q., Kadouri, D.E. i Camilli, A. (2018) „Vibrio cholerae motility exerts drag force to impede attack by the bacterial predator *Bdellovibrio bacteriovorus*“, *Nature Communications*, 9(1), str. 4757.
- Dwidar, M., Monnappa, A.K. i Mitchell, R.J. (2012) „The dual probiotic and antibiotic nature of *Bdellovibrio bacteriovorus*“, *BMB reports*, 45(2), str. 71–78.
- Van Essche, M., Quirynen, M., Sliepen, I., Van Eldere, J. i Teughels, W. (2009) „*Bdellovibrio bacteriovorus* attacks *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*“, *Journal of dental research*, 88(2), str. 182–186.
- Van Essche, M., Quirynen, M., Sliepen, I., Loozen, G., Boon, N., Van Eldere, J. i Teughels, W. (2011) „Killing of anaerobic pathogens by predatory bacteria“, *Molecular Oral Microbiology*, 26(1), str. 52–61.
- Esteve, I. i Gaju, N. (1999) „Bacterial symbioses. Predation and mutually beneficial associations“, *International Microbiology*, 2(2), str. 81–86.
- Ezzedine, J.A., Chardon, C. i Jacquet, S. (2020) „New 16S rRNA primers to uncover *Bdellovibrio* and like organisms diversity and abundance“, *Journal of Microbiological Methods*, 175(14).
- Faust, K. i Raes, J. (2012) „Microbial interactions: from networks to models“, *Nature Reviews Microbiology*, 10(8), str. 538–550.
- Fenton, A.K., Kanna, M., Woods, R.D., Aizawa, S.I. i Sockett, R.E. (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), str. 6329–6335.
- Fratamico, P.M. i Whiting, R.C. (1995) „Ability of *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J to lyse gram-negative food-borne pathogenic and spoilage bacteria“, *Journal of Food Protection*, 58(2), str. 160–164.
- Fry, J.C. i Staples, D.G. (1976) „Distribution of *Bdellovibrio bacteriovorus* in sewage works, river water, and sediments“, *Applied and environmental microbiology*, 31(4), str. 469–474.
- Garrity, G.M., Bell, J.A. i Lilburn, T. (2015) „*Bdellovibrionaceae* fam. nov.“, *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, str. 1.

- Gray, M.W. (2017) „Lynn Margulis and the endosymbiont hypothesis: 50 years later“, *Molecular Biology of the Cell*, 28(10), str. 1285–1287.
- Guerrero, R., Pedrós-Alió, C., Esteve, I., Mas, J., Chase, D i Margulys, L. (1986) „Predatory prokaryotes: Predation and primary consumption evolved in bacteria“, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(7), str. 2138–2142.
- Harini, K., Ajila, V. i Hegde, S. (2013) „Bdellovibrio bacteriovorus: a future antimicrobial agent?“, *Journal of Indian Society of Periodontology*, 17(6), str. 823.
- Hobley, L., Lerner, T.R., Williams, L.E., Lambert, C., Till, R., Milner, D.S., Basford, S.M., Capeness, M.J., Fenton, A.K., Atterbury, R.J., Harris, M.A. i Sockett, R.E. (2012) „Genome analysis of a simultaneously predatory and prey-independent, novel Bdellovibrio bacteriovorus from the river Tiber, supports in silico predictions of both ancient and recent lateral gene transfer from diverse bacteria.“, *BMC genomics*, 13, str. 670.
- Iebba, V., Totino, V., Santangelo, F., Gagliardi, A., Ciotoli, L., Virga, A., Ambrosi, C., Pompili, M., De Biase, R., Selan, L., Artini, M., Pantanella, F., Mura, F., Passariello, C., Nicoletti, M., Nencioni, L., Trancassini, M., Quattrucci, S. i Schippa, S. (2014) „Bdellovibrio bacteriovorus directly attacks Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus cystic fibrosis isolates“, *Frontiers in Microbiology*, 5(6), str. 1–9.
- Jurkevitch, E. (2007) „A brief history of short bacteria: a chronicle of Bdellovibrio (and like organisms)“, *Springer Berlin Heidelberg*, str. 1–9.
- Kadouri, D. i O’Toole, G.A. (2005) „Susceptibility of biofilms to Bdellovibrio bacteriovorus attack“, *Applied and Environmental Microbiology*, 71(7), str. 4044–4051.
- Kessel, M. i Shilo, M. (1976) „Relationship of Bdellovibrio elongation and fission to host cell size“, *Journal of bacteriology*, 128(1), str. 477–480.
- Köck, R., Becker, K., Cookson, B., van Gemert-Pijnen, J.E., Harbarth, S., Kluytmans, J.A., Mielke, M., Peters, G., Skov, R.L. i Struelens, M.J. (2010) „Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe“, *Eurosurveillance*, 15(41), str. 19688.

- Kongrueng, J., Mitraparp-Arthorn, P., Bangpanwimon, K., Robins, W., Vuddhakul, V. i Mekalanos, J. (2017) „Isolation of *Bdellovibrio* and like organisms and potential to reduce acute hepatopancreatic necrosis disease caused by *Vibrio parahaemolyticus*“, *Diseases of Aquatic Organisms*, 124(3), str. 223–232.
- Koval, S.F. i Hynes, S.H. (1991) „Effect of paracrystalline protein surface layers on predation by *Bdellovibrio bacteriovorus*“, *Journal of Bacteriology*, 173(7), str. 2244–2249.
- Koval, S.F., Williams, H.N. i Stine, O.C. (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), str. 593.
- Kowalska, J. i Włodarczyk, M. (2017) „Predation among microorganisms: a huge potential of interspecies dependencies.“, *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej (Online)*, 71(0), str. 906–914.
- Laloux, G. (2020) „Shedding light on the cell biology of the predatory bacterium *Bdellovibrio bacteriovorus*“, *Frontiers in Microbiology*, 10(1), str. 1–8.
- Lenz, R.W. i Hespell, R.B. (1978) „Attempts to grow *bdellovibrios* micurgically-injected into animal cells“, *Archives of Microbiology*, 119(3), str. 245–248.
- Li, Y., Qiu, F., Yan, H., Wan, X., Wang, M., Ren, K., Xu, Q., Lu, L., Yin, C., Liu, X., Zhang, H. i Mahmoud, K. (2018) „Increasing the autotrophic growth of *Chlorella* USTB-01 via the control of bacterial contamination by *Bdellovibrio* USTB-06“, *Journal of Applied Microbiology*, 124(5), str. 1131–1138.
- Markelova, N.Y. (2010) „Interaction of *Bdellovibrio bacteriovorus* with bacteria *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori*“, *Microbiology*, 79(6), str. 777–779.
- Martin, M.O. (2002) „Predatory prokaryotes: an emerging research opportunity“, *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 4(5), str. 467–477.
- Marturano, J.E. i Lowery, T.J. (2019) „ESKAPE pathogens in bloodstream infections are associated with higher cost and mortality but can be predicted using diagnoses upon admission“, *Open Forum Infectious Diseases*, 6(12), str. 503.

- Mitchell, R.J., Mun, W., Mabekou, S.S., Jang, H. i Choi, S.Y. (2020) „Compounds affecting predation by and viability of predatory bacteria“, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(9), str. 3705–3713.
- Mu, D.-S., Wang, S., Liang, Q.-Y, Du, Z.-Z., Tian, R., Ouyang, Y., Wang, X.-P., Zhou, A., Gong, Y., Chen, G.-J., Van Nostrand, J., Yang, Y., Zhou, J. i Du, Z.-J. (2020) „Bradymonabacteria, a novel bacterial predator group with versatile survival strategies in saline environments.“, *Microbiome*, 8(1), str. 126.
- Mulani, M.S., Kamble, E.E., Kumkar, S.N., Tawre, M.S. i Pardesi, K.R. (2019) „Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: A review“, *Frontiers in Microbiology*, 10(4).
- Navidinia, M. (2016) „The clinical importance of emerging ESKAPE pathogens in nosocomial infections“, *Journal of Paramedical Sciences*, 7(3), str. 43–57.
- Negus, D., Moore, C., Baker, M., Raghunathan, D., Tyson, J. i Sockett, R.E. (2017) „Predator versus pathogen: how does predatory *Bdellovibrio bacteriovorus* interface with the challenges of killing gram-negative pathogens in a host setting?“, *Annual Review of Microbiology*, 71(1), str. 441–457.
- De Oliveira, D.M.P., Forde, B.M., Kidd, T.J., Harris, P.N.A., Schembri, M.A., Beatson, S.A., Paterson, D.L. i Walker, M.J. (2020) „Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens“, *Clinical microbiology reviews*, 33(3).
- Pacheco, A.R. i Segrè, D. (2019) „A multidimensional perspective on microbial interactions“, *FEMS Microbiology Letters*, 366(11).
- Pasternak, Z., Njagi, M., Shani, Y., Chanyi, R., Rotem, O., Lurie-Weinberger, M.N., Koval, S., Pietrokovski, S., Gophna, U. i Jurkevitch, E. (2014) „In and out: an analysis of epibiotic vs periplasmic bacterial predators“, *The ISME Journal*, 8(3), str. 625–635.
- Pendleton, J.N., Gorman, S.P. i Gilmore, B.F. (2013) „Clinical relevance of the ESKAPE pathogens“, *Expert review of anti-infective therapy*, 11(3), str. 297–308.
- Pérez, J., Moraleda-Muñoz, A., Marcos-Torres, F.J., Muñoz-Dorado, J. (2016) „Bacterial predation: 75 years and counting!“, *Environmental Microbiology*, 18(3), str. 766–779.
- Prescott, L.M. (2002) *Microbiology*, McGraw-Hill, Boston
- Qi, Z., Zhang, X., Boon, N. i Bossier, P. (2009) „Probiotics in aquaculture of China—current state, problems and prospect“, *Aquaculture*, 290(1–2), str. 15–21.

- Ravančić, G. (2006) „Crna Smrt 1348.-1349. u Dubrovniku: Srednjovjekovni grad i doživljaj epidemije“, Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Filozofski fakultet, Zagreb
- Rendulic, S., Jagtap, P., Rosinus, A., Eppinger, M., Baar, C., Lanz, C., Keller, H., Lambert, C., Evans, K.J., Goesmann, A., Meyer, F., Sockett, R.E. i Schuster, S.C. (2004) „A predator unmasked: life cycle of *Bdellovibrio bacteriovorus* from a genomic perspective“, *Science*, 303(5658), str. 689–692.
- Rice, L.B. (2008) „Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE“, *The Journal of Infectious Diseases*, 197(8), str. 1079–1081.
- Rotem, O., Pasternak, Z., Shimoni, E., Belausov, E., Porat, Z., Pietrokovski, S. i Jurkevitch, E. (2015) „Cell-cycle progress in obligate predatory bacteria is dependent upon sequential sensing of prey recognition and prey quality cues“, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(44).
- Rotem, O., Pasternak, Z. i Jurkevitch, E. (2014) „*Bdellovibrio* and like organisms - The Prokaryotes: Deltaproteobacteria and Epsilonproteobacteria“, U: E. Rosenberg i ostali (ur.), Berlin, Heidelberg: *Springer Berlin Heidelberg*, str. 3–17.
- Saralegui, C., Herencias, C., Halperin, A.V., de Dios-Caballero, J., Pérez-Viso, B., Salgado, S., Lanza, V.F., Cantón, R., Baquero, F., Prieto, M.A. i del Campo, R. (2022) „Strain-specific predation of *Bdellovibrio bacteriovorus* on *Pseudomonas aeruginosa* with a higher range for cystic fibrosis than for bacteremia isolates“, *Scientific Reports*, 12(1), str. 10523.
- Saxon, E.B., Jackson, R.W., Bhumbra, S., Smith, T. i Sockett, R.E. (2014) „*Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 guards against *Pseudomonas tolaasii* brown-blotch lesions on the surface of post-harvest *Agaricus bisporus* supermarket mushrooms“, *BMC Microbiology*, 14(1), str. 163.
- Schwudke, D., Strauch, E., Krueger, M. i Appel, B. (2001) „Taxonomic studies of predatory bdellovibrios based on 16S rRNA analysis, ribotyping and the hit locus and characterization of isolates from the gut of animals“, *Systematic and applied microbiology*, 24(3), str. 385–394.
- Seidler, R.J. i Starr, M.P. (1969) „Isolation and characterization of host-independent bdellovibrios“, *Journal of bacteriology*, 100(2), str. 769–785.

- Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S.M.D. i Kamal, M.A. (2015) „Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: types, epidemiology and treatment“, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(1), str. 90–101.
- Shanks, R.M.Q., Davra, V.R., Romanowski, E.G., Brothers, K.M., Stella, N.A., Godbole, D. i Kadouri, D.E. (2013) „An eye to a kill: using predatory bacteria to control gram-negative pathogens associated with ocular infections“, *PLoS One*, 8(6).
- Shatzkes, K., Singleton, E., Tang, C., Zuen, M., Shukla, S., Gupta, S., Dharani, S., Onyile, O., Rinaggio, J. i Connell, N.D. (2016) „Predatory bacteria attenuate *Klebsiella pneumoniae* burden in rat lungs“, *MBio*, 7(6).
- Shemesh, Y., Davidov, Y., Koval, S. i Jurkevitch, E. (2003) „Small eats big: ecology and diversity of *Bdellovibrio* and like organisms, and their dynamics in predator-prey interactions“, *Agronomie*, 23(5–6), str. 433–439.
- Silva, P.H.F., Oliveira, L.F.F., Cardoso, R.S., Ricoldi, M.S.T., Figueierdo, L.C., Salvador, S.L., Palioto, D.B., Furlaneto, F.A.C. i Messori, M.R. (2019) „The impact of predatory bacteria on experimental periodontitis“, *Journal of Periodontology*, 90(9), str. 1053–1063.
- Socket, R.E. i Lambert, C. (2004) „*Bdellovibrio* as therapeutic agents: a predatory renaissance?“, *Nature Reviews Microbiology*, 2(8), str. 669–675.
- Stolp, H. i Petzold, H. (1962) „Untersuchungen über einen obligat parasitischen Mikroorganismus mit lytischer Aktivität für *Pseudomonas*-Bakterien“, *Journal of Phytopathology*, 45(4), str. 364–390.
- Stolp, H. i Starr, M.P. (1963) „*Bdellovibrio bacteriovorus* gen. et sp. n., a predatory, ectoparasitic, and bacteriolytic microorganism“, *Antonie van Leeuwenhoek*, 29(1), str. 217–248.
- Torrella, F., Guerrero, R. i Seidler, R.J. (1978) „Further taxonomic characterization of the genus *Bdellovibrio*“, *Canadian Journal of Microbiology*, 24(11), str. 1387–1394.
- Tudor, J.J. i Conti, S.F. (1977) „Characterization of bdelloccysts of *Bdellovibrio* sp“, *Journal of Bacteriology*, 131(1), str. 314–322.
- Varon, M. i Shilo, M. (1968) „Interaction of *Bdellovibrio bacteriovorus* and host bacteria I. Kinetic studies of attachment and invasion of *Escherichia coli* B by *Bdellovibrio bacteriovorus*“, *Journal of Bacteriology*, 95(3), str. 744–753.

- Vesteg, M. i Krajčovič, J. (2008) „Origin of eukaryotes as a symbiosis of parasitic α -proteobacteria in the periplasm of two-membrane-bounded sexual prekaryotes“, *Communicative & Integrative Biology*, 1(1), str. 104–113.
- Walker, D.M., Oghumu, S., Gupta, G., McGwire, B.S., Drew, M.E. i Satoskar, A.R. (2014) „Mechanisms of cellular invasion by intracellular parasites“, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(7), str. 1245–1263.
- Wang, Z., Kadouri, D.E. i Wu, M. (2011) „Genomic insights into an obligate epibiotic bacterial predator: *Micavibrio aeruginosavorus* ARL-13“, *BMC genomics*, 12(1), str. 1–13.
- Weiland-Bräuer, N. (2021) „Friends or foes—microbial interactions in nature“, *Biology*, 10(6), str. 496.
- Willey, J., Sherwood, L. i Woolverton, C.J. (2013) *Prescott's Microbiology: 9th Revised edition*. 9th izd. London, *McGraw-Hill Higher Education*.
- Willey, J.M., Sherwood, L.M. i Woolverton, C.J. (2008) *Prescott, Harley and Klein's Microbiology*. 7th edition7th izd. New York, *McGraw-Hill Education*.

8. Životopis

Rođena sam 26.12.2000. godine u Zagrebu, gdje živim cijeli svoj život. Završila sam Osnovnu školu Brezovica 2015. godine, kada sam i na Državnom natjecanju i smotri iz Fizike u Trogiru ostvarila 2. mjesto u kategoriji eksperimentalnih radova. Maturirala sam 2019. godine u I. gimnaziji Zagreb, smjer Opća gimnazija te iste godine upisala Preddiplomski sveučilišni studij Biologija na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu. Članica sam Udruge studenata biologije BIUS. Osim materinjeg, tečno govorim engleski jezik, dok se njemačkim jezikom služim na B1 razini, a španjolskim i talijanskim na A2 razini.