



HAL
open science

Recherche de molécules antimicrobiennes issues d'éponges de méditerranée

Florent Rouvier, Morgane Mauduit, Thierry Pérez, Charlotte Simmler,
Véronique Sinou

► **To cite this version:**

Florent Rouvier, Morgane Mauduit, Thierry Pérez, Charlotte Simmler, Véronique Sinou. Recherche de molécules antimicrobiennes issues d'éponges de méditerranée. 10ème Ecole Thématique de Criblage, Bioscreen 2022, Sep 2022, Eppe-Sauvage (Nord), France. 10.5281/zenodo.7624022 . hal-03979980

HAL Id: hal-03979980

<https://hal.science/hal-03979980>

Submitted on 9 Feb 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

La résistance aux antibiotiques est reconnue par l'OMS comme l'une des principales menaces pour la santé publique au XXIe siècle avec un nombre de décès estimé à 1,27 million/an dans le monde en 2019.¹

Bien qu'une variété de composés soient actuellement en cours d'essais cliniques, la majorité d'entre eux ne sont en fait que des modifications de structures d'antibiotiques déjà existants et ne sont actifs que contre des agents pathogènes spécifiques ou des sous-ensembles limités de souches résistantes.²

La plateforme de criblage BAC-SCREEN a pour mission d'identifier de nouvelles molécules bioactives pour répondre aux enjeux liés à la résistance aux antibiotiques

BAC-SCREEN est une plateforme de biosécurité de niveau 2, dédiée au criblage à haut contenu (HCS) de chimiothèques sur bactéries.

BAC-SCREEN est spécialisée dans la découverte d'inhibiteurs des mécanismes de résistance liés à la membrane bactérienne & aux systèmes de pompes d'efflux.

Les méthodes utilisées sont :

- Tests de sensibilité aux antimicrobiens sur formes planctoniques (méthodes standardisées CLSI, EUCAST) & biofilms,
- Evaluation de la synergie de composés en combinaison (méthode de l'échiquier, Time-Killing),
- Tests d'activité en relation avec l'intégrité de la membrane bactérienne et l'activité des pompes d'efflux

Lecteur de microplaques
(Absorbance, Fluorescence, Luminescence)

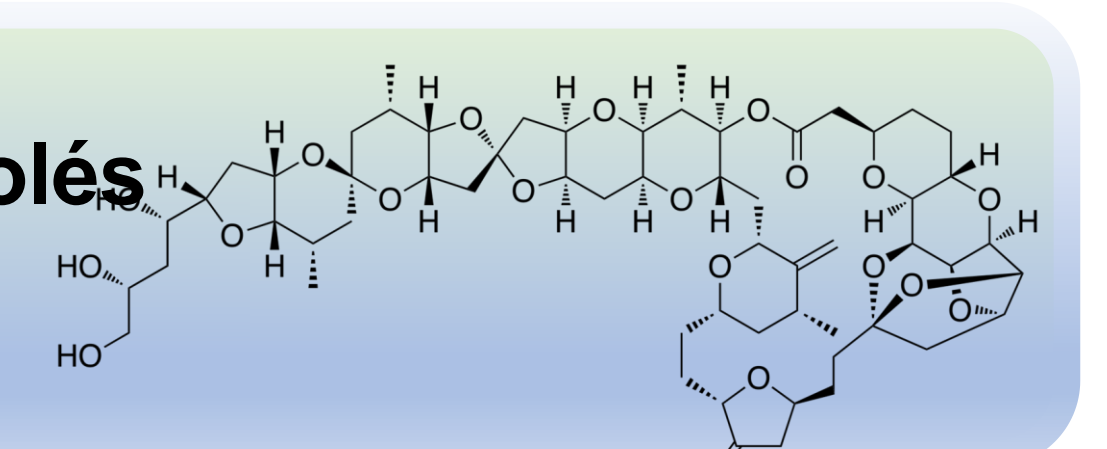
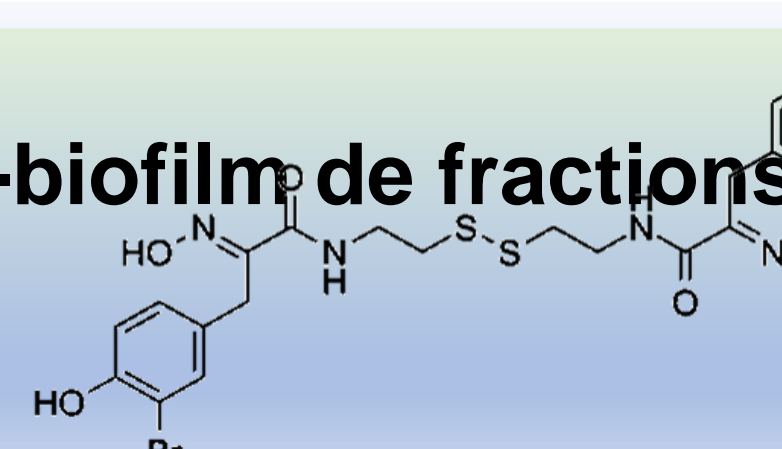
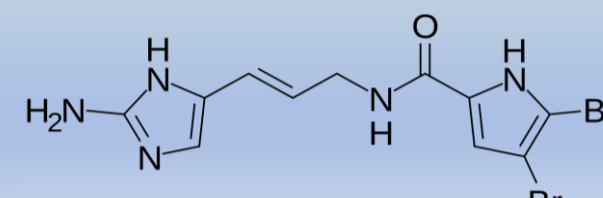


Collection de bactéries
• 250 souches référence
• 1500 isolats cliniques
• 250 souches modifiées

Chimiothèque
• 1000 composés



Evaluer les propriétés antimicrobiennes et anti-biofilm de fractions et métabolites isolés d'éponges de Méditerranée

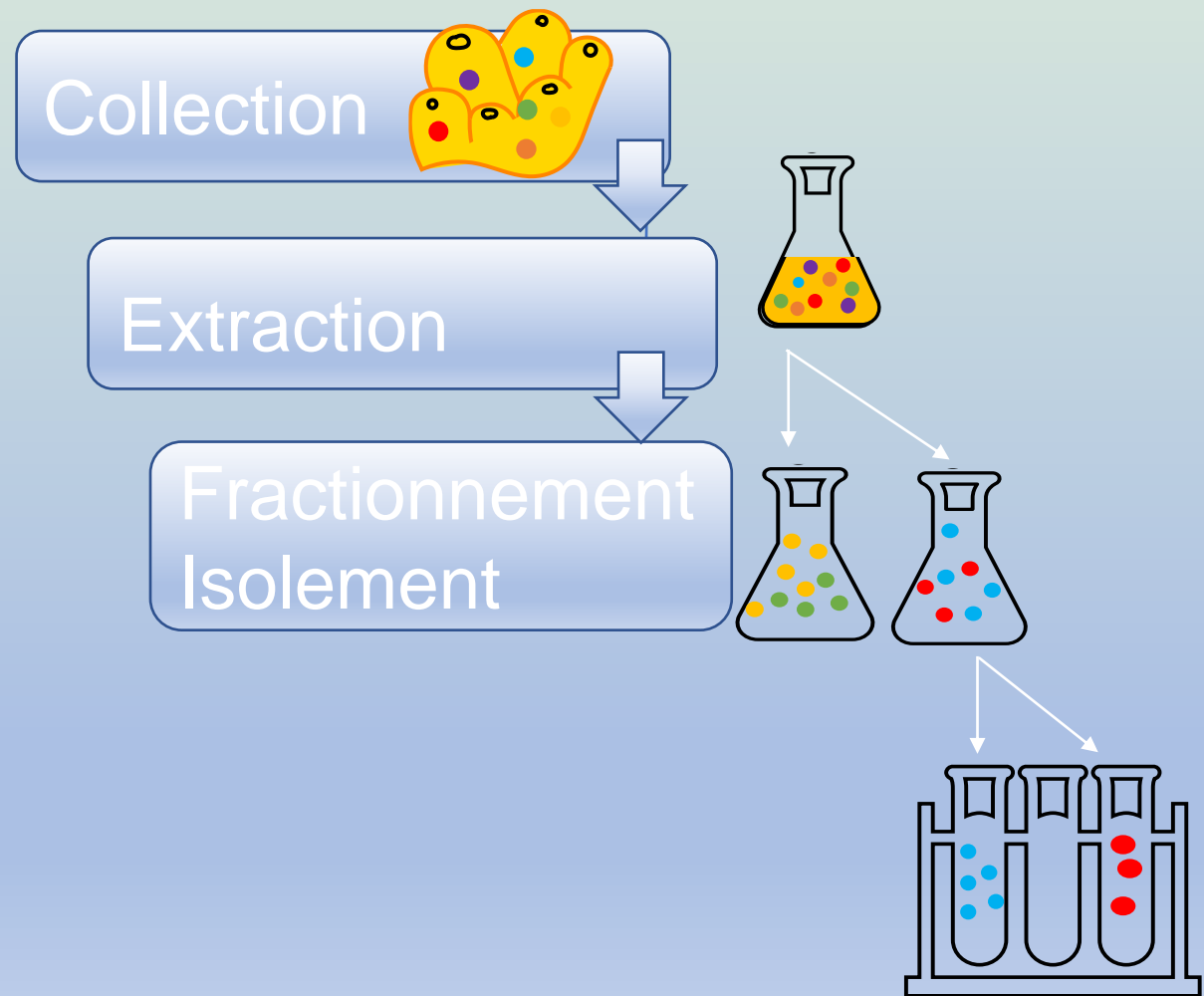


PREPARATION DE LA CHIMIOTHEQUE

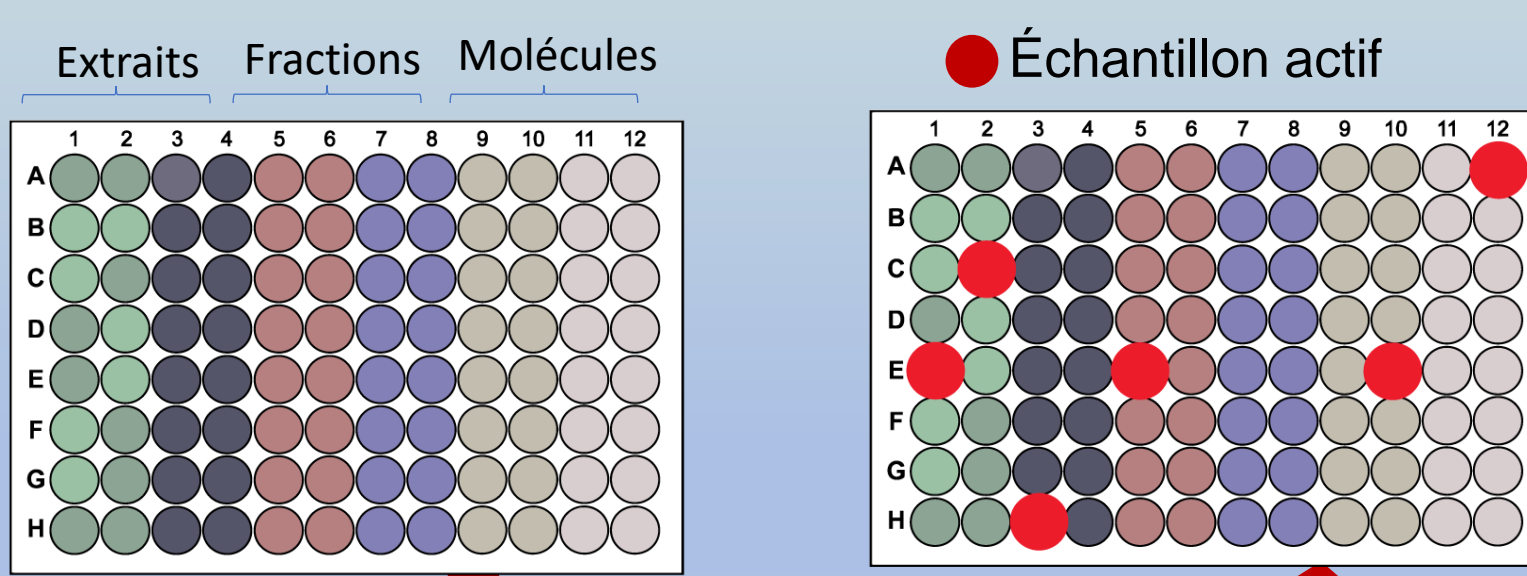
CRIBLAGE ANTIBACTERIEN

ACTIVITES ANTIBACTERIENNE & ANTI-BIOFILMS

MÉTHODOLOGIE

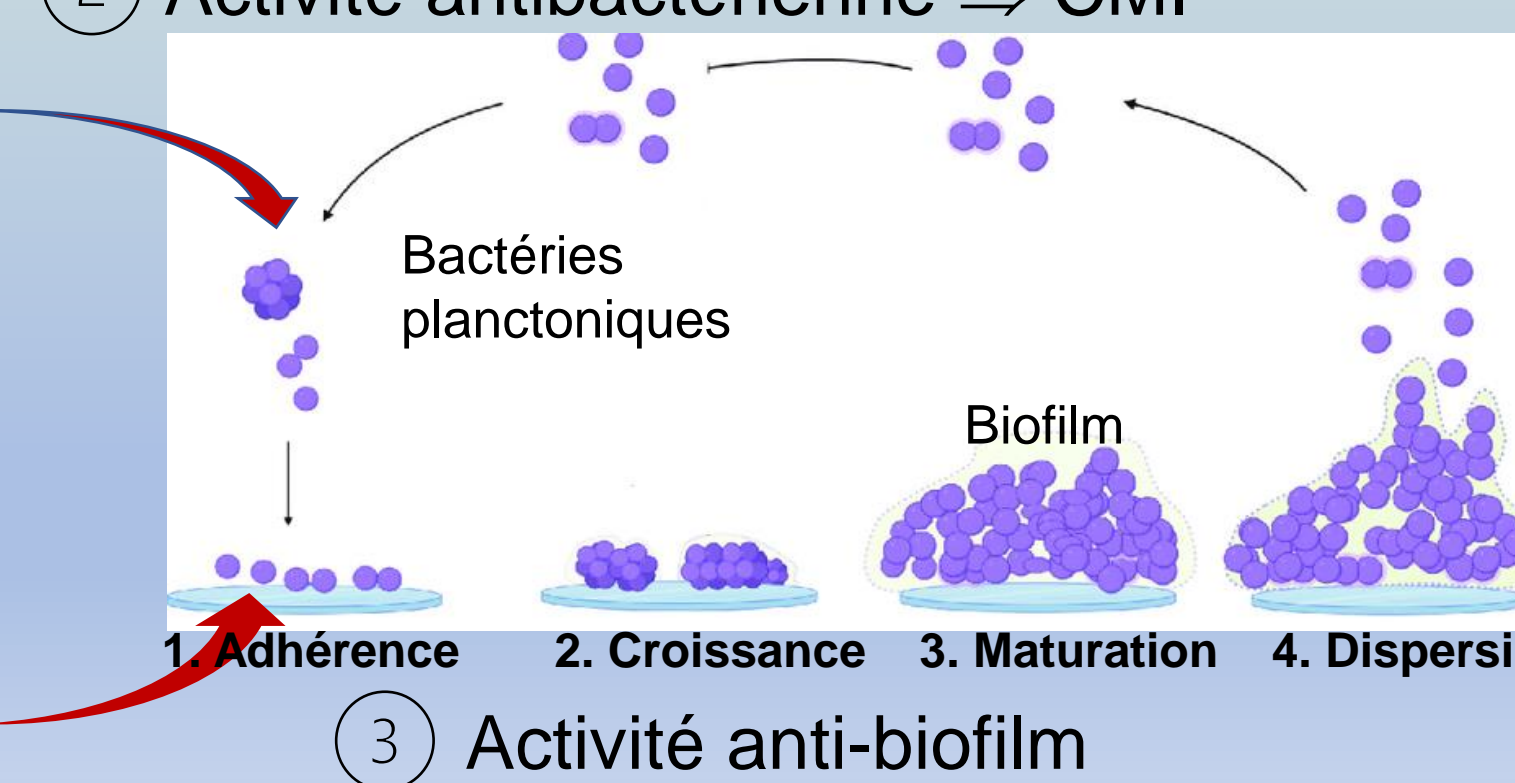


- Méthode standard (<http://clsi.org>)
- Microplaque 96 puits & crible automatisé (Tecan®)
- Criblage : 50 µg/mL (extraits)/50 µM (métabolites)
- Révélation croissance bactérienne: lecture DO_{600nm}

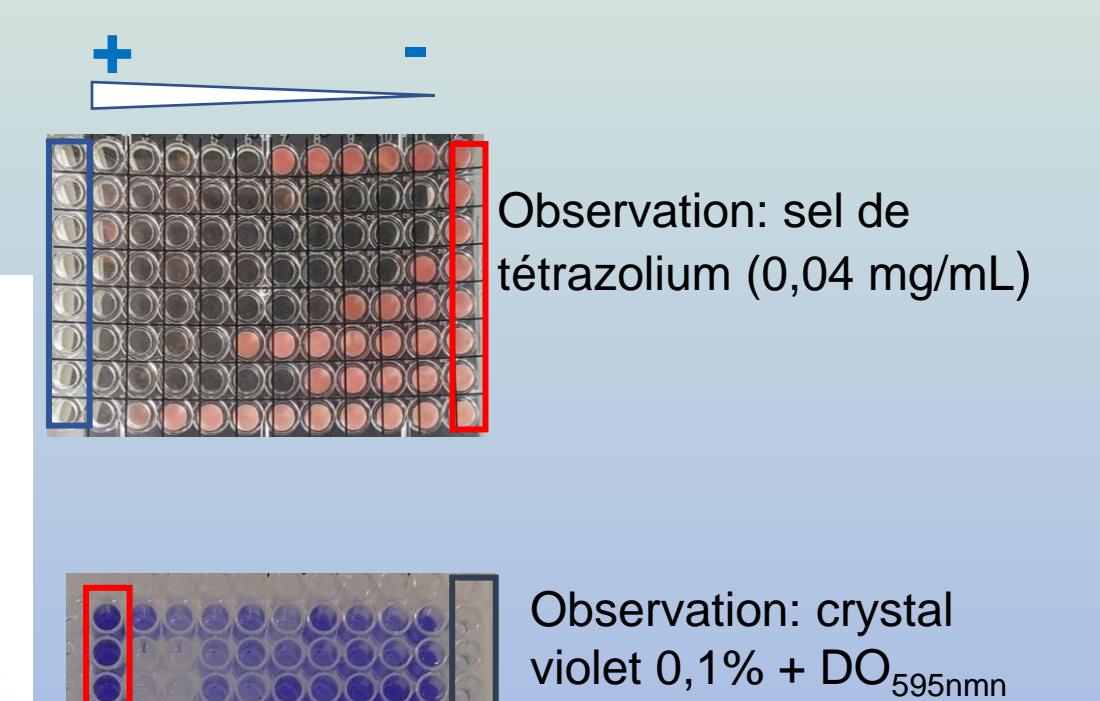


① Sélection des hits

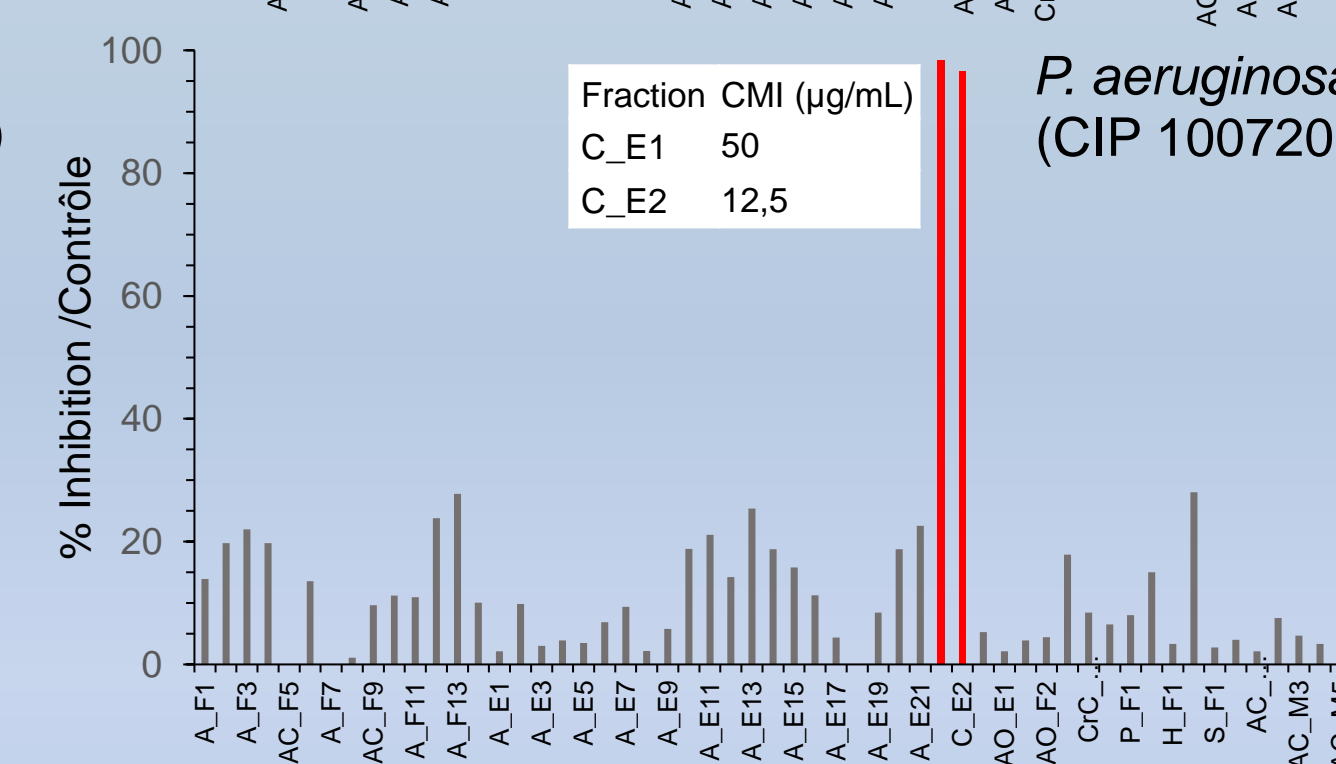
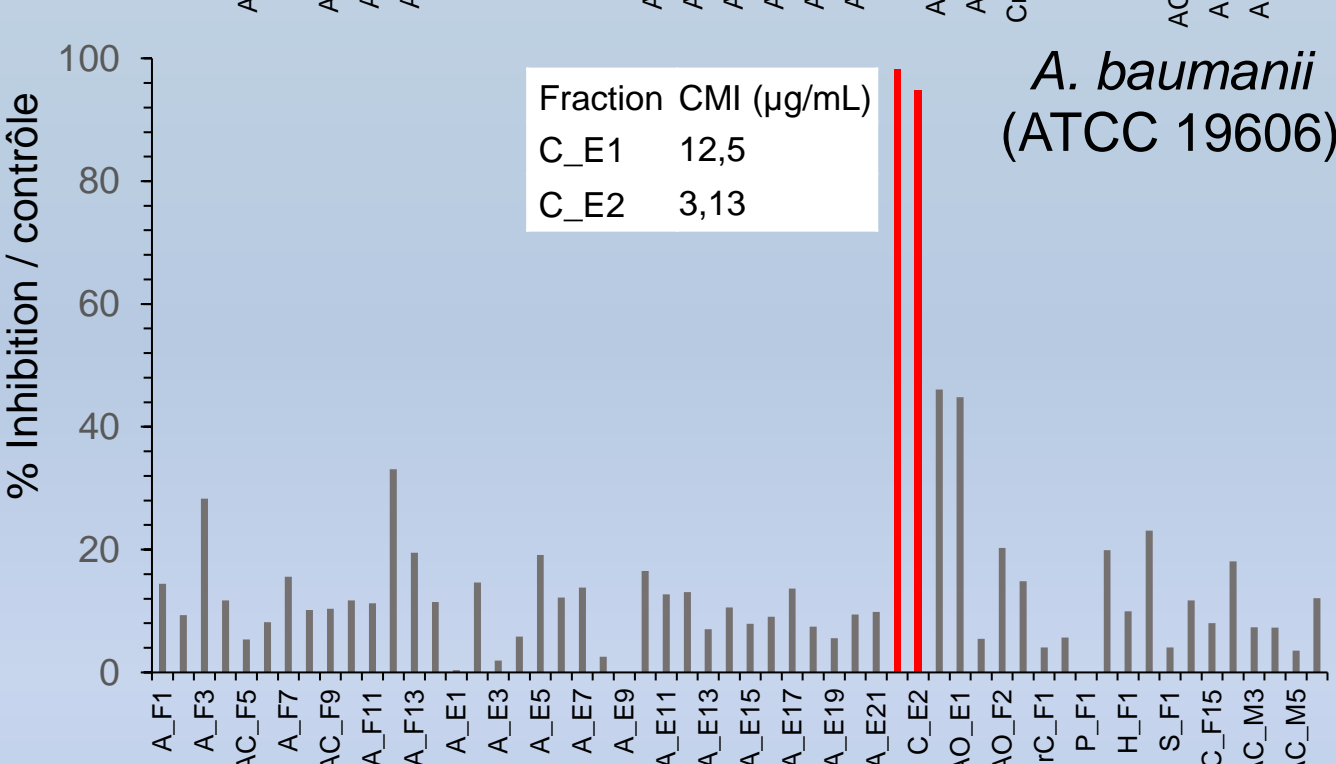
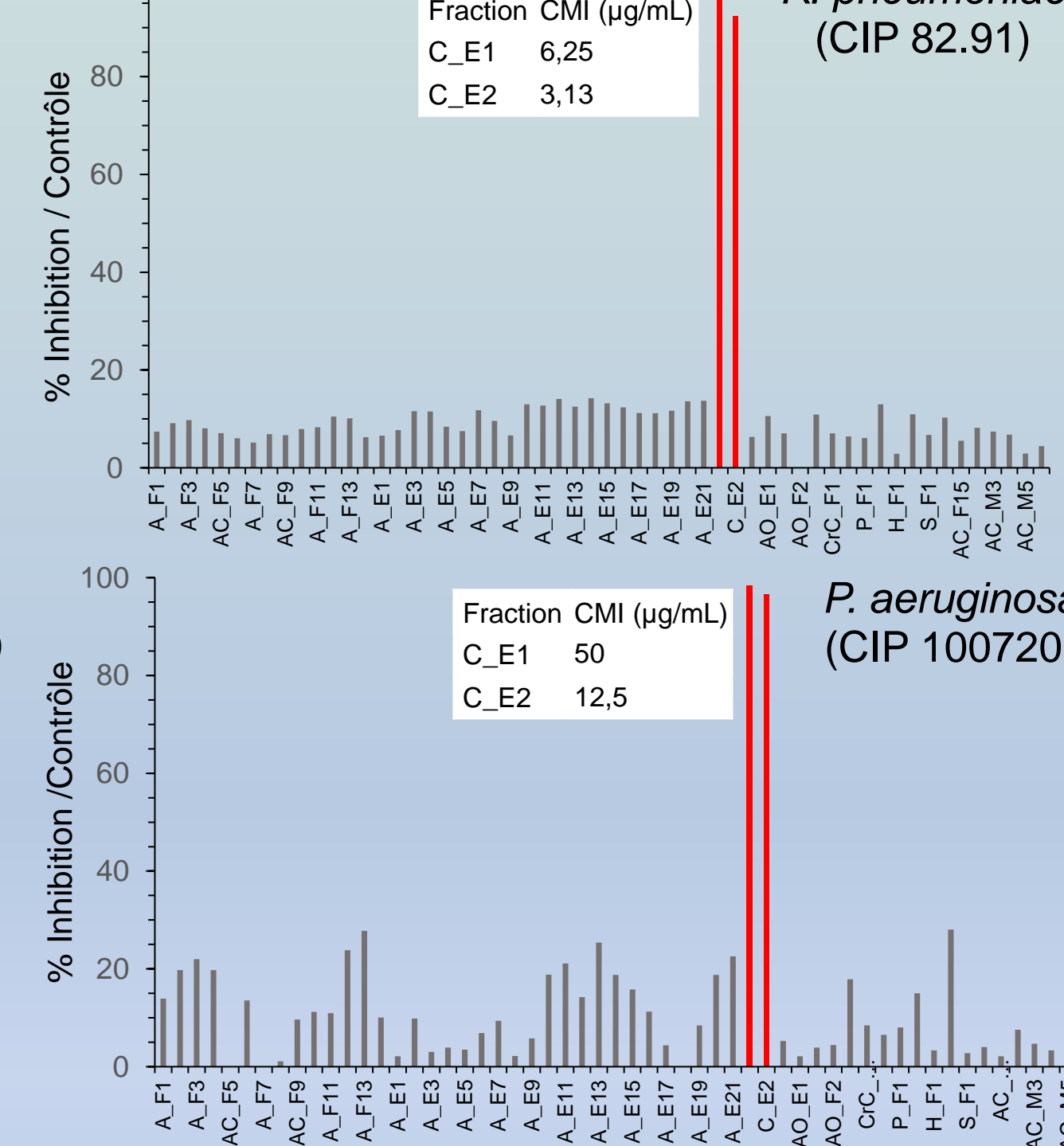
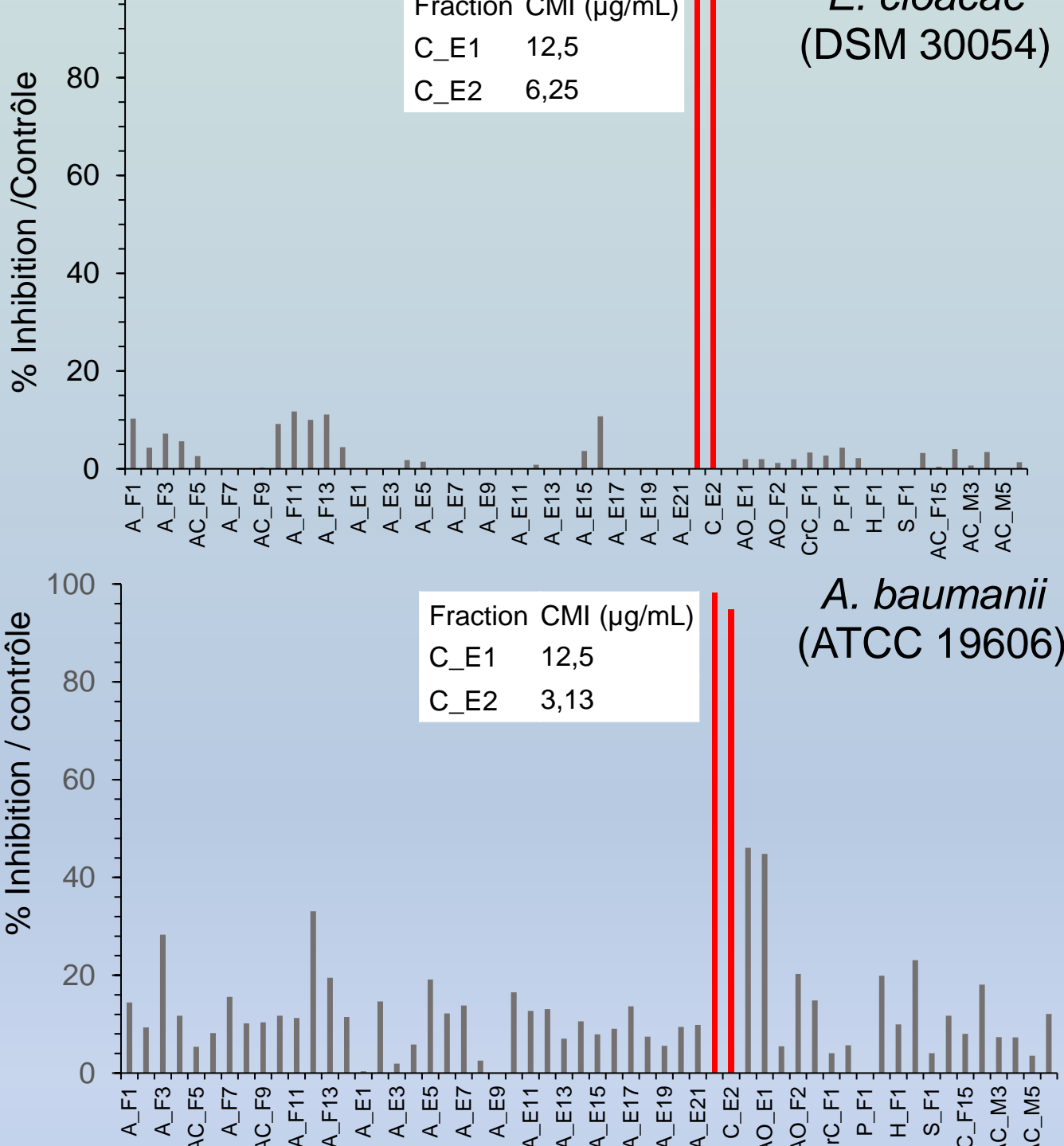
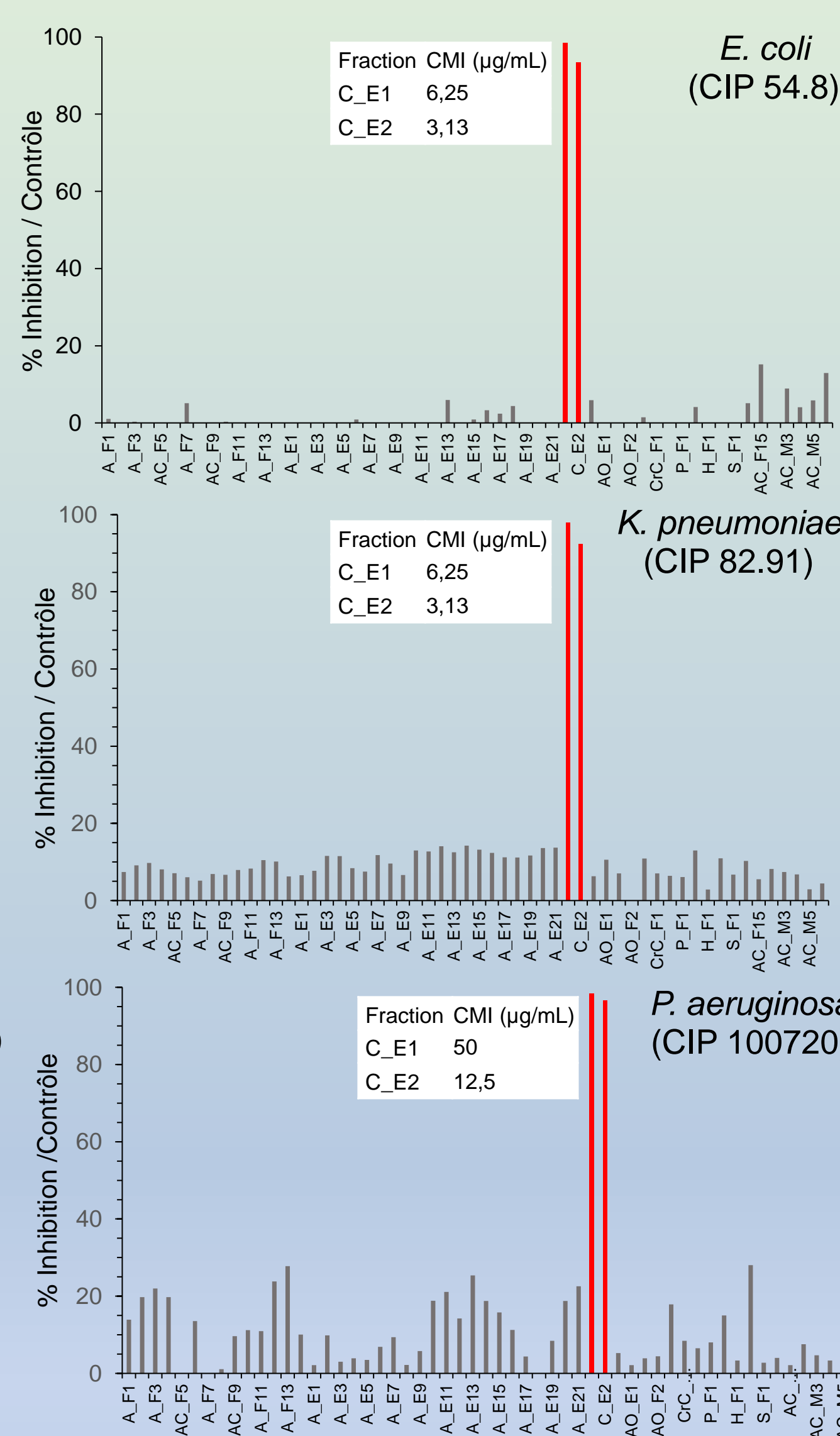
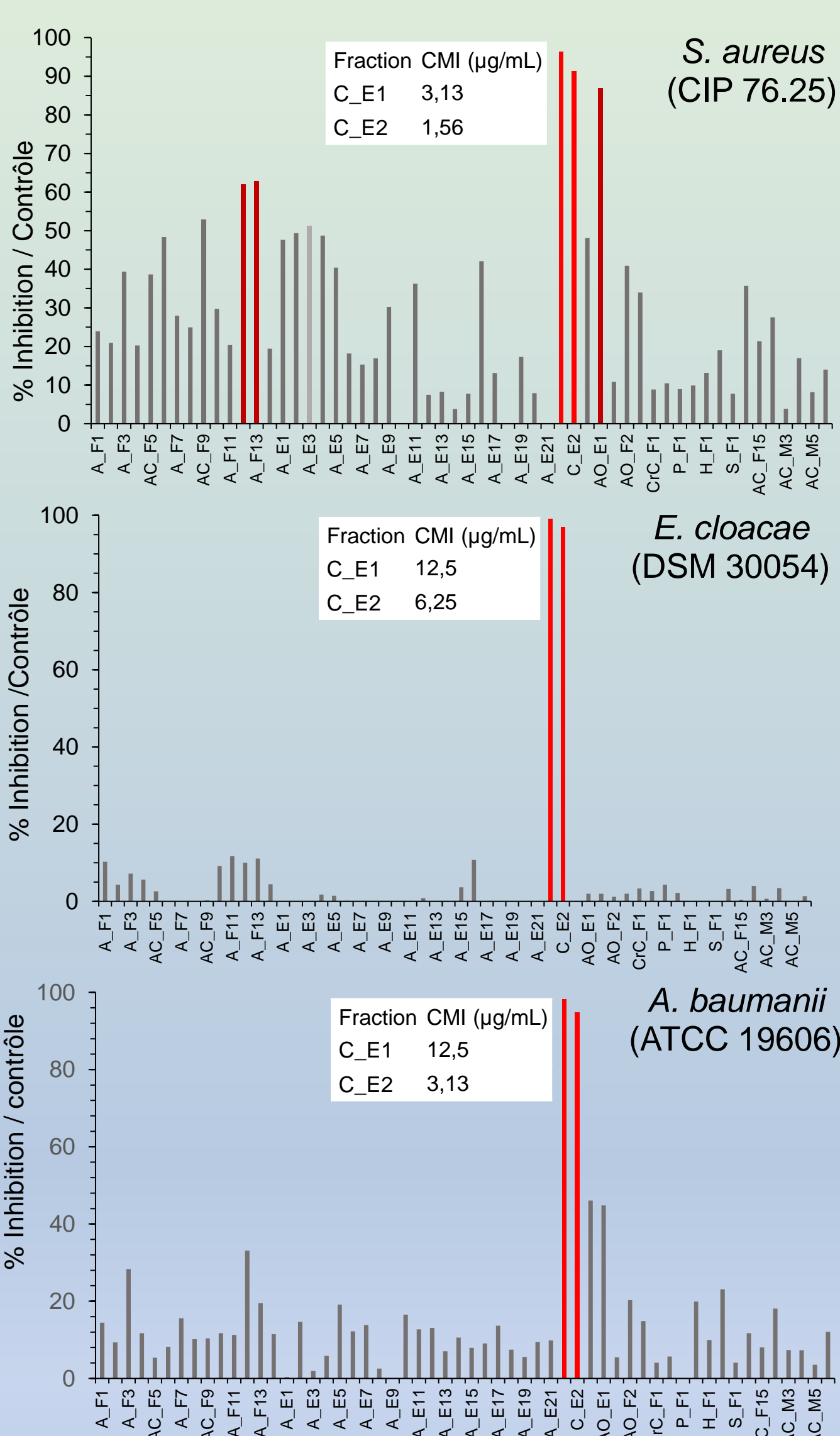
② Activité antibactérienne ⇒ CMI



③ Activité anti-biofilm



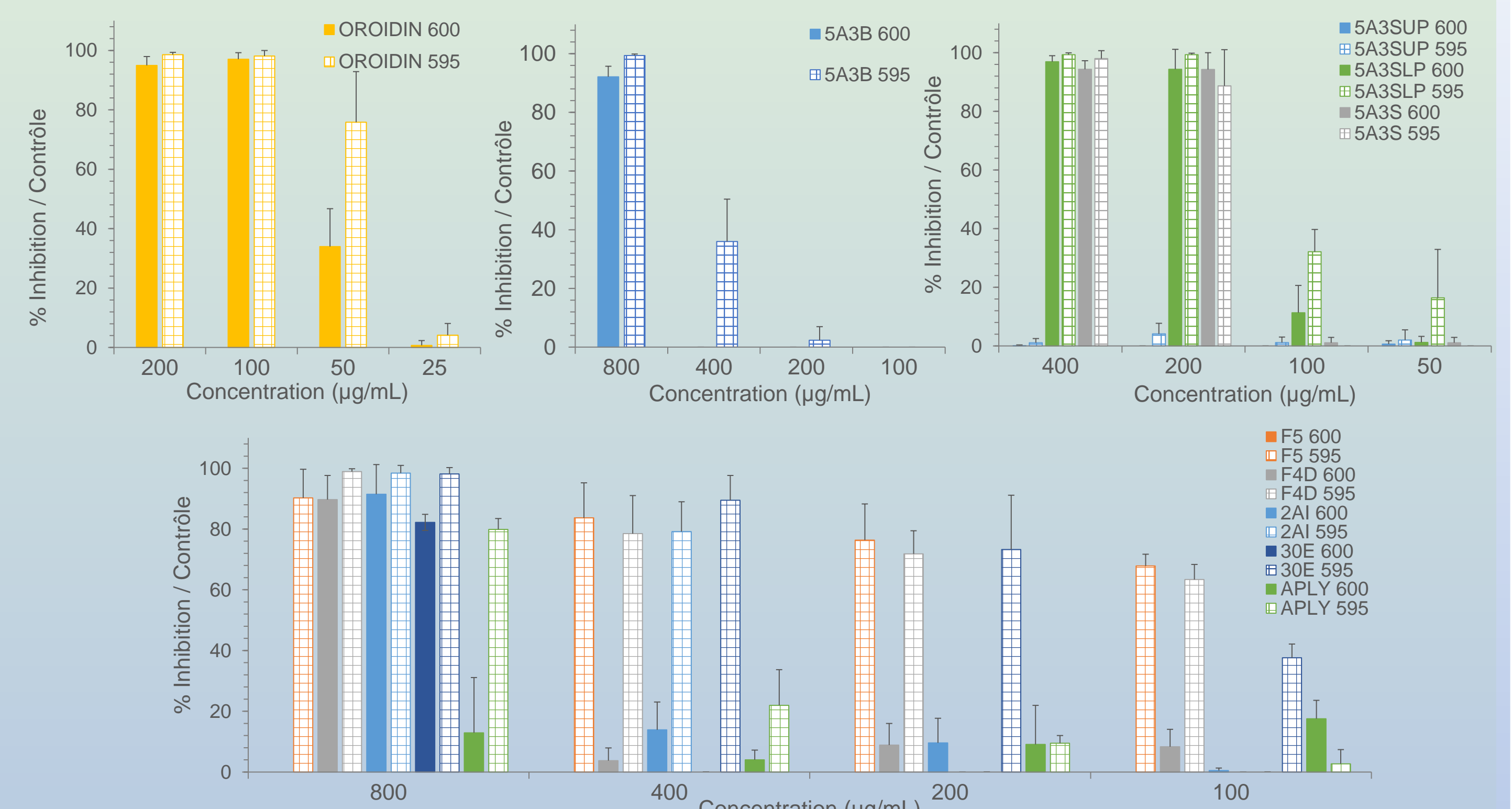
Activité antibactérienne de fractions et métabolites isolés d'éponges de Méditerranée



- Cinquante-six échantillons provenant de huit espèces d'éponges ont été criblés sur six agents pathogènes du groupe ESKAPE³
- Après incubation (37°C, 18 heures), la masse bactérienne est estimée par lecture de DO_{600nm}
- L'inhibition de la croissance bactérienne est calculée selon la formule :
% Inhibition = 100 - [(DO_{600Ech} - DO_{600Neg}) - (DO_{600Pos} - DO_{600Neg)]] × 100}

Cinq échantillons issus de trois espèces d'éponges présentent une activité antibactérienne vis-à-vis de *S. aureus* (10% de hits), dont deux vis-à-vis de toutes les souches bactériennes

Inhibition de la formation de biofilm de *S. aureus* par des fractions Isolées d'éponges de Méditerranée



- Neuf fractions extraites d'espèces d'éponges différentes ont été testées pour leur capacité à inhiber la phase d'attachement initiale du biofilm à l'aide d'un modèle *in vitro* de biofilm de *S. aureus*. L'oridine connue pour ses propriétés anti-biofilm est utilisée comme référence.
- En fin d'incubation:
 - La masse bactérienne est estimée par lecture de la DO_{600nm}
 - L'inhibition de la croissance bactérienne est calculée selon la formule :
% Inhibition = 100 - [(DO_{600Ech} - DO_{600Neg}) - (DO_{600Pos} - DO_{600Neg)]] × 100}
 - La masse du biofilm est estimée après coloration au Crystal violet & lecture de la DO_{595nm}
 - L'inhibition de la formation du biofilm est calculée selon la formule :
% Inhibition = 100 - [(DO_{595Ech} - DO_{595Neg}) - (DO_{595Pos} - DO_{595Neg)]] × 100}

Les fractions F5, F4D, 2AI et 30E provenant d'une même éponge, inhibent la formation du biofilm (■) à des concentrations sans effet sur la croissance des formes planctoniques (■)

L'activité anti-biofilm de ces fractions ne résulte pas d'une action bactéricide sur les formes planctoniques de *S. aureus* mais de l'inhibition des phases initiales de formation du biofilm

REFERENCES

1. Christopher JL *et al.* Lancet 2022. 10.1016/S0140-6736(21)02724-0
2. Hutchings MI, Truman AW, Wilkinson B. Curr Opin Microbiol. 2019;51:72-80.
3. Rice LB. J Infect Dis. 2008;197:1079-81.

REMERCIEMENTS

SESAM est financé par l'Agence nationale de la recherche ANR-20-CE43-0003
La thèse de M. Mauduit est financée par une bourse CNRS (80 Prime CNRS fellowship)



CONCLUSION

Le criblage d'une première chimiothèque issue d'éponges de Méditerranée est prometteur pour la découverte de nouvelles molécules à fort potentiel antimicrobien via principalement leurs activités anti-biofilms. Les biofilms bactériens étant potentiellement responsables de plus de 80% des infections aux antibiotiques tolérantes, les propriétés de ces extraits en font de bons candidats pour développer de nouveaux antibiotiques innovants.