



## Zoom sur la plateforme BAC-SCREEN du Laboratoire MCT !

**Au sein du laboratoire « Membranes et Cibles Thérapeutiques » (MCT) de Marseille, figure BAC-SCREEN, la plateforme spécialisée dans le criblage de molécules sur bactéries. Ouverte aux industriels et académiques, elle propose des prestations de service et des projets collaboratifs.**

Les antibiotiques, l'une des découvertes les plus importantes de la médecine du XX<sup>ème</sup> siècle, ont permis de soigner de nombreuses maladies d'origine bactérienne autrefois mortelles (par exemple, la tuberculose, la pneumonie, la syphilis...). Cependant, leur utilisation massive et parfois abusive a contribué à faire émerger des résistances bactériennes qui menacent aujourd'hui l'efficacité des antibiotiques et font craindre un retour à l'ère « pré-antibiotique ».

### Une triple tutelle pour le laboratoire

Depuis sa création, en 2008, le laboratoire TMCD2 (Transporteurs Membranaires Chimiorésistance et Drug-Design), dont le nom a évolué en 2018 pour « Membranes et Cibles Thérapeutiques » (MCT) sous triple tutelle Aix-Marseille Université, Service de Santé des Armées (UMR MD1) et INSERM (U1261), s'intéresse à la membrane des bactéries avec l'objectif de comprendre les bases moléculaires et génétiques du transport membranaire impliquées dans la Multi-Drug Résistance (MDR).

L'unité étudie l'impact des modifications de la perméabilité bactérienne sur la manifestation et le niveau de résistance aux antibiotiques des bactéries et contribue au développement d'outils diagnostiques et de stratégies thérapeutiques pour lutter contre la MDR.

L'équipe de recherche travaille étroitement avec deux plateformes, dont la plateforme BAC-SCREEN que nous vous présentons dans cet article.

### Réaliser des criblages à haut contenu sur des bactéries vivantes

Dans un contexte d'accélération de la résistance aux antibiotiques au début des années 2000, le laboratoire MCT a décidé de se doter d'une plateforme de criblage, avec pour objectif principal l'identification de nouvelles activités antibactériennes susceptibles de répondre à l'enjeu de l'antibiorésistance : la plateforme BAC-SCREEN. En lien avec les activités du laboratoire MCT, elle s'est spécialisée dans la découverte d'inhibiteurs des mécanismes de résistance liés au transport membranaire.

BAC-SCREEN a été créée en 2011, sous la double tutelle de Aix-Marseille Université et de l'Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA) grâce à des financements publics du CNRS (Institut de Microbiologie de la Méditerranée Marseille) et des collectivités locales (CG 13, Mairie de Marseille, Région SUD). Le financement a été complété par le ministère des armées (Service de Santé des Armées) sur le budget propre de l'UMR MD1.

Elle a été spécialement conçue pour réaliser des criblages à haut contenu (ou HCS) sur des bactéries vivantes. Cette puissante méthode de criblage repose sur l'étude des modifications d'un phénotype sans nécessairement connaître la nature moléculaire de la (ou des) cible(s) biologique(s) responsable(s) de ce phénotype. Grâce à la comparaison des profils d'activité obtenus à partir de bactéries contrôles avec ceux obtenus à partir de bactéries présentant un phénotype altéré, il est possible d'identifier des composés prometteurs et d'avoir directement des informations sur leurs mécanismes d'action et, potentiellement, sur leurs cibles biologiques. Un autre avantage de l'approche HCS est qu'elle permet de détecter les composés capables d'atteindre leur cible dans un contexte cellulaire. En effet, un composé qui ne peut traverser la membrane bactérienne n'atteindra

pas les phases précliniques, ce qui permet d'économiser du temps et de l'argent.

Une telle plate-forme académique dédiée aux bactéries et centrée sur le déchiffrement des mécanismes de résistance associés à la membrane bactérienne est unique en France. Elle bénéficie ainsi du soutien du réseau « Plateformes Technologiques du site d'Aix-Marseille » et de l'Institut Microbiologique, Bioénergies et Biotechnologie (IM2B). Par ailleurs, BAC-SCREEN est membre du groupement de recherche (GDR) CNRS GDR 2095 ChemBio, dont l'objectif est de fédérer des équipes et des plateformes de criblage académiques impliquées dans les approches de chimobiologie.

### Prestations et approches développées par la plateforme

BAC-SCREEN s'adresse à des académiques à la recherche d'outils pour comprendre les mécanismes de résistance bactérienne, ainsi qu'à tout secteur industriel à la recherche de nouveaux traitements antibactériens comme l'industrie pharmaceutique ou l'industrie cosmétique ou confronté à des problématiques de sécurité sanitaire comme l'agroalimentaire ou l'environnement.

Le mode de fonctionnement de la plateforme lui permet de leur proposer différents types de prestations :

- Des prestations de service complètes, à partir de l'étude technique du projet jusqu'à l'analyse et l'interprétation des résultats
- L'accès aux locaux et aux équipements
- Le développement de projets scientifiques collaboratifs
- La mise en place de partenariats
- Des formations à l'utilisation des équipements et à la mise en œuvre des méthodologies.

Les approches développées par BAC-SCREEN comprennent :

#### Le criblage de chimiothèques

- Criblage contre des bactéries pathogènes de groupe 2
- Criblages primaires pour l'identification des composés actifs (« Hits »)
- Criblages secondaires et confirmation des touches primaires
- Le développement et miniaturisation d'essais HCS en microplaques à 96 puits

#### La détermination des activités antimicrobiennes et antibiofilms bactériens (MIC, MBIC, MBEC, BPC) par :

- Des méthodes standardisées si disponibles (CLSI, EUCAST)
- Des criblages détaillés contre des panels de souches bactériennes/isolats cliniques (sensibles et multirésistants avec des mécanismes de résistance et des phénotypes différents)
- Le développement de modèles de biofilms bactériens et d'approches pour comprendre comment l'inhibition du biofilm se produit
- Le développement de méthodes sur mesure pour des antibactériens non conventionnels

#### L'étude des interactions entre des composés en combinaison (Isobologramme, FIC Index) par :

- La méthode de l'échiquier
- L'évaluation de la synergie, de l'activité antagoniste & de la potentialisation

#### Des tests phénotypiques d'activité en relation avec la membrane bactérienne et les phénomènes d'efflux actifs

- Etude de l'impact de composés sur la perméabilité et l'intégrité membranaire
- Suivi en temps réel de l'inhibition de l'efflux

#### La chimie médicinale et le design de molécules par :

- La recherche *in silico* d'analogues et des études de relations structure-activité (SAR)
- Des synthèses chimiques (dans des cas spécifiques)

La plateforme BAC-SCREEN s'appuie sur une large collection de bactéries en constante évolution comprenant :

- Des souches bactériennes et des isolats



Pilotage du robot de criblage et collecte de signaux - © Plateforme CRVM et CISAM

cliniques d'origine humaine et vétérinaire à Gram (+) et Gram (-) ;

- Des mutants surproducteurs de mécanismes de résistance associés à la paroi bactérienne (impermeabilité membranaire, pompe d'efflux) ou mutés par délétion de ces mêmes mécanismes.

Elle dispose également :

- D'une collection de sondes membranaires constituée d'anticorps monoclonaux dirigés contre des protéines impliquées dans le transport des antibiotiques ;
- D'une chimiothèque d'environ 1000 molécules issues du laboratoire MCT et augmentée de collaborations externes.

### Une équipe dédiée et un solide équipement

Formée en biologie cellulaire et moléculaire, Véronique Sinou est l'actuelle responsable de la plateforme BAC-SCREEN. Après avoir travaillé de nombreuses années sur la résistance aux médicaments antipaludiques à Marseille dans l'Unité Mixte de Recherche Interactions Hôte-Parasite/Pharmacologie et Thérapeutique (UMR-MD3), domaine dans lequel elle a publié plus de 60 articles scientifiques -, elle a rejoint en 2018 le laboratoire MCT pour diriger la plateforme BAC-SCREEN dédiée au criblage sur bactéries.

L'équipe de BAC-SCREEN est composée de 3 permanents, secondés par une étudiante PhD et par un business developer. Les permanents sont des ingénieurs de recherche et chercheurs spécialisés en microbiologie et en chimie médicinale. La plateforme forme régulièrement des étudiant.e.s motivé.e.s par la thématique de drug-design.

Hébergée au sein du laboratoire MCT, la plateforme BAC-SCREEN bénéficie des supports administratifs et techniques du laboratoire. Elle occupe une surface d'environ 27 m<sup>2</sup> répondant aux normes d'un laboratoire de microbiologie BSL2. En plus de l'équipement classique d'un laboratoire de microbiologie, la plateforme est équipée d'un poste de sécurité microbiologique de class 2 et d'un robot de criblage TECAN EVO 150 à 8 canaux couplé à un lecteur de plaque multimode Tecan Infinite M200 Pro qui offre des solutions de détection des effets biologiques par luminescence, fluorescence et absorbance. Les criblages sont réalisés en plaques 96 puits sur bactéries à l'état planctonique ou de biofilm et permettent de traiter jusqu'à 15 plaques-96 puits/run (soit environ 1200 mesures/run). En 2020-2021, la plateforme marseillaise a reçu des financements du Service de Santé pour acquérir un lecteur de plaques multimode TECAN SPARK équipé d'un module d'injection automatisée et un microscope Statif Leica DM2000 LED.

Le laboratoire MCT se situant à l'interface microbiologie-chimie, il permet à la plateforme BAC-SCREEN l'accès à des équipements complémentaires intégrant une chaîne Agilent série 1100 CPL permettant de déterminer la pureté des échantillons à cribler et un appareillage LC/MS Waters permettant de confirmer la structure des composés sélectionnés par criblage primaire et dont l'activité biologique est confirmée après un criblage secondaire.

### Collaborations et perspectives

BAC-SCREEN est amenée à travailler avec différents secteurs industriels, notamment :

- **Biotechnologies environnementales.** Depuis 2018, BAC-SCREEN et HTS BIO collaborent au travers de prestations de service et de projets collaboratifs qui ont pour objectif l'étude de l'impact de formulations à base de probiotiques sur la contamination de surfaces par des pathogènes. Aujourd'hui, ces formulations sont en cours d'essais *in situ* dans différents structures hospitalières de la région SUD.

- **Cosmétique.** La société NAOS ILS est un acteur international majeur de la dermatologie (marques associées Bioderma, Institut Esthederm et Etat Pur). Cette société fait régulièrement appel à la plateforme BAC-SCREEN pour cribler des actifs et matières cosmétiques sur des souches bactériennes aérobies et anaérobies cutanées.

- **Biotech et Pharma.** Santero Therapeutics est une start-up belge active dans le domaine de la découverte d'antibiotiques et qui développe de nouvelles générations de médicaments pour lutter contre des bactéries pathogènes résistantes. Cette start-up fait régulièrement appel à la plateforme BAC-SCREEN pour obtenir des données relatives à l'activité antibactérienne de candidats médicaments vis-à-vis de panels de souches bactériennes sauvages et mutées et d'isolats cliniques multirésistants.

Par ailleurs, la plateforme collabore avec des académiques tels que l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE), l'ISM2 et l'Institut de Chimie Radicalaire d'Aix-Marseille Université, l'Institut de Chimie de Nice de l'Université Côte d'Azur, l'Institut Pasteur de Paris... dans le cadre de projets de recherche visant à identifier et caractériser des substances naturelles ou de synthèse comme nouvelles classes de composés antimicrobiens.

Le développement de la plateforme marseillaise passe désormais par l'élargissement de son offre de services et l'identification de nouvelles opportunités de collaborations nationales et internationales. Pour ce faire, le poste de business developer a été mis en place pour une durée de 2 ans, financé par Aix-Marseille Université dans le cadre de l'Action de soutien RH aux Plateformes Technologiques portée par la fondation A\*MIDEX. Le recrutement en cours d'une technicienne de laboratoire participe également de cette volonté. Ce renforcement de l'effectif permanent permettra d'enclencher une démarche de certification qualité, afin de rejoindre des structures telles que le Groupement d'Intérêt Scientifique IBISA et ChemBioFrance. De plus, BAC-SCREEN prévoit courant 2023 d'équiper le microscope Statif Leica DM2000 LED d'un illuminateur pour fluorescence. Cet équipement permettra d'identifier, à l'aide de colorations spécifiques, certains phénotypes (par exemple le marquage des cellules vivantes et mortes) et de suivre l'impact de composés d'intérêt sur la viabilité cellulaire à l'intérieur du biofilm.

### Pour en savoir plus :

#### Véronique SINOU

Responsable de la plateforme BAC-SCREEN  
veronique.sinou@univ-amu.fr  
<https://mct.univ-amu.fr/bac-screen/>