

BRÈVES



DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

> Les Brèves suivantes ont été rédigées par les étudiants de master 1 de biologie de l'École normale supérieure (ENS) de Lyon, à l'issue de l'UE microbiologie moléculaire et structurale (2016-2017). Le master de biologie de l'ENS de Lyon, cohabilité par l'université Claude Bernard Lyon 1, accueille chaque année environ 50 étudiants en M1 et en M2 et propose une formation de haut niveau à la recherche en biosciences. Chaque étudiant y construit son parcours à la carte en choisissant ses options parmi un large panel de modules, favorisant ainsi une approche pluridisciplinaire des sciences du vivant, et ce en relation étroite avec les laboratoires de recherche du tissu local, national et international. À partir d'articles scientifiques publiés récemment dans le domaine de l'infectiologie, les étudiants ont travaillé en binômes ou trinômes, accompagnés par l'équipe pédagogique, pour extraire les principaux messages à retenir de ces articles et les transmettre de façon claire aux lecteurs de *médecine/sciences*. Les brèves illustrent ainsi les pistes ou avancées de la recherche dans le domaine de la lutte anti-infectieuse en abordant l'ingénierie des anticorps neutralisants, l'optimisation de ligands viraux assistée par ordinateur, et l'utilisation des bactériophages comme agents antimicrobiens. ◀

**Partenariat
médecine/sciences - Écoles
doctorales - Masters (9)**

**Master 1 de biologie de l'École
normale supérieure de Lyon -
UE microbiologie moléculaire
et structurale**

¹ École normale supérieure de Lyon, département de biologie, Master biologie, Lyon, France ;

² Équipe pathogénèse des légionelles, Centre international de recherche en infectiologie, Université Lyon 1, Inserm U1111 - CNRS UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Lyon, France.

³ Équipe oncogénèse rétrovirale, Centre international de recherche en infectiologie, Inserm U1111 - CNRS UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Lyon, France ; Équipe labellisée Ligue nationale contre le cancer.

* Contributions égales

Équipe pédagogique

Chloé Journo (maître de conférence, ENS de Lyon).

Responsable de l'UE microbiologie moléculaire et structurale.

Christophe Gilbert (maître de conférence, université Claude Bernard Lyon 1).

Aurélien Schwob (doctorant moniteur, ENS de Lyon).

chloe.journo@ens-lyon.fr

**Vers une pharmacopée
anti-infectieuse innovante :
points forts de l'actualité**

Towards an innovative anti-infectious pharmacopoeia: highlights from current research

Léo Bertrand^{1*}, Sarah Bonhomme^{1*}, Florence Brun^{1*}, Auriane Carcone^{1*}, Lucie Fallone^{1*}, Marie-Charlotte Jaeger^{1*}, Marie Naoumenko^{1*}, Kamela Nikolla^{1*}, Laurine Noblecourt^{1*}, Audrey Page^{1*}, Johan Perrier^{1*}, Christophe Gilbert², Aurélien Schwob³

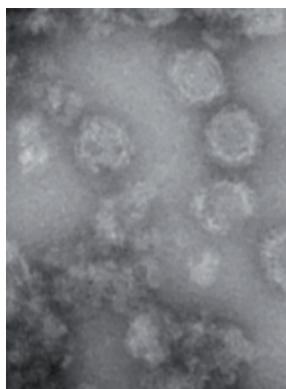
**Optimiser l'efficacité des anticorps
thérapeutiques en modélisant leurs
interactions avec l'antigène : une
nouvelle approche contre la dengue ?**

> **Le virus de la dengue (DENV) est transmis par les moustiques et** induit chez l'hôte infecté des symptômes fébriles et des douleurs musculaires qui peuvent évoluer en une fièvre hémorragique. Bien que la moitié de la population mondiale vive dans une région

à risque d'infection [1], il n'existe pas de vaccin disponible et les traitements ne permettent que de faire décroître les symptômes sans être spécifiques de l'infection. Une piste de recherche est la sérothérapie, c'est-à-dire l'administration, chez le patient atteint de dengue, d'anticorps se fixant sur le virus et le rendant non infectieux, un mécanisme appelé « neutralisation ». Cependant, la sérothérapie est confrontée au mécanisme dit de « facilitation » : si le DENV est lié par un anticorps, mais n'est pas



neutralisé, il peut infecter plus facilement les macrophages, ses cellules cibles, qui expriment des récepteurs pour la région Fc des anticorps [2]. Comme il existe quatre sérotypes différents de DENV, une sérothérapie impose donc l'utilisation d'anticorps de large spectre capables de neutraliser efficacement tous les sous-types. Dans cette optique, Robinson *et al.* [3] ont optimisé les propriétés thérapeutiques d'un anticorps anti-DENV déjà décrit, en modélisant *in silico* la surface d'interaction entre l'anticorps et l'épitope issu des protéines virales d'enveloppe des quatre sérotypes, et en la modifiant par mutagenèse dirigée. Après validation *in vitro*, les auteurs ont montré que l'anticorps réduisait la charge virale chez la souris infectée et bloquait l'apparition de fièvre hémorragique, tout en prévenant la facilitation. Cette étude est notable par



© Inserm-Julien Gaillard et Philippe Roingard

son approche : l'outil bioinformatique et la mutagenèse ont permis de créer un anticorps très efficace ciblant un épitope non immunodominant, contrairement à la plupart des études actuelles qui décrivent des anticorps directement isolés chez des patients et donc limités aux épitopes immunodominants [4]. Ces travaux permettent ainsi d'étendre la bibliothèque des anticorps disponibles et potentiellement utilisables en thérapie. ♦

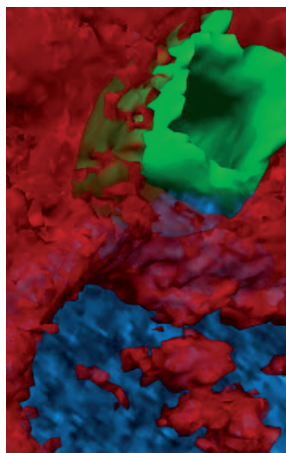
RÉFÉRENCES

1. Bhatt S, *et al.* *Nature* 2013 ; 496 : 504-7.
2. Goncalvez AP, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 9422-7.
3. Robinson LN, *et al.* *Cell* 2015 ; 162 : 493-504.
4. Xu M, *et al.* *npj Vaccines* 2017 ; 2 : 2.

Léo Bertrand, Florence Brun,
Lucie Fallone, Aurélien Schwob

Optimisation de ligands viraux assistée par ordinateur : vers la mise au point de nouveaux inhibiteurs de la grippe

> La grippe, infection aiguë causée par les virus *Influenza*, peut être mortelle. Les inhibiteurs antigrippaux utilisés actuellement induisent l'apparition fréquente de souches virales résistantes et les vaccins disponibles ne ciblent que certains sous-types viraux [1]. Ainsi, le développement de nouvelles molécules antigrippales de large spectre constitue une piste de recherche très active. La diversité virale est notamment portée par le domaine globulaire de l'hémagglutinine (HA), une protéine nécessaire à l'entrée virale. À l'inverse, la tige de HA est conservée chez toutes les souches, et des anticorps reconnaissant la tige de HA neutralisent le virus avant son entrée dans les cellules cibles [2]. Koday *et al.* ont appliqué une approche d'optimisation de ligand assistée par ordinateur pour synthétiser une protéine liant la tige de HA de multiples sous-types avec une forte affinité [3]. Les auteurs ont généré une large banque de mutants à partir d'un ligand de HA déjà connu, ont sélectionné le mutant présentant la meilleure affinité contre sept sous-types de HA et l'ont identifié par séquençage à haut



© Inserm-Rosa Calatrava et Manuel Ressenkoff

débit [4]. La protéine retenue, HB36.6, neutralise diverses souches virales *in vitro* et protège des souris contre des doses létales de diverses souches virales lorsqu'elle est administrée de manière prophylactique, en bloquant l'entrée du virus dans les cellules hôtes et en freinant sa réplication. En utilisation thérapeutique, la protéine exerce un effet synergique avec l'oseltamivir, une autre molécule antivirale commercialisée qui bloque la sortie du virus hors de la cellule. Enfin, l'injection de HB36.6 n'induit aucune réponse inflammatoire qui pourrait interférer avec l'efficacité du traitement. Ainsi, ces données valident la pertinence de l'approche de *design* moléculaire assisté par ordinateur dans le cadre du développement d'inhibiteurs antiviraux efficaces, et indiquent que la molécule HB36.6, en combinaison avec d'autres antiviraux, constitue un traitement prometteur. ♦

RÉFÉRENCES

1. Girard MP, *et al.* *Vaccine* 2010 ; 28 : 4895-902.
2. Krammer F, *et al.* *Curr Opin Virol* 2013 ; 3 : 521-30.
3. Koday MT, *et al.* *PLoS Pathog* 2016 ; 12 : e1005409.
4. Whitehead TA, *et al.* *Nat Biotechnol* 2012 ; 30 : 543-8.

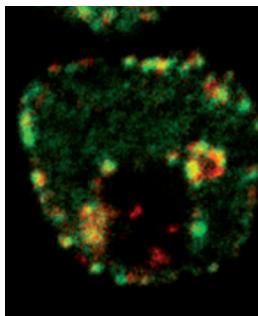
Sarah Bonhomme,
Marie-Charlotte Jaeger,
Johan Perrier, Aurélien Schwob



Le phage KTN4, un candidat prometteur dans la lutte contre les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa* ?

> L'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques

utilisés pour les combattre est une source d'inquiétude croissante en santé publique. C'est le cas par exemple de *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie gram négative présente dans l'environnement sous forme d'agrégats bactériens entourés d'une matrice extracellulaire protectrice (biofilms bactériens), et responsable d'infections nosocomiales essentiellement pulmonaires [1, 2]. Ainsi, le nombre de souches de *P. aeruginosa* résistantes aux carbapénèmes (β -lactamines) s'accroît chaque année, appelant d'urgence de nouveaux traitements. Dans ce contexte, la phagothérapie, décrite par d'Hérelle au début du xx^e siècle, connaît un regain d'intérêt, certains phages synthétisant des enzymes lytiques capables d'hydrolyser la matrice du biofilm [1]. Des essais *in vitro* ont ainsi démontré l'efficacité de bactériophages lytiques de la famille des *Myoviridae* contre les biofilms de *P. aeruginosa* présents sur les dispositifs médicaux comme les cathéters [3]. Récemment, Danis-Wlodarczyk *et al* ont proposé le



© Inserm-Claudie Lemerrier

phage KTN4, membre des *Myoviridae* nouvellement isolé, comme candidat pour le traitement d'infections pulmonaires à *P. aeruginosa* [4]. En combinant des techniques de caractérisation biophysique du biofilm bactérien *in vitro* et des modèles *in vitro* et *in vivo* d'infection, les auteurs ont confirmé la pertinence de ce phage pour limiter la formation de biofilms et la virulence bactérienne. Même si les applications cliniques restent sujettes à interrogations, la sécurité et les doses à injecter étant difficiles à évaluer, la découverte de nouveaux phages efficaces contre plusieurs souches de *P. aeruginosa*, dont celles résistantes aux antibiotiques, pourrait permettre l'utilisation de la phagothérapie sur les équipements médicaux et/ou en traitement des infections pulmonaires chez les patients. ♦

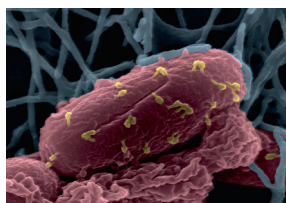
RÉFÉRENCES

1. Harper D, *et al. Antibiotics* 2014 ; 3 : 270-84.
2. Pires DP, *et al. J Virol* 2015 ; 89 : 7449-56.
3. Fu W, *et al. Antimicrob Agents Chemother* 2010 ; 54 : 397-404.
4. Danis-Wlodarczyk K, *et al. Sci Rep* 2016 ; 6 : 28115.

Auriane Carcone, Audrey Page, Christophe Gilbert

Le développement d'une résistance immunitaire contre les phages peut-il limiter l'efficacité de la phagothérapie ?

> Le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) est une bactérie de l'environnement, de la flore cutanée et des muqueuses externes. La majorité des individus sont porteurs sains ; néanmoins, en contexte d'immunodépression, ou après une intervention chirurgicale, des infections graves à *S. aureus* peuvent se développer. De plus, *S. aureus* est responsable d'infections nosocomiales difficiles à combattre du fait des nombreuses souches multirésistantes aux antibiotiques. Face au risque sanitaire, une alternative de traitement des infections à *S. aureus* est réévaluée : la phagothérapie, qui consiste à utiliser un ennemi naturel des bactéries, les bactériophages, virus spécifiques de certaines espèces [1]. Leur utilisation permettrait d'éradiquer uniquement l'espèce bactérienne ciblée, contrairement aux antibiotiques à large spectre, actifs aussi contre des espèces bénéfiques de la flore commensale. Plusieurs travaux ont confirmé l'efficacité de phages spécifiques de *S. aureus*, utilisés individuellement ou en association [2, 3]. Cependant, l'hypothèse d'une efficacité limitée par le pouvoir neutralisant des anticorps humains antiphages



© Laurent Debarbieux

induits lors du traitement a été émise [4]. Żaczek *et al.* ont alors examiné la réponse immunitaire humorale de vingt patients infectés par *S. aureus* et traités par une association de trois phages, par voie orale et/ou locale [3]. Dans tous les cas, la phagothérapie a engendré la production d'anticorps IgG et IgM, mais pas d'IgA, dirigés contre les phages et montrant un pouvoir neutralisant *in vitro*. Étonnamment, des taux élevés d'anticorps n'ont pas été synonymes d'échec du traitement, certains patients étant en rémission complète. Ainsi, *in vivo*, aucune corrélation n'a pu être établie entre la réponse immunitaire antiphages et l'issue du traitement. La phagothérapie, en tant que traitement alternatif des infections à bactéries multirésistantes, reste donc une piste prometteuse. ♦

RÉFÉRENCES

1. Housby JN, *et al. Drug Discov Today* 2009 ; 14 : 536-40.
2. Kutateladze M, *et al. Med Mal Infect* 2008 ; 38 : 426-30.
3. Żaczek M, *et al. Front Microbiol* 2016 ; 7 : 1681.
4. Sulakvelidze A, *et al. Ann Med* 2001 ; 33 : 507-9.

Marie Naoumenko, Kamela Nikolla,
Laurine Noblecourt, Christophe Gilbert