

# L'UTILISATION DES NANOTECHNOLOGIES POUR COMPRENDRE ET VAINCRE L'ADHÉSION DE LA BACTÉRIE PATHOGÈNE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

LE PROFESSEUR YVES DUFRÈNE EST UN CHERCHEUR EN NANOBIOPHYSIQUE QUI S'INTÉRESSE A CERTAINES SOUCHES BACTÉRIENNES DU STAPHYLOCOQUE DORÉ - STAPHYLOCOCCUS AUREUS - RÉSISTANTES À LA MÉTHICILLINE (MRSA). BASÉ AU **LOUVAIN INSTITUTE OF BIOMOLECULAR SCIENCE AND TECHNOLOGY**, EN BELGIQUE, SON TRAVAIL CONSISTE À TROUVER DE NOUVEAUX MOYENS POUR LUTTER CONTRE CES AGENTS PATHOGÈNES ET CONTRECARRER LEUR CAPACITÉ À S'ACCROCHER AUX DISPOSITIFS MÉDICAUX ET À PROVOQUER DES INFECTIONS POTENTIELLEMENT MORTELLES.

Les *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (MRSA) sont des bactéries pathogènes qui présentent un niveau élevé de résistance aux antibiotiques. Cette situation est très préoccupante car il est extrêmement difficile de mettre au point de nouveaux antibiotiques, les derniers s'étant révélés efficaces dans le traitement des infections bactériennes remontant à quelques années maintenant. Par conséquent, lorsque des bactéries s'avèrent résistantes aux antibiotiques existants, la source d'inquiétude est grandissante et alarmante face à notre incapacité à trouver de nouveaux traitements alternatifs pour sauver la vie de certains patients.

Le MRSA est un membre important d'une classe émergente de superbactéries à l'origine d'infections nosocomiales qui ont, très vite, alerté les cliniciens du monde entier. Ces infections à MRSA impliquent souvent la formation de communautés multicellulaires adhérentes, appelées biofilms, sur les tissus et les dispositifs médicaux implantés tels que les cathéters veineux centraux et les prothèses articulaires. Globalement, on estime en effet

que les biofilms bactériens sont impliqués dans plus de 65 % des infections nosocomiales ! Les infections à MRSA liées aux biofilms représentent une difficulté majeure pour les cliniciens, car les cellules sont protégées des défenses de l'hôte au sein de cette communauté bactérienne et y sont davantage résistantes à nombre d'antibiotiques, rendant leur traitement et leur éradication extrêmement compliqués. De plus, lorsque cet agent pathogène pénètre dans la circulation sanguine, et ainsi se dissémine, il peut alors déclencher des infections graves, notamment des endocardites et septicémies, menant à leur tour à des lésions tissulaires sévères, des défaillances d'organes et potentiellement la mort du patient.

C'est avec ces préoccupations à l'esprit que le professeur Yves Dufrene, basé au Louvain Institute of Biomolecular Science and Technology, UCLouvain, Belgique, a élaboré un projet de recherche, financé par l'ERC (Conseil Européen de la Recherche), qui vise à comprendre et à prévenir l'adhésion de ces superbactéries et la formation consécutive de biofilms bactériens. Les résultats de ce projet pourraient ouvrir la voie au développement de

nouvelles thérapies alternatives, antiadhésives, en complément des traitements antibiotiques actuels, contribuant ainsi à sauver la vie d'innombrables patients et à garantir des environnements plus sains et propres au sein des hôpitaux.

## QUELLES SONT LES PRINCIPALES QUESTIONS AUXQUELLES YVES TENTE DE RÉPONDRE ?

Afin de répondre à cette problématique des biofilms bactériens, Yves vise à comprendre comment le MRSA parvient à s'attacher si fortement aux dispositifs médicaux et aux tissus hôtes, en regardant « de plus près » le rôle de certaines protéines d'adhésion (appelées adhésines) qui décorent la surface bactérienne. « Nous avons tenté de comprendre les mécanismes moléculaires qui conduisent à l'adhésion spécifique des staphylocoques aux protéines humaines, telles que la fibronectine et le fibrinogène, qui recouvrent souvent les dispositifs implantés », explique Yves. « En outre, nous souhaitons vivement identifier et caractériser de nouvelles molécules (peptides, anticorps) qui permettraient de spécifiquement bloquer cette adhésion », poursuit-il.



## PROFESSEUR YVES DUFRÊNE

Louvain Institute of Biomolecular Science and Technology, UCLouvain, Belgique

### DOMAINES DE RECHERCHE

Nanosciences, Biophysique, Microbiologie

### PROJET DE RECHERCHE

Les recherches de Yves visent à repousser les limites des nanotechniques au-delà de la connaissance actuelle afin d'en faire des plateformes innovantes pour comprendre comment des pathogènes tels que le MRSA utilisent leurs adhésines de surface pour guider l'adhésion cellulaire et déclencher des infections, et pour développer des stratégies antiadhésion pour traiter les infections par biofilm.

### FINANCEUR

Conseil Européen de la Recherche (ERC)

## QUELLES SONT LES TECHNIQUES DÉVELOPPÉES PAR L'ÉQUIPE DE YVES?

Au cours des 20 dernières années, Yves et son équipe de recherche ont travaillé au développement de techniques de microscopie à force atomique (ou AFM pour Atomic Force Microscopy en anglais) pour étudier un large éventail d'aspects microbiologiques, notamment les propriétés structurales, adhésives et mécaniques des surfaces microbiennes. « En ce qui concerne l'adhésion bactérienne, nous avons établi deux approches complémentaires pour étudier les interactions entre les protéines adhésives bactériennes et les protéines humaines auxquelles elles se lient. Dans la première approche, nous plaçons une seule bactérie *S. aureus* vivante sur une sonde AFM, puis nous mettons cette sonde cellulaire en contact avec un substrat sur lequel nous avons greffé une protéine de l'hôte humain. En approchant puis en éloignant la cellule de la surface, nous pouvons quantifier la force physique par laquelle l'adhésine bactérienne se lie à la protéine humaine », explique Yves. « Dans la deuxième approche, nous greffons la protéine humaine sur la sonde AFM, puis nous la mettons en contact avec une cellule isolée de *S. aureus*. Cette méthode nous permet d'étudier la force et la dynamique d'interactions uniques entre adhésines et ligands et de cartographier, par identification de ces interactions spécifiques, l'emplacement des adhésines à la surface des cellules bactériennes » poursuit-il.

Récemment, l'équipe a découvert que certaines adhésines des staphylocoques ont la capacité de se lier à leurs protéines humaines cibles avec des forces très importantes, de l'ordre de celles mises en jeu dans les liaisons covalentes. La durée de vie de ces fortes liaisons augmente lorsqu'elles sont soumises à un stress physique croissant. Ces liaisons dites « d'accroche » (ou catch bonds en anglais) représentent un mécanisme inhabituel et contre-intuitif qui permet à la bactérie de renforcer son pouvoir adhésif, et donc invasif, en cas de contraintes mécaniques, comme celles associées à la

circulation sanguine ou au renouvellement de l'épithélium.

## ANALYSE DE L'ARCHITECTURE DE LA SURFACE BACTÉRIENNE À L'ÉCHELLE NANOMÉTRIQUE

Tel un lecteur de vinyle, qui, en balayant un disque à l'aide d'un diamant, produirait un son, l'AFM permet d'obtenir des images topographiques grâce à une sonde (ou pointe) extrêmement fine, qui balaie la surface d'un échantillon, et en détaille les contours avec une résolution nanométrique et dans des conditions physiologiques aqueuses. L'AFM est une technique d'imagerie à super-résolution, ce qui signifie que l'équipe peut produire des images extrêmement détaillées de la topographie tridimensionnelle de la surface de cellules microbiennes vivantes et donc révéler des caractéristiques beaucoup plus fines que celles traditionnellement obtenues par des techniques de microscopie optique. Qui plus est, des avancées récentes ont mené à la mise au point de l'imagerie AFM multiparamétrique: les chercheurs peuvent ainsi produire simultanément des images qui montrent non seulement la topographie de la surface bactérienne mais également ses propriétés adhésives et mécaniques.

## QU'ONT RÉVÉLÉ LES RECHERCHES DE YVES ?

L'équipe a fait de nombreuses découvertes passionnantes ces dernières années. « Nous avons été les premiers à constater que certaines adhésines des staphylocoques se liaient spécifiquement aux protéines humaines avec une extrême stabilité mécanique : les liaisons qu'elles forment sont aussi fortes que les liaisons covalentes qui maintiennent les acides aminés ensemble dans le squelette polypeptidique d'une protéine », explique Yves. « C'est un phénomène unique pour une interaction récepteur-ligand, qui explique la capacité des staphylocoques à former des biofilms mécaniquement stables. Quant à la thérapie antiadhésion, nous avons démontré comment des peptides et des anticorps

spécifiques pouvaient bloquer efficacement la liaison spécifique des adhésines à leurs cibles. Cette découverte est prometteuse pour le développement d'agents antiadhésion ciblant les infections à staphylocoques », poursuit-il.

## QUELLES SONT LES PROCHAINES ÉTAPES ?

Comme vous pouvez vous en douter, l'équipe est extrêmement enthousiasmée par la récente découverte de la première adhésine présentant un comportement « d'accroche ». Leur intention est d'élargir ces connaissances et de déterminer si un mécanisme de liaison aussi inhabituel pourrait être utilisé par d'autres adhésines, pour exacerber la pathogénicité. Ils recherchent également de nouveaux peptides et anticorps qui pourraient empêcher l'adhésion et la formation de biofilms. En cas de succès, de telles études ouvriraient la voie à des traitements prometteurs, alternatifs aux antibiotiques actuels, pour lutter contre les infections à MRSA et ainsi préserver et / ou améliorer la qualité de vie des patients.

# LES NANOTECHNOLOGIES AU SERVICE DE LA MICROBIOLOGIE

Les microbes étant extrêmement petits, et donc invisible à l'œil nu, leur étude a largement bénéficié de l'émergence des nanotechnologies. Dans les années 1980, des avancées technologiques majeures ont grandement aidé les scientifiques dans leur quête pour la caractérisation de l'infiniment petit, notamment le développement du microscope à effet tunnel (ou STM pour Scanning Tunneling Microscope en anglais), qui a permis d'observer et de manipuler des atomes individuels (les inventeurs du STM ont reçu un prix Nobel par la suite). Le développement de la microscopie à force atomique (ou AFM pour Atomic Force Microscopy) a, par la suite, permis des observations, en milieu physiologique, indispensables pour les études en microbiologie. Cette technique exploite une fine pointe pour balayer la surface de l'échantillon avec des forces ultra-petites et ainsi obtenir des images topographiques avec une résolution de quelques nanomètres seulement. L'AFM est également une technique ultrasensible de mesure de force, une approche connue sous le nom de spectroscopie de force. Dans cette configuration de l'AFM, il est possible de cartographier la distribution d'interactions récepteur-ligand uniques et spécifiques, telles que les liaisons adhésine -protéine hôte mais également de quantifier les forces d'interaction entre ces molécules.

## Y A-T-IL EU DES MOMENTS « EURÊKA ! » DANS LA CARRIÈRE DE YVES ?

Bien sûr ! En réalité, ils sont probablement trop nombreux pour être tous mentionnés ici. Il y a, par exemple, eu la découverte des interactions ultra-stables entre les protéines d'adhésion bactériennes

et les protéines hôtes, la découverte de molécules antiadhésion, qui pourraient un jour appuyer l'usage des antibiotiques dans le traitement des superbactéries multirésistantes, et la première preuve expérimentale d'un lien d'accroche entre une adhésine sur une bactérie vivante et sa protéine cible. Mais les découvertes ne s'arrêtent pas là ! « Par exemple, nous avons réalisé des travaux très intéressants sur les levures, où nous avons mis en lumière les forces d'interactions mises en jeu dans leur sexualité », explique Yves. « La technologie AFM s'améliore continuellement ; ainsi, la microscopie à force fluide, utilise des sondes à microcanaux avec des ouvertures de taille micro- ou nanométrique permettant une manipulation réversible et une analyse rapides de cellules uniques, poursuit-il.

Il s'agit clairement d'un domaine propice à l'innovation et aux nouvelles découvertes. Si vous souhaitez apporter des contributions significatives à une branche particulière de la biologie moléculaire et cellulaire, ce domaine pourrait être celui qu'il vous faut !

## QU'EST-CE QUE YVES TROUVE LE PLUS GRATIFIANT DANS SON TRAVAIL ?

Le travail de Yves est véritablement pluridisciplinaire. Il s'appuie fortement sur des collaborations avec des microbiologistes du monde entier, qui lui fournissent entre autre des souches cliniques et des mutants bactériens mais qui enrichissent également les résultats obtenus par AFM avec des tests biologiques, d'ensemble, plus traditionnels. Il est gratifiant de savoir que les travaux de son équipe auront probablement

des répercussions positives sur le plan non seulement scientifique mais également sociétal et économique. Sur un plan plus personnel, Yves apprécie de travailler en étroite collaboration avec de jeunes chercheurs, en début de carrière, et de les aider à réaliser leurs ambitions, à développer leurs compétences et s'épanouir pleinement en tant que scientifiques. En particulier, son ancien doctorant, David Alsteens, est maintenant Professeur à l'UCLouvain. Ils partagent les mêmes locaux et instruments, même si les recherches de David, également financées par l'ERC, portent principalement sur les virus.

## QUELS SONT LES PROBLÈMES AUXQUELS EST CONFRONTÉE LA PROCHAINE GÉNÉRATION DE NANOMICROBIOLOGISTES ?

Pour ceux d'entre vous qui souhaitent faire carrière dans ce domaine, les challenges sont nombreux et portent, par exemple, sur notre capacité à combiner l'AFM et la nanoscopie optique, qui permet de sonder la localisation et le mouvement de molécules uniques au sein des cellules vivantes avec une résolution de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres », explique Yves. « En combinant l'AFM et la nanoscopie optique, les chercheurs pourront sonder à la fois les structures intracellulaires et extracellulaires, avec des résolutions sans précédent, permettant ainsi l'étude de leur organisation, leur dynamique et leurs interactions au sein de cellules individuelles mais également entre cellules, et ce à l'échelle de la molécule unique », poursuit-il.

## COMMENT S'IMPLIQUER DANS LA NANOBIOPHYSIQUE ET LA MICROBIOLOGIE

- UnderstandingNano comprend une série d'informations relatives à la grande variété des domaines d'intérêt spécifiques aux nanotechnologies : <https://www.understandingnano.com/resources.html>
- Les sociétés savantes sont un bon endroit pour commencer à faire des recherches sur un domaine dans une perspective large.
- La Société Américaine de Microbiologie (ou ASM pour American Society of Microbiology en anglais) est la plus ancienne et la plus importante organisation dans le domaine des sciences de la vie: <https://asm.org>
- La Microbiology Society fournit de nombreuses informations, notamment une page consacrée aux carrières : <https://microbiologysociety.org>

## DE L'ÉCOLE À LA NANOTECHNOLOGIE, BIOPHYSIQUE ET MICROBIOLOGIE

Yves concède que son domaine est tellement multidisciplinaire qu'il est pratiquement impossible de suggérer la bonne voie à suivre pour y parvenir! Toutefois, des connaissances en biologie, physique et chimie seront d'une utilité évidente. À l'université, suivre un cursus de bio-ingénierie pourrait donc être un bon moyen de faire ses premiers pas dans le nanomonde.

Les matières pertinentes sont la physique, la chimie, la biophysique, la microbiologie et l'ingénierie. <https://targetjobs.co.uk/careers-advice/job-descriptions/454437-nanoscientist-job-description>

# COMMENT YVES EST-IL DEVENU NANOBIOPHYSICIEN ?

## QUELS ÉTAIENT VOS CENTRES D'INTÉRÊT LORSQUE VOUS ÉTIEZ ENFANT ?

Depuis mon plus jeune âge, j'ai toujours été fasciné par la nature, je rêvais souvent et j'étais dans mes pensées. À l'adolescence, j'étais quelque peu en marge de mes camarades, car nous semblions avoir des intérêts très différents. Puis, à l'âge de 16 ans, j'ai découvert la spéléologie extrême. En immersion pendant une semaine dans une grotte alpine, j'ai fait de nombreuses découvertes, de nouvelles salles et de nouveaux passages, une expérience passionnante qui m'a permis de m'ouvrir à de nouvelles personnes tout aussi passionnées que moi par la spéléologie, l'escalade et la randonnée.

## AVIEZ-VOUS UN LIVRE PRÉFÉRÉ DANS VOTRE ENFANCE ?

En dehors de la science, c'est la musique qui m'a toujours passionné, plus que la lecture. Mes intérêts musicaux actuels sont variés, de Pink Floyd à AC/DC, en passant par la musique électronique et baroque !

## QUI OU QUOI VOUS A INSPIRÉ À DEVENIR UN SCIENTIFIQUE ?

À 10 ans, j'ai reçu de mes parents mon premier microscope (que vous pouvez voir sur mon site web). Cette expérience a changé ma vie à bien des égards et j'ai appris à aimer observer, par l'objectif, ce qui m'entourait et m'était jusqu'à présent

inaccessible, telles les bactéries. Plus tard, en tant qu'étudiant, doctorant puis post-doctorant, j'ai été extrêmement inspiré par mes mentors, ce qui m'a mené sur divers chemins de recherche, mais ce tout premier microscope aura scellé ma motivation et ma passion pour comprendre et en connaître toujours plus sur le monde vivant. D'aussi loin que je me souviens, j'ai toujours pensé que la science était un moyen extraordinaire pour laisser libre cours et exprimer son imagination et sa créativité. L'une de mes citations préférées est celle d'Albert Einstein : « L'imagination est plus importante que la connaissance. Car la connaissance est limitée, tandis que l'imagination englobe le monde entier ».

## QUELS SONT LES ATTRIBUTS QUI ONT FAIT DE VOUS UN SCIENTIFIQUE ACCOMPLI ?

J'aborde toutes mes études avec passion, excitation, intensité et enthousiasme, ce qui m'a bien servi tout au long de ma carrière. Il y a aussi le fait que je travaille parfois (mais de moins en moins) sept jours sur sept, et il est clair que nous ne faisons pas cela pour l'argent ! Il est extrêmement important d'apprécier la science et d'aimer ce que l'on fait, quels que soient les moments, de doute ou de joie.

## COMMENT SURMONTEZ-VOUS LES OBSTACLES DANS VOTRE TRAVAIL ?

Il faut être patient dans ses recherches et

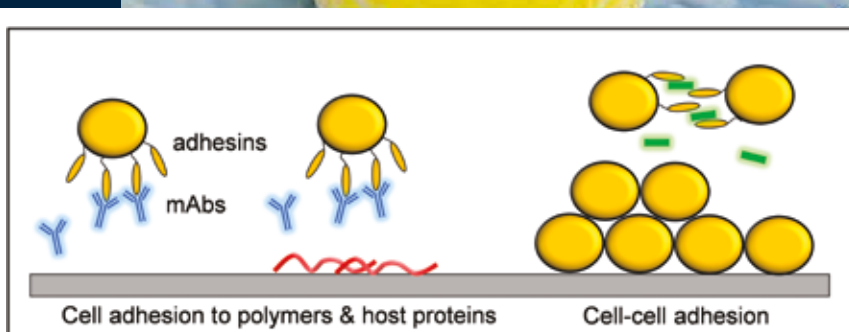
accepter d'échouer parfois. En effet, les échecs peuvent mener à des découvertes de premier ordre ! Pendant mon temps libre, j'aime faire du jogging et du yoga, il est important de trouver un moyen de se détendre de temps en temps. En été, j'aime beaucoup faire des randonnées en solitaire dans les montagnes, et ce parfois pendant des semaines !

## QUELLE EST LA RÉALISATION DONT VOUS ÊTES LE PLUS FIER DANS VOTRE CARRIÈRE ?

Il y a quelques années, j'ai obtenu un financement du Conseil Européen de la Recherche (ERC) de l'Union Européenne. Cela m'a permis, ainsi qu'à mon équipe, de stimuler nos recherches sur l'adhésion et l'antiadhésion des staphylocoques en utilisant les outils de la nanotechnologie. Ceci a donné lieu à des publications passionnantes. En plus, je suis très heureux des possibilités qu'elle a offertes et qu'elle continuera probablement d'offrir à l'avenir. Je suis également très reconnaissant d'avoir eu, et de toujours avoir, l'occasion de travailler avec de jeunes chercheurs passionnés et motivés, au sein de mon équipe, ainsi qu'avec des collaborateurs du monde entier. Enfin, la communauté de la nanobiophysique basée sur l'AFM est relativement petite, ce qui signifie que les conférences et les réunions dans ce domaine sont toujours passionnantes d'un point de vue intellectuel et social.

## LES MEILLEURS CONSEILS D'YVES

- 01 Abordez vos études avec imagination, passion, excitation et enthousiasme. On croit parfois que la science ne repose que sur des connaissances bien établies et une pensée ultra-critique, mais d'après mon expérience, c'est un domaine qui permet également de mettre en jeu des compétences artistiques.
- 02 Exploiter et développer la capacité à collaborer avec vos pairs et à communiquer efficacement avec vos collègues vous servira tout au long de votre carrière. De bonnes compétences en anglais écrit et parlé sont essentielles car c'est la langue internationale des scientifiques.
- 03 Le travail d'un scientifique peut être difficile et parfois frustrant, mais vous devriez toujours essayer de vous amuser dans tout ce que vous faites !



Formation et inhibition des biofilms à *Staphylococcus aureus*. On voit des bactéries (cercles jaunes) sur des surfaces polymères recouvertes de protéines hôtes (rouge), ainsi que des colonies bactériennes (à droite). Ces étapes peuvent être inhibées par des anticorps monoclonaux (mAbs, bleu) et des peptides (vert).