



Société Française
de Microbiologie



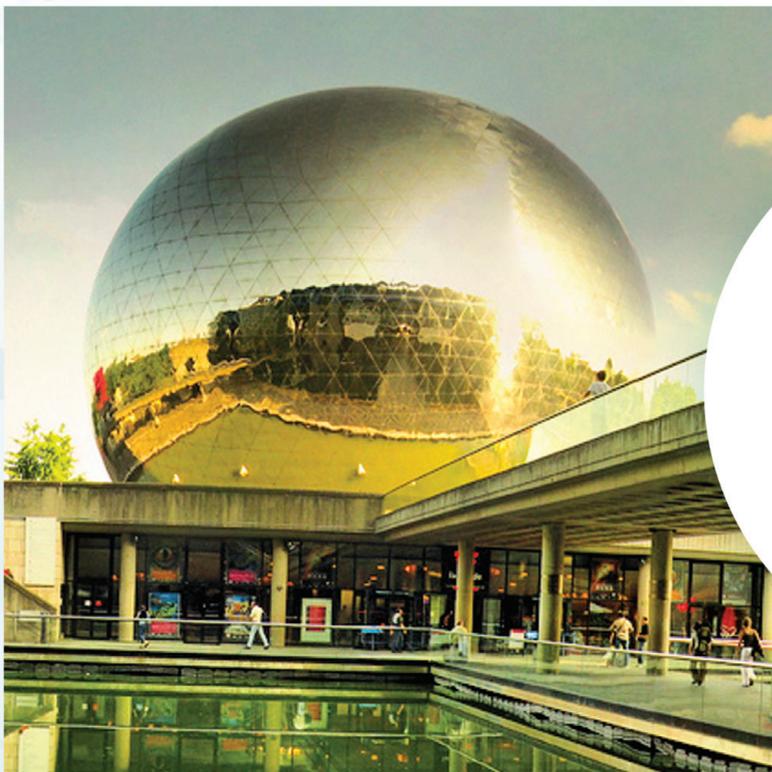
www.alphavisa.com/sfm/2019

Du 30 septembre au 2 octobre **2019**

MICROBES

15^e congrès national
de la SFM ●●●●●

Cité des sciences et de l'industrie, Paris 19^{ème}



LIVRE DES RÉSUMÉS

Programme

●
Résumés
des communications

●
Listes des participants,
sponsors
et exposants

En association avec :



PANTHER FUSION[®]

Exécuter simultanément plusieurs analyses avec un système totalement automatisé de l'échantillon au résultat.



Consolider

vos analyses de biologie moléculaire, grâce à un menu de tests toujours plus large.

IST

CT/NG, CT, NG
TV
M. genitalium
HSV 1 & 2

Respiratoire

Influenza A/B/RSV
Parainfluenza 1-4
AdV/hMPV/RV
Bordetella

Santé de la femme

HPV
HPV GT 16 18/45
Panel BV
Panel CV/TV

Charge Virale

HIV-1 Quant Dx
HCV Quant Dx
HBV Quant
CMV*

Other

Zika virus

Fonction Open Access

Développement de protocoles
et de tests personnalisés

Infection Nosocomiale

MRSA

Gastro-intestinal

Panel Bactérien*
Panel Bactérien Etendu*
Panel Viral*
Panel Parasitaire*

*en développement



BIENVENUE

Cher(e)s ami(e)s microbiologistes,

J'ai le plaisir de vous accueillir au **15^e congrès de la Société Française de Microbiologie « Microbes » du lundi 30 septembre au mercredi 2 octobre 2019.**

Cette année encore, nous l'organisons à la Cité des Sciences et de l'Industrie à la Villette à Paris. Ce congrès est l'occasion de réunir les disciplines microbiologiques dans un programme scientifique riche et pluriel en vous proposant des parcours dédiés aux facettes spécifiques de la microbiologie. Pour cela, nous sommes heureux d'accueillir plusieurs Associations et Sociétés Savantes partenaires.

En avant-première du congrès nous organisons un forum carrière pour les jeunes microbiologistes avec les témoignages de microbiologistes travaillant aussi bien dans le monde médical, la recherche et l'industrie. Une session dédiée au prix poster est aussi programmée.

Autre nouveauté : des jeux pédagogiques seront proposés pour tester vos connaissances.

Enfin, une session dédiée aux innovations industrielles, et l'exposition vous permettront de vous tenir au courant des derniers progrès en réactifs, technologies et matériels pour les laboratoires.

Nous avons fait en sorte que les sessions thématiques, les communications libres orales ou affichées, et les instants de pause constituent pour chacun d'entre vous des moments riches d'échanges autour de toutes les facettes de la microbiologie

Les membres du comité d'organisation et du comité scientifique se joignent à moi pour vous souhaiter, à toutes et tous, la bienvenue et un excellent congrès 2019.

*Gérard Lina,
Président de la SFM*

UN-Series

Solutions modulaires en biologie
urinaire et liquides biologiques



- Dépistage et détection des infections urinaires avec indication du Gram
- Différenciation cellulaire performante
- Analyse rapide, précise et détaillée
- Quantification des bactéries et approche formule leucocytaire dans les liquides biologiques
- Gestion intelligente des données avec le logiciel expert U-WAM



www.sysmex.fr

Dispositifs médicaux de Diagnostic in vitro · Lire attentivement les instructions figurant dans les manuels d'utilisation.

Fabricant : Sysmex Corporation, Japon · Mandataire : Sysmex Europe GmbH, Allemagne. Numéro interne : UNSeries.SFM.FR-09/2019

REMERCIEMENTS

Les Comités d'Organisation et Scientifique remercient vivement les **sponsors et exposants** pour leur soutien dans le cadre du 15^e congrès national de la SFM.

Sponsors



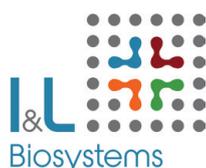
Exposants



REMERCIEMENTS

Les Comités d'Organisation et Scientifique remercient vivement les **exposants** pour leur soutien dans le cadre du 15^e congrès national de la SFM.

Exposants





Dans la cadre de sa mission de développement de la transmission de la Microbiologie, la SFM organise des sessions « Serious Games » où vous pourrez selon votre spécialité tester les jeux suivants :

«BacteriaGame»

Un jeu créé à l'Université Paris 13 sur les classifications bactériennes destiné aux étudiants en médecine et pharmacie débutants et en spécialisation.

«Dawaa»

Un jeu créé à l'Université de Paris d'infectiologie destiné aux étudiants en médecine en spécialisation.

«Drugs versus Bugs»

Un jeu créé à la Mahidol-Oxford Research Unit, de vulgarisation scientifique ayant pour but d'acquérir des connaissances sur les résistances aux antibiotiques.

«Krobs»

Un jeu créé au CHUV de Lausanne de vulgarisation scientifique sur la microbiologie,

«Le jeu des 7 familles»

Un jeu créé à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes visant à rassembler par grandes familles (Gram+, Gram-, Virus ARN, etc.) les micro-organismes d'intérêt en microbiologie vétérinaire pour les étudiants en première année.

A votre arrivée et durant le congrès, si vous souhaitez participer, vous pourrez vous inscrire sur le planning au niveau des tables de jeu situées sur le stand « **Serious Games** » n°42 au niveau S2 durant les sessions souhaitées.

Ces sessions d'environ 20 min seront organisées durant les pauses à raison de deux jeux par pause. Pour ceux qui ne souhaitent pas jouer, des posters explicatifs seront présents pour expliquer les jeux à côté des tables. De plus, le Jeu de plateau « **TIAC & coupables** » sera en présentation le mardi 1^{er} octobre (jeu développé à Oniris pour les vétérinaires & ingénieurs en spécialisation, consistant à retrouver l'agent responsable d'une toxi-infection alimentaire).

Au plaisir de tenter cette expérience ludique avec vous !

Mathilde Lescat et Michel Federighi

LUNDI 30 SEPTEMBRE	
NS1 Niveau S1	NS1-S2 Niveaux S1 et S2
Salle AB Salle AB - Niveau S2	AG Berger Amphhi. Gaston Berger - Niveau S2
LA Est Salle Louis Armand Est - Niveau S3	LA Ouest Salle Louis Armand Ouest - Niveau S3
Salle 1 Salle 1 - Niveau S3	Salle 3 Salle 3 - Niveau S3
Salle 2 Salle 2 - Niveau S3	Salle 4 Salle 4 - Niveau S3
12h00-15h00 Forum "Carrières en Microbiologie" 13h30-16h00 Accueil des participants 16h00-17h30 Conférences plénières - <i>Chris Bowler et Matthias Fischer</i> 17h30-19h00 AUDITION Prix de thèse 19h00-20h00 Cocktail de bienvenue	
	NS1
	AG Berger
	AG Berger
	NS1

MARDI 1^{er} OCTOBRE									
Accueil des participants NS1									
07h45-08h30	SP1.1 - AGENTS ANTIMICROBIENS	SP1.2 - ANTIMICROBIAL AGENTS	SP1.3 - MICROBIOTE ET TOXICOLOGIE	SP1.4 - MICROBIAL PATHOGENESIS and FUNDAMENTAL MICROBIOLOGY	SP1.5 - MICROBIOTE ET TOXICOLOGIE	SP1.6 - MICROBIAL PATHOGENESIS and FUNDAMENTAL MICROBIOLOGY	SP1.7 - AGENTS ANTIMICROBIENS	SP1.8 - MICROBIOTE ET TOXICOLOGIE	SP1.9 - AGENTS ANTIMICROBIENS
08h30-10h00	Nouvelles cibles en thérapeutiques anti-infectieuses (SFP) LA Est	New technologies in microbiology LA Ouest	Structural biology for developing novel antimicrobial agents Salle 1	Aliments fermentés Salle 2	Microbiote intestinal : un promoteur de toxicité ? (STCM) Salle 3	Modulation of cell signalling pathways by microbes (SfV) Salle 2	Microbiotes et exposition aux xénobiotiques (STCM) Salle 3	Actualités référentiels et observatoire SFM (SFMM/SFPT) Salle AB	Thérapeutiques antifongiques (SFMM/SFPT) Salle AB
10h00-10h45	Pause café - Visite exposants - Posters NS1-S2								
10h45-12h15	SP6.1 - MICROBIOLOGIE ENVIRONNEMENTALE ET ÉCOLOGIE MICROBIENNE	SP1.4 - ANTIMICROBIAL AGENTS	SP2.2 - MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS	SP5.2 - MICROBIAL PATHOGENESIS and FUNDAMENTAL MICROBIOLOGY	SP3.2 - MICROBIOTE ET TOXICOLOGIE	SP4.2 - MICROBIOLOGIE CLINIQUE	SP1.3 - AGENTS ANTIMICROBIENS	SP4.2 - MICROBIOLOGIE CLINIQUE	SP1.3 - AGENTS ANTIMICROBIENS
12h15-13h30	Interactions hôtes-pathogènes environnementaux LA Est	New antibiotics LA Ouest	Sécurité des aliments : la vigilance reste de mise Salle 1	Modulation of cell signalling pathways by microbes (SfV) Salle 2	Microbiotes et exposition aux xénobiotiques (STCM) Salle 3	Actualités référentiels et observatoire SFM (SFMM/SFPT) Salle AB	Thérapeutiques antifongiques (SFMM/SFPT) Salle AB	Actualités référentiels et observatoire SFM (SFMM/SFPT) Salle AB	Thérapeutiques antifongiques (SFMM/SFPT) Salle AB
13h30-14h25	Déjeuner - Visite exposants - Posters NS1-S2								
14h25-14h30	Parole aux industriels AG Berger								
14h30-16h00	SP2.3 - MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS	SP3.3 - MICROBIOTE ET TOXICOLOGIE	SP1.5 - ANTIMICROBIAL AGENTS	SP5.3 - MICROBIAL PATHOGENESIS and FUNDAMENTAL MICROBIOLOGY	SP1.6 - ANTIMICROBIAL AGENTS	SP4.3 - MICROBIOLOGIE CLINIQUE	SP1.3 - AGENTS ANTIMICROBIENS	SP4.3 - MICROBIOLOGIE CLINIQUE	SP1.3 - AGENTS ANTIMICROBIENS
	Des facteurs de risques et des échanges LA Est	Microbiote et alimentation (STCM/ARET) LA Ouest	New immunotherapeutic approche (SFI) Salle 1	Organs-on-chips, a new paradigm Salle 2	Antimicrobial peptides Salle 3	Miscellanées (Col.BVH) Salle 4	Thérapeutiques antifongiques (SFMM/SFPT) Salle AB	Miscellanées (Col.BVH) Salle 4	Thérapeutiques antifongiques (SFMM/SFPT) Salle AB
16h00-16h45	Pause café - Visite exposants - Posters NS1-S2								
16h45-18h15	SP1.7 - ANTIMICROBIAL AGENTS	SP4.4 - MICROBIOLOGIE CLINIQUE	SP2.4 - MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS	SP8 - HISTOIRE ET ÉPISTEMOLOGIE	SP7.1 - MICROBIOLOGIE INDUSTRIELLE ET BIOTECHNOLOGIE	SP6.2 - MICROBIOLOGIE ENVIRONNEMENTALE ET ÉCOLOGIE MICROBIENNE	SP1.3 - AGENTS ANTIMICROBIENS	SP6.2 - MICROBIOLOGIE ENVIRONNEMENTALE ET ÉCOLOGIE MICROBIENNE	SP1.3 - AGENTS ANTIMICROBIENS
18h15-18h20	Modelling clone diffusion and evolution from genomic and epidemiological data LA Est	Approche multiplexe syndromique : quelle interprétation ? LA Ouest	Bactéries sporulées pathogènes et d'intérêt technologique Salle 1	Histoire de la Microbiologie Salle 2	CO ₂ : de la production anthropique à la fixation par les micro-organismes (FFBIOTECH/AFEM) Salle 3	Micro-organismes en interaction avec les plantes Salle 4	Thérapeutiques antifongiques (SFMM/SFPT) Salle AB	Micro-organismes en interaction avec les plantes Salle 4	Thérapeutiques antifongiques (SFMM/SFPT) Salle AB
18h20-19h05	Changement de salle								
19h05-20h30	Changement de salle								
SP9 - Session Jeunes Microbiologistes - Prix poster AG Berger									
VINS ET FROMAGES - Remise des prix NS1									

MERCREDI 2 OCTOBRE			
Accueil des participants NS1			
07h45-08h30			
08h30-10h00	SP4.7 - MICROBIOLOGIE CLINIQUE Phages et phagothérapie : renaissance d'une discipline (GREPI) LA Est	SP1.8 - ANTIMICROBIAL AGENTS Impacts of heavy metals and low antibiotic concentration on bacterial resistance LA Ouest	SP7.2 - MICROBIOLOGIE INDUSTRIELLE ET BIOTECHNOLOGIE Bioprocédés (FFBIOTECH) Salle 1
			SP4.6 - MICROBIOLOGIE CLINIQUE Physiopathologie des infections par les virus émergents (ASM) Salle 3
10h00-10h45			
10h45-12h15	SP4.8 - MICROBIOLOGIE CLINIQUE Actualités sur les virus respiratoires LA Est	SP1.9 - ANTIMICROBIAL AGENTS Horizontal gene transfer and the evolution of antibiotic resistance LA Ouest	SP3.5 - MICROBIOLOGIE ET TOXICOLOGIE Microbiote et cyanobactéries (ARET) Salle 1
12h15-13h30			
13h30-14h15			
14h15-14h20			
14h20-15h50	SP5.5 - MICROBIAL PATHOGENESIS and FUNDAMENTAL MICROBIOLOGY Evolution of bacteria (SSM) LA Est	SP1.10 - ANTIMICROBIAL AGENTS Antibiotic resistance, persistence and tolerance LA Ouest	SP3.6 - MICROBIOLOGIE ET TOXICOLOGIE Nouveaux modèles d'étude du microbiote (ARET) Salle 1
15h50-16h35			
16h35-18h05	SP6.3 - MICROBIOLOGIE ENVIRONNEMENTALE ET ÉCOLOGIE MICROBIENNE Comment prévenir et combattre les Biofilms ? LA Est	SP1.11 - ANTIMICROBIAL AGENTS Action plans to combat antibiotic resistance (ITMO IBM) LA Ouest	SP7.3 - MICROBIOLOGIE INDUSTRIELLE ET BIOTECHNOLOGIE Intérêt de la cytométrie en flux en microbiologie (AFC) Salle 3
Symposium bioMérieux LA Ouest			
Changement de salle			
Déjeuner - Visite exposants - Posters NS1-S2			
Pause café - Visite exposants - Posters NS1-S2			
Déjeuner - Visite exposants - Posters NS1-S2			
Pause café - Visite exposants - Posters NS1-S2			

NS1 Niveau S1 **NS1-S2** Niveaux S1 et S2
LA Est Salle Louis Armand Est - Niveau S3
LA Ouest Salle Louis Armand Ouest - Niveau S3
Salle 1 Salle 1 - Niveau S3 **Salle 3** Salle 3 - Niveau S3
Salle 2 Salle 2 - Niveau S3 **Salle 4** Salle 4 - Niveau S3

TABLE DES MATIÈRES

Programme

Lundi 30 septembre.....	13
Mardi 1 ^{er} octobre	14
Mercredi 2 octobre.....	23

Résumés des communications du lundi 30 septembre

Conférences plénières.....	30
Audition Prix de thèse.....	32

Résumés des communications du Mardi 1^{er} octobre - Matin

Sessions parallèles

SP1.1 - Agents antimicrobiens

Nouvelles cibles en thérapeutiques anti-infectieuses (<i>en association avec la SFP</i>).....	39
---	----

SP2.1 - Microbiologie des aliments

Aliments fermentés.....	43
-------------------------	----

SP3.1 - Microbiote et toxicologie

Microbiote : un promoteur de toxicité ? (<i>en association avec la STCM</i>).....	47
---	----

SP1.2 - Antimicrobial agents

Structural biology for developing novel antimicrobial agents.....	51
---	----

SP4.1 - Clinical Microbiology

New technologies in microbiology.....	55
---------------------------------------	----

SP5.1 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology

Metabolism and microbial pathogenesis.....	59
--	----

SP1.3 - Agents antimicrobiens

Thérapeutiques antifongiques (<i>en association avec la SFMM/SFPT</i>).....	63
---	----

SP6.1 - Microbiologie environnementale et écologie microbienne

Interactions hôtes-pathogènes environnementaux.....	67
---	----

SP2.2 - Microbiologie des aliments

Sécurité des aliments : la vigilance reste de mise.....	72
---	----

SP3.2 - Microbiote et toxicologie

Microbiotes et exposition aux xénobiotiques (<i>en association avec la STCM/ARET</i>).....	77
--	----

SP1.4 - Antimicrobial agents

New antibiotics.....	80
----------------------	----

SP4.2 - Microbiologie clinique

Actualités référentiels et observatoire SFM.....	85
--	----

SP5.2 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology

Modulation of cell signalling pathways by microbes (<i>in association with SFV</i>).....	89
--	----

Résumés des communications du Mardi 1^{er} octobre - Après-midi

Sessions parallèles

SP1.5 - Antimicrobial agents

New immunotherapeutic approaches (<i>in association with SFI</i>).....	93
--	----

SP2.3 - Microbiologie des aliments	
Des facteurs de risques et des échanges.....	96
SP3.3 - Microbiote et toxicologie	
Microbiote et alimentation (<i>en association avec la STCM</i>).....	100
SP1.6 - Antimicrobial agents	
Antimicrobial peptides.....	105
SP4.3 - Microbiologie clinique	
Miscellanées (<i>en association avec le Col.BVH</i>).....	109
SP5.3 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology	
Organs-on-chips, a new paradigm.....	113
.....	
SP7.1 - Microbiologie industrielle et biotechnologie	
CO ₂ : de la production anthropique à la fixation par les micro-organismes (<i>en association avec l'AFEM/FFBiotech</i>).....	117
SP6.2 - Microbiologie environnementale et écologie microbienne	
Micro-organismes en interaction avec les plantes.....	122
SP2.4 - Microbiologie des aliments	
Bactéries sporulées pathogènes et d'intérêt technologique.....	127
SP8 - Histoire et épistémologie	
Histoire de la Microbiologie.....	131
SP1.7 - Antimicrobial agents	
Modelling clone diffusion and evolution from genomic and epidemiological data.....	134
SP4.4 - Microbiologie clinique	
Approche multiplexe syndromique : quelle interprétation ?.....	137
SP9 - Session Jeunes Microbiologistes	
Prix poster.....	141
Résumés des communications du mercredi 2 octobre - Matin	
Sessions parallèles	
SP7.2 - Microbiologie industrielle et biotechnologie	
Bioprocédés (<i>en association avec la FFBiotech</i>).....	151
SP4.5 - Microbiologie clinique	
Animaux domestiques, animaux sentinelles ou vecteurs de zoonose ?.....	155
SP3.4 - Microbiote et toxicologie	
Microbiote et écosystème : impact de la pollution et du réchauffement climatique (<i>en association avec l'ARET</i>).....	160
SP1.8 - Antimicrobial agents	
Impacts of heavy metals and low antibiotic concentration on bacterial resistance.....	163
SP4.6 - Microbiologie clinique	
Physiopathologie des infections par les virus émergents (<i>en association avec l'ASM</i>).....	167
SP4.7 - Microbiologie clinique	
Phages et phagothérapie : renaissance d'une discipline (<i>en association avec le GREPI</i>).....	172
.....	
SP2.5 - Microbiologie des aliments	
Place des virus et des bactériophages dans la chaîne alimentaire.....	176
SP3.5 - Microbiote et toxicologie	
Microbiote et écosystème : impact de la pollution et du réchauffement climatique (<i>en association avec l'ARET</i>).....	180

SP1.9 - Antimicrobial agents	
Horizontal gene transfer and the evolution of antibiotic resistance.....	183
SP4.8 - Microbiologie clinique	
Actualités sur les virus respiratoires.....	188
SP5.4 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology	
Structure and function of microbial envelopes.....	193
Résumés des communications du mercredi 2 octobre - Après-midi	
Sessions parallèles	
SP7.3 - Microbiologie industrielle et biotechnologie	
Intérêt de la cytométrie en flux en microbiologie (<i>en association avec l'AFC</i>).....	197
SP2.6 - Microbiologie des aliments	
Campy fait de la résistance.....	200
SP3.6 - Microbiote et toxicologie	
Nouveaux modèles d'étude du microbiote (<i>en association avec l'ARET</i>).....	204
SP1.10 - Antimicrobial agents	
Antibiotic resistance, persistence and tolerance.....	207
SP5.5 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology	
Evolution of bacteria (<i>in association with SSM</i>).....	212
.....	
SP6.3 - Microbiologie environnementale et écologie microbienne	
Comment prévenir et combattre les Biofilms ?.....	216
SP1.11 - Antimicrobial agents	
Action plans to combat antibiotic resistance (<i>in association with the ITMO I3M</i>).....	220
Résumés des communications affichées	
SP1 - Agents antimicrobiens	224
SP2 - Microbiologie des aliments	276
SP3 - Microbiote et toxicologie	297
SP4 - Microbiologie clinique	304
SP5 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology	344
SP6 - Microbiologie environnementale et écologie microbienne	371
SP7 - Microbiologie industrielle et biotechnologie	396
Liste des posters	398
Liste des participants	407
Liste des sponsors et exposants	430
Plan de l'exposition	434
Liste des stands	435
Plan de situation des hôtels	436

PROGRAMME - LUNDI 30 SEPTEMBRE

13:30-16:00 **Accueil des participants**

CONFÉRENCES PLÉNIÈRES

16:00-17:30 *Modérateurs : Yann Héchard et Chantal Abergel* *Amphi. Gaston Berger - Niveau S2*

- **Tara Oceans: Eco-Systems Biology at Planetary Scale**
Chris Bowler (Paris)
- **The secret interaction networks of giant viruses and their parasites**
Matthias Fischer (Heidelberg, Allemagne)

17:30-19:00 **AUDITION Prix de thèse** *Amphi. Gaston Berger - Niveau S2*

Modérateurs : Maxime Pichon et Jérôme Josse

- **Caractérisation des mécanismes d'altération des produits carnés et de la mer par *Brochothrix thermosphacta***
Nassima Illikoud (Nantes)
- **Cultures antifongiques applicables comme ferments de bioprotection dans les produits laitiers : sélection, évaluation à l'échelle pilote et identification de composés supports de l'activité**
Marcia Leyva Salas (Plouzané)
- **Rôle de l'îlot génomique pks dans la synthèse des sidérophores-microcines chez *Escherichia coli***
Clémence Massip (Toulouse)
- **Caractérisation des protéines Str3 et Tpx1 dans l'homéostasie de l'hème chez la levure *Schizosaccharomyces pombe***
Vincent Normant (Illkirch)
- **Action antioxydante et antimicrobienne de composés phénoliques dans des milieux modèles et des émulsions riches en lipides insaturés**
Aurelia Pernin (Paris-Saclay)
- **Implication des enzymes lipolytiques dans la virulence et la survie mycobactérienne**
Pierre Santucci (Aix-Marseille)

19:00-20:00 **Cocktail de bienvenue** *Espace exposition - Niveau S1*

PROGRAMME - MARDI 1^{er} OCTOBRE07:45-08:30 **Accueil des participants**

Espace S1

SESSIONS PARALLÈLES

08:30-10:00 **SP1.1 - Agents antimicrobiens**

Salle Louis Armand Est - Niveau S3

Nouvelles cibles en thérapeutiques anti-infectieuses (en association avec la SFP)

Modérateurs : Nicolas Papon et Jean-Pierre Gangneux

- **Identification de nouvelles cibles thérapeutiques chez les microsporidies**
Frédéric Delbac (Université Clermont Auvergne, LMGE UMR 6023, Aubière, France)

Communications orales courtes

- **Des imidazopyridazines ciblant la TgCDPK1 diminuent fortement l'infection par *Toxoplasma gondii* dans un modèle murin de toxoplasmose congénitale**
Françoise Debierre-Grockiego (ISP, Université Tours, INRA, Tours, France)
- **Validation and exploration of HldE, a Promising Target for Antibiotic Potentiation in Gram-negative bacteria**
Sébastien Coyne (EVOTEC ID Lyon, Marcy-l'Étoile, France)
- **Développement d'un système d'évaluation de la trans-translation *in vitro***
Marion Thépaut (UMR 6290, RBS, Univ. Rennes 1, CNRS, IGDR, Rennes, France)

08:30-10:00 **SP2.1 - Microbiologie des aliments**

Salle 2 - Niveau S3

Aliments fermentés

Modératrices : Régine Talon et Christèle Humblot

- **Rôle des bactéries lactiques dans les propriétés nutritionnelles des céréales**
Christèle Humblot (IRD, Montpellier)

Communications orales courtes

- **Selection of effective antifungal cultures in fermented dairy products and identification of antifungal metabolites**
Anne Thierry (UMR STLO, Inra, Rennes, France)
- **Nature et rôle des moteurs biotiques dans la construction des communautés microbiennes des fromages traditionnels**
Françoise Irlinger (UMR 782, GMPA, INRA, Université Paris Saclay, Thiverval-Grignon, France)
- **Qualités organoleptiques et microorganismes des cidres : Quoi de neuf ?**
Marina Cretenet (ABTE, Université de Caen Normandie, Caen, France)

08:30-10:00 **SP3.1 - Microbiote et toxicologie**

Salle 3 - Niveau S3

Microbiote : un promoteur de toxicité ? (en association avec la STCM)

Modératrices : Saadia Kerdine-Römer et Marie-Chantal Canivenc-Lavier

- **Microbiote, un acteur clé dans la toxicité hépatique de l'alcool**
Gabriel Perlemuter (INSERM UMR 996, Clamart)
- **Impact of the gut microbiome in the success of anticancer therapies**
Laurence Zitvogel (Institut Gustave-Roussy, Villejuif)

Communications orales courtes

- **Acquisition du fer chez *Faecalibacterium prausnitzii* par une approche Rnaseq dans un modèle de culture en Chambre de Freter**
Eugénie Huillet (Equipe Probiote, Unité Micalis, INRA, Jouy-en-Josas, France)
- **Adaptation of the adherent-invasive *E. coli* pathobiont to gut environment in the context of intestinal inflammation**
Nicolas Barnich (Inserm U1071, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France)



- 08:30-10:00 **SP1.2 - Antimicrobial agents**  Salle 1 - Niveau S3
- Structural biology for developing novel antimicrobial agents**
 Chairs: Isabelle Broutin and Vincent Cattoir
- **The bacterial cell wall formation machinery as a target for new antibiotic development**
 Andrea Dessen (Institut de Biologie Structurale, Grenoble)
- Short oral presentations**
- **New insights into the efflux mechanism of the OprM-MexAB pump from *Pseudomonas aeruginosa***
 Isabelle Broutin (Faculté de Pharmacie UMR 8015, CNRS/Univ. Paris Descartes, Paris, France)
 - **Structure-guided design of a NAD kinase inhibitor with anti-infectious properties**
 Clarisse Leseigneur (Unité de Recherche Yersinia, Institut Pasteur, Paris, France)
 - **Multivalent fucosides as antiadhesive against *Aspergillus fumigatus* infections**
 Annabelle Varrot (CERMAV UPR 5301, CNRS, Grenoble, France)
- 08:30-10:00 **SP4.1 - Clinical Microbiology**  Salle Louis Armand Ouest - Niveau S3
- New technologies in microbiology**
 Chairs: Sylvain Brisse and Jérôme Josse
- **Fourier transform infrared spectroscopy: unlocking fundamentals and prospects for bacterial strain typing**
 Angela Novais (Porto, Portugal)
 - **Aspects logistiques liés à la mise en place d'une plateforme de séquençage à haut débit en Santé Publique**
 Vincent Enouf (Institut Pasteur, Paris)
- Short oral presentations**
- **Métagénomique clinique : conclusions du groupe de réflexion Paris-Genève**
 Maud Salmona (Département des agents infectieux, Hôpital Saint-Louis, Université de Paris, Paris, France)
 - **A prospective multi-centreevaluation of the NG-test Carba5, a multiplex immunochromatographic assay for the rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in culture**
 Thierry Naas (EA7361, UPSud, Hôpital Bicêtre, Bactériologie, Le Kremlin-Bicêtre, France)
- 08:30-10:00 **SP5.1 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology**  Salle 4 - Niveau S3
- Metabolism and microbial pathogenesis**
 Chairs: Petra Dersch and Eric Oswald
- **Remodelling *Yersinia*-host interactions: For better or worse?**
 Petra Dersch (University of Münster, Münster, Allemagne)
- Short oral presentations**
- **The polyamine spermidine modulates the production of the bacterial genotoxin colibactin**
 Camille V. Chagneau (Inserm/ IRSD, Toulouse, France)
 - **The sugar metabolism is a predominant target of adaptation in *Escherichia coli* in the mouse gut**
 Mohamed Ghalayini (UMR 1137, équipe QEM, Inserm, Paris, France)
 - **Metabolic modifications in *Pseudomonas aeruginosa* during coexistence with *Staphylococcus aureus***
 Laura Camus (U1111 - Pathogénie des staphylocoques, CIRI - Inserm, Lyon, France)
- 10:00-10:45 **Pause café - Visite de l'exposition - Posters** Niveaux S1 et S2

SESSIONS PARALLÈLES

10:45-12:15

SP1.3 - Agents antimicrobiens

Salle AB - Niveau S2

Thérapeutiques antifongiques (en association avec la SFMM/SFPT)

Modérateurs : Jean-Philippe Bouchara et Jean-Pierre Gangneux

- **Émergence de la résistance aux échinocandines**
Isabelle Accocéberry (UMR-CNRS 5234, Bordeaux)
- **Antifungal stewardship**
Marie-Elisabeth Bougnoux (Institut Pasteur - Necker-Enfants Malades, Paris)
- **Optimisation de la prise en charge thérapeutique antifongique sous l'angle Pharmacocinétique/Pharmacodynamique**
Peggy Gandia (CHU Purpan, Toulouse)

Short oral presentation

- ***Lactobacillus rhamnosus* Lcr35® as an effective treatment for preventing *Candida albicans* infection in the preclinical model *Caenorhabditis elegans***
Cyril Poupet (UMRF 0545 UCA INRA VAS, Aurillac, France)

10:45-12:15

SP6.1 - Microbiologie environnementale et écologie microbienne

Salle Louis Armand

Est - Niveau S3

Interactions hôtes-pathogènes environnementaux

Modérateurs : Nadine Lemaitre et Yann Héchard

- **Écologie, évolution et émergence de *Vibrio* pathogènes**
Frédérique Le Roux (Sorbonne Universités, Roscoff)
- **Insectes et phytopathogènes**
Yvan Rahbé (INRA, Lyon)

Communications orales courtes

- **Les amibes libres de l'environnement contribuent-elles à disperser l'antibio-résistance ?**
Sabine Favre-Bonté (Equipe MEEB, Ecologie Microbienne CNRS5557 INRA1418, Villeurbanne, France)
- **Inventaire comparatif des tiques de la région de Bouzeguène (entre 2014 et 2015), et la détection moléculaire des *Rickettsia***
Karima Brahmi (Univ. Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Dpt de biologie, Tizi-Ouzou, Algérie)
- **Diversité génétique et répartition spatiale de *M. ulcerans* par séquençage ADN du génome**
Alban Besnard (CRCINA Inserm U1232, Angers, France)

10:45-12:15

SP2.2 - Microbiologie des aliments

Salle 1 - Niveau S3

Sécurité des aliments : la vigilance reste de mise

Modérateurs : Michel Federighi et Alexandre Leclercq

- **Épidémie de listeriose en Afrique du sud : qu'avons-nous appris ?**
Alexandre Leclercq (Institut Pasteur, Paris)

Communications orales courtes

- **Les lipides insaturés des aliments, accélérateurs de croissance pour *Listeria monocytogenes***
Florence Dubois-Brissonnet (Institut Micalis, AgroParisTech, INRA, Jouy-en-Josas, France)
- **Méthodes d'analyse des parasites protozoaires dans les aliments : actualités**
Isabelle Villena (Lab.de Parasitologie, CHU / Université Reims Champagne-Ardenne, Reims, France)
- **Évaluation quantitative des risques microbiens appliquée à la viande bovine : vue d'ensemble et défis à venir**
Vincent Tesson (Secalim, INRA-Oniris, Nantes, France)
- **Development and harmonization of innovative methods for comprehensive analysis of foodborne toxigenic bacteria, ie. *Staphylococcus spp.*, *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens***
Manon Michaut (Laboratoire de sécurité des aliments, Anses, Maisons-Alfort, France)

10:45-12:15

SP3.2 - Microbiote et toxicologie

Salle 3 - Niveau S3

Microbiotes et exposition aux xénobiotiques*(en association avec la STCM/ARET)**Modérateurs : Saadia Kerdine-Römer, Marie-Chantal Canivenc-Lavier et Pierre Peyret*

- **We are what we eat: modern stressors of the host-microbiota super-organism**
Benoît Chassaing (Institute for Biomedical Sciences, Atlanta, USA)
- **Impact des nanoparticules de TiO₂ passivées sur des bactéries cutanées ou aéroportées**
Ségolène Depayras (GIP plate-forme technologique N2S, Evreux, France)

Communication orale courte

- **Beneficial effect of a probiotic prophylactic strategy to counteract neuro-inflammation and behavioral impairments induced by Polycyclic Aromatic Hydrocarbon in mice**
Magali Genay (CALBINOTOX/Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France)

10:45-12:15

SP1.4 - Antimicrobial agents

Salle Louis Armand Ouest - Niveau S3

New antibiotics*Chairs: Isabelle Schalk and Michaël Mourez*

- **Odilorhabdins: a new class of antibiotics with natural origin**
Philippe Villain-Guillot (Nosopharm, Lyon)

Short oral presentations

- **Potentiel Antibactérien de Prodrogue à base de Calixarène et du 2,4-Di-tert-butylphénol synthétisés par des *Bacillus licheniformis* thermophiles isolés à partir d'une source d'eau chaude en Algérie**
Nihel Klouche Khelil (Laboratoire LAMAABE, Université Tlemcen, Tlemcen, Algérie)
- **What can Phenomics approaches bring to the antibiotic discovery field?**
Nelly Dubarry (BacteriOmics, Evotec-ID Lyon, Marcy-l'Étoile, France)
- **Generation of analogues of stambomycins by genetic engineering and allied approaches**
Li Su (UMR 1128 UL-INRA, DynAMic, Université de Lorraine, INRA, Vandoeuvre-Lès-Nancy, Nancy)
- **Mechanism of action of flavonoids in the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis***
Cécile Jacry (SyBER group, INRA-MICALIS, Jouy-en-Josas, France)

10:45-12:15

SP4.2 - Microbiologie clinique

Salle 4 - Niveau S3

Actualités référentiels et observatoire SFM*Modérateurs : Brigitte Lamy et Gérard Lina*

- **Le Quamic fait peau neuve !**
Brigitte Lamy (Université Côte d'Azur, Nice)
- **CA-SFM 2019 : les évolutions récentes**
François Jehl (Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg)
- **Manuel de sécurité et sûreté biologiques : 2^{ème} édition**
Sébastien Allix-Le Guen (Lab'Science, Nazelle-Négron)
- **Observatoire SFM des hémocultures**
Gérard Lina (CIRI, Lyon)

10:45-12:15

SP5.2 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology

Salle 2 - Niveau S3

Modulation of cell signalling pathways by microbes *(in association with SFV)**Chairs: Nolwenn Jouvenet and Eric Oswald*

- **Convergent evolution of viruses and bacteria to hijack cellular kinases**
Thomas Michiels (UCLouvain, de Duve Institute, Bruxelles, Belgique)

Short oral presentations

- **Modulation of NF-κB signalling by a *Coxiella burnetii* eukaryotic-like effector protein**
Mélanie Burette (CNRS IRIM, Montpellier, France)

.../...

- Functional characterization of Srn024 and Srn073 regulatory RNAs in the pathogen *Streptococcus agalactiae*
Nancy Jabbour (Equipe 5 BRMF, UMR1282 ISP/Université de Tours, Tours, France)
- Impact of 5' terminally deleted RNA viral forms on type 1 interferon response in a murine model of Coxsackievirus B3-induced myocarditis
Domitille Callon (EA-4684 Cardiovir, Université Reims Champagne Ardennes, Reims, France)

12:15-13:30 **Déjeuner - Visite de l'exposition - Posters**

Niveaux S1 et S2

13:30-14:25 **Parole aux industriels**

Amphi. Gaston Berger - Niveau S2

Modérateurs : Gérard Lina et Jean-Louis Herrmann

- MP Biomedicals : Flexibility in Sample Preparation
Daniel Weissbart
- Acea Biosciences : Des instruments dédiés à la détection, la quantification et l'analyse de microbes ainsi que de leur interactions
Pascale Daou et Jérôme Darakdjian
- Bruker & Biocentric : Un an déjà
Renaud Joly
- I&L Biosystems : Des analyses microbiologiques aux modèles d'étude des biofilms, interactions hôte-pathogène... - Stéphane Pinhal
- BIOMÉRIEUX EPISEQ CS : Le typage moléculaire en un seul clic
Benjamin Moingeon

14:25-14:30 **Changement de salle**

SESSIONS PARALLÈLES

14:30-16:00 **SP1.5 - Antimicrobial agents**

Salle 1 - Niveau S3

New immunotherapeutic approaches (in association with SFI)

Chairs: Mickaël Riou and Claude Leclerc

- Dendritic cell targeting of viral antigens in DNA vaccination in pig and ruminants
Isabelle Schwartz (INRA, Jouy-en-Josas)
- Novel approaches boosting innate immunity against *Pseudomonas aeruginosa*
Ignacio Caballero (INRA - Centre Val de Loire, Nouzilly)
- Towards the development of a tetravalent synthetic carbohydrate-based glycoconjugate vaccine against shigellosis
Armelle Phalipon (Institut Pasteur, Paris)

14:30-16:00 **SP2.3 - Microbiologie des aliments**

Salle Louis Armand Est - Niveau S3

Des facteurs de risques et des échanges

Modératrices : Isabelle Villena et Sabine Leroy

- La résistance aux antibiotiques des bactéries des aliments fermentés
Sabine Leroy (INRA, Clermont Ferrand)

Communications orales courtes

- Role of the exporter PptAB in secretion of pheromones in *Streptococcus thermophilus*
Abarna Lingeswaran (ComBac, Micalis, INRA, Jouy-en-Josas, France)
- The mobilome; a major contributor to *Escherichia coli* stx2-positive O26:H11 strains intra-serotype diversity
Sabine Delannoy (Laboratoire de sécurité des aliments, Anses, Maisons-Alfort, France)
- Exfoliative toxin E, a new *Staphylococcus aureus* virulence factor with host-specific activity
Yves Le Loir (UMR1253 STLO, INRA, Rennes, France)

14:30-16:00

SP3.3 - Microbiote et toxicologie

Salle Louis Armand Ouest - Niveau S3

Microbiote et alimentation (en association avec la STCM)

Modératrices : Saadia Kerdine-Römer et Marie-Chantal Canivenc-Lavier

- Impact du microbiote sur l'allergie alimentaire aux protéines de lait de vache chez les nourrissons

Anne-judith Waligora-Dupriet (Université Paris Descartes, Paris)

- Le microbiote intestinal : une nouvelle source de probiotiques ?

Luis Bermudez-Humaran (INRA, Jouy-en-Josas)

Communications orales courtes

- Fermented milks, using *Lactobacillus casei* or *Propionibacterium freudenreichii*, prevent mucositis, a side effect of chemotherapy, in mice

Gwénaél Jan (UMR STLO, INRA, Rennes, France)

- Impact de l'indole, métabolite bactérien dérivé du tryptophane, sur l'activité mitochondriale, l'expression de la cytokine pro-inflammatoire IL-8 et l'intégrité de l'ADN dans un modèle de cellules épithéliales coliques

Lucie Armand (AgroParisTech, Paris, France)

- Dysbiose intestinale et phénotype pro-allergique : décryptage du lien entre microbiote intestinal et allergie cutanée

Émilie Plantamura (MaaT Pharma, Lyon)

14:30-16:00

SP1.6 - Antimicrobial agents

Salle 3 - Niveau S3

Antimicrobial peptides

Chairs: Patrick Plésiat and Yann Héchard

- Physiological and therapeutic roles of antimicrobial peptides

Sylvie Rebuffat (Muséum national d'Histoire naturelle, Paris)

Short oral presentations

- PARAGEN: a standardized synthetic gene library to produce antimicrobial peptides

Philippe Gabant (Syngulon, Seraing, Belgique)

- Antibacterial and anti-biofilm properties of peptoids cationic amphipatic AMP mimics

Christiane Forestier (UMR CNRS 6023 LMGE, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France)

- New antibiofilm mechanism of action, matrix anti-assembly (MAA), displayed by red pepper peptide

Rafael Gomes Von Borowski (UMR 6290 / RBS, Univ. Rennes1 / CNRS / IGDR, Rennes, France)

14:30-16:00

SP4.3 - Microbiologie clinique

Salle 4 - Niveau S3

Miscellanées (en association avec le Col.BVH)

Modérateurs : Christian Cattoen et Alain Gravet



- Suivi des épisodes bactériémiques dans des établissements hospitaliers des Hauts de France - Christian Cattoen (Centre hospitalier, Valenciennes)

- Évaluation de la qualité de l'antibiogramme dans le réseau Collège de Bactériologie Virologie Hygiène des hôpitaux (Col.BVH) : des années d'expérience

Hubert Chardon (Centre hospitalier, Aix-en-Provence)

- Réseau méningite du Col.BVH : quels germes ?, quelles pathologies ?, évolution sur 30 ans

Odile Bellon (Centre hospitalier, Brignoles)

Communication orale courte

- Identification rapide des hémocultures par spectrométrie de masse (MALDI-TOF) et leur impact sur la consommation d'antibiotiques dans un hôpital général

Mario Vilaró (Laboratoire de Microbiologie, Hospital Privado de Córdoba-Argentina, Córdoba, Argentine)

- 14:30-16:00 **SP5.3 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology**  *Salle 2 - Niveau S3*
- Organs-on-chips, a new paradigm**
Chairs: Gérard Lina and Eric Oswald
- **A bioengineered human Organ-on-Chip reveals the intestinal microenvironment and mechanical forces are critical for *Shigella* infection**
Nathalie Sauvonnnet (Institut Pasteur, Paris)
- Short oral presentations**
- **Biological control of *Aspergillus niger* through bacterial oxalotrophy *in-vitro* and in a Lung-on-a-chip microfluidic system**
Fabio Palmieri (Laboratoire de Microbiologie, Université de Neuchâtel, Neuchâtel, Suisse)
 - **Colorectal cancer associated-*E. coli* induce the emergence of chemotherapy-resistant stem cell-like phenotype of host cells**
Guillaume Dalmasso (Inserm U1071, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France)
 - **Use of the Enteroid Model for Assessing the Persistence of Infectious Human Noroviruses in the Environment**
Marion Desdouits (Labo. Santé Environnement Microbiologie, IFREMER, Nantes, France)

- 16:00-16:45 **Pause café - Visite de l'exposition - Posters** *Niveaux S1 et S2*

SESSIONS PARALLÈLES

- 16:45-18:15 **SP7.1 - Microbiologie industrielle et biotechnologie** *Salle 3 - Niveau S3*
- CO₂ : de la production anthropique à la fixation par les micro-organismes**
(en association avec l'AFEM/FFBiotech)
- Modératrices : Marielle Bouix et Julie Leloup*
- **Le rôle de la pompe biologique marine dans les flux de CO₂**
Ludwig Jardillier (Université Paris-Sud, Orsay)
 - **Ingénierie métabolique et ingénierie des réacteurs pour la production de molécules à partir du CO₂** - *Stéphane Guillouet (INSA - LISBP, Toulouse)*
 - **Produce methane and biomolecules of interest from carbon dioxide**
Etienne Paul (INSA, Toulouse)
- Communications orales courtes**
- **Des bactéries induisant la précipitation du carbonate de calcium au service de la consolidation des structures côtières**
Julia Vincent (LIENSs UMR 7266 CNRS, Faculté des Sciences et Techniques, La Rochelle, France)
 - **Les exométabolites de microorganismes photosynthétiques produits par bioconversion du CO₂**
Catherine Dupré (GEPEA UMR 6144 CNRS, Université Nantes, Saint-Nazaire, France)
- 16:45-18:15 **SP6.2 - Microbiologie environnementale et écologie microbienne** *Salle 4 - Niveau S3*
- Micro-organismes en interaction avec les plantes**
Modérateurs : Stéphane Genin et Eric Oswald
- **The metabolic cost for virulence in the plant pathogens *Xylella fastidiosa* and *Ralstonia solanacearum*** - *Stéphane Genin (INRA, Castanet-Tolosan)*
- Communications orales courtes**
- **Caractérisation de bactéries isolées de nodules racinaires du trèfle bitumineux *Bituminaria bituminosa* L.**
Jamal Ibijbijen (Université Moulay Ismail, Département de Biologie, Meknés, Maroc)
 - **Diversité et mobilité des éléments conjugatifs au sein d'une population de *Streptomyces* issue d'un micro-habitat rhizosphérique**
Caroline Choufa (UMR_A INRA-UL 1128/DynAMic, Univ. de Lorraine, INRA, Vandoeuvre-lès-Nancy, France)

- **Deciphering bacterial interactions in forest soil micro-habitats and their impact on tree development**
Milena Gonzalo (UMR 1136 UL-INRA IAM, Université de Lorraine, INRA, Champenoux, France)
- **La communauté microbienne associée aux graines de pois (*Pisum sativum*) de différentes origines géographiques**
Valentine Chartrel (GMPA, INRA, AgroParisTech, Univ. Paris-Saclay, Thiverval Grignon, France)

16:45-18:15

SP2.4 - Microbiologie des alimentsSalle 1 - Niveau S3**Bactéries sporulées pathogènes et d'intérêt technologique***Modérateurs : Véronique Broussolle et Christophe Nguyen-Thé*

- **Le groupe *Bacillus cereus* : du biocontrôle aux agents pathogènes humains**
Christophe Nguyen-Thé (INRA, Avignon)

Communications orales courtes

- **Characterization of *Bacillus thuringiensis* isolates associated to Foodborne Outbreaks in France from 2007 to 2017**
Mathilde Bonis (Unité SBCL, LSAI, ANSES, Maisons-Alfort, France)
- **Galactosylation of the Secondary Cell Wall Polysaccharide of *Bacillus anthracis* and Its Contribution to Anthrax Pathogenesis**
Alice Chateau (UMR408 SQPOV, Avignon Université - INRA, Avignon, France)
- **Dual strategy for mapping the *Bacillus cereus* thiol proteome**
Fella Hamitouche (MR408 SQPOV, INRA, Avignon Université, Avignon, France)

16:45-18:15

SP8 - Histoire et épistémologieSalle 2 - Niveau S3**Histoire de la Microbiologie***Modérateurs : Alain Le Coustumier et Jean Freney*

- **Qui a tué Napoléon ? *Helicobacter pylori* ?**
Christophe Burucoa (CHU, Poitiers)
- **Henry Toussaint précurseur de Pasteur dans sa lutte contre la maladie du charbon**
Alain Le Coustumier (CHIC de Bigorre, Tarbes)
- **Des premières cultures sur pomme de terre au Maldi-TOF : une histoire du diagnostic bactériologique** - *Jean Freney (Lyon)*

16:45-18:15

SP1.7 - Antimicrobial agentsSalle Louis Armand Est - Niveau S3**Modelling clone diffusion and evolution from genomic and epidemiological data***Chairs: Philippe Glaser and François-Xavier Weill*

- **When evolutionary theory matters for predictions, and when it doesn't**
Christophe Fraser (University of Oxford, UK)

Short oral presentations

- ***In vivo* evolutionary trajectory of a carbapenemase producing *K. pneumoniae* strain in stool, urine, blood and the lung**
Philippe Glaser (Unité EERA, Institut Pasteur, Paris, France)
- **Quantifying the drivers of antimicrobial resistance in a hospital network**
Julie Teresa Shapiro (CIRI, Inserm, Lyon, France)

16:45-18:15

SP4.4 - Microbiologie cliniqueSalle Louis Armand Ouest - Niveau S3**Approche multiplexe syndromique : quelle interprétation ?***Modérateurs : Thomas Gueudet et Laurent Andreoletti*

- ***Salmonella*, *Shigella*, entre sous et sur détection**
Sophie Lefèvre (Institut Jacques Monod - CNRS, Paris)
- **Méningites et encéphalites virales : nouvelles approches diagnostiques**
Marc Eloit (Institut Pasteur, Paris)

.../...

Communications orales courtes

- **Évaluation des performances du kit Novodiag Bacterial GE+ dans le diagnostic des infections bactériennes intestinales**
Philippe Lehours (CNR Campylobacters-Hélicobacters, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France)
- **Impact de la PCR Multiplex automatisée gastro-intestinale en pédiatrie**
Jeanne Truong (Microbiologie/Pédiatrie générale, CHU Robert Debré AP-HP, Paris, France)

18:15-18:20 Changement de salle

18:20-19:05

SP9 - Session Jeunes Microbiologistes*Amphi. Gaston Berger - Niveau S2***Prix poster***Modérateurs : Maxime Pichon et Jérôme Josse*

- ***Pseudomonas aeruginosa* can transfer antibiotic resistance genes to other pathogens through conjugative mechanism**
Gauthier Dangla-Pélissier (IMM - LISM - UMR7255, CNRS, Marseille, France)
- **L'epicPCR, une approche innovante pour caractériser le spectre d'hôtes de l'ICE SXT, vecteur de résistance aux antibiotiques, dans des environnements aquatiques**
Véronica Roman (LCPME UMR7564, Univ. de Lorraine - CNRS, Vandoeuvre-lès-Nancy, France)
- **IFITMs mediate viral evasion in acute and chronic hepatitis C virus infection**
Gaëtan Ligat (Inserm, U1110, Strasbourg, France)
- **Antimicrobial resistance of Enterobacteriaceae in poultry in Lebanon**
Myriam Mikhayel (Infectiologie et santé publique, INRA Centre Val-de-Loire, Nouzilly, France)
- **Confirmation du rôle de *Legionella pneumophila* dans une fasciite nécrosante fatale par la technologie de séquençage MinION**
Marine Ibranosyan (CNR des Légionelles, Hospices Civils de Lyon, GHN, Lyon, France)
- **Prévalence et impact de l'insertion de l'IS1548 en amont du gène *murB* de *Streptococcus agalactiae***
Sarah Khazaal (ISP, Bactéries et risque maternofoetal, Université de Tours, INRA, Tours, France)
- **Développement d'un modèle porcin d'infection intra-osseuse à *Staphylococcus aureus* suite à la pose chirurgicale d'implants en titane**
Mickaël Riou (UE-1277 PFIE, INRA, Nouzilly, France)
- **Transfert génétique des B-lactamases à spectre étendu «BLSE» chez des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées au centre de lutte contre le cancer Batna-Algérie**
Amina Messala (Microbiologie, Université de Médecine, Batna, Algérie)
- **ARN régulateurs et adaptation aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus* : exemple de l'ARN 6S et de la sensibilité à la rifampicine**
Marick Esberard (I2BC, CEA, CNRS, Gif-sur-Yvette, France)

19:05-20:30 Vins & fromages - Remise des Prix*Espace exposition - Niveau S1*

PROGRAMME - MERCREDI 2 OCTOBRE

07:45-08:30 **Accueil des participants** Niveau S1

SESSIONS PARALLÈLES

08:30-10:00 **SP7.2 - Microbiologie industrielle et biotechnologie** Salle 1 - Niveau S3**Bioprocédés** (en association avec la FFBiotech)**FFBiotech**

Modérateurs : Marielle Bouix et Théodore Bouchez

- Réponse physiologique de *Corynebacterium glutamicum* dans un environnement fluctuant en oxygène. Application à la production d'acides organiques
Stéphane Delaunay (LRGP - UMR UL - CNRS, Vandœuvre-lès-Nancy)
- Analyse des dynamiques de distribution de sous-populations microbiennes au sein de cultures pures de bactéries génétiquement modifiées : Cas de la production hétérologue d'isopropanol par *Cupriavidus necator*
Catherine Boy (LISBP, Toulouse)
- Engineering the synthesis of anticancer alkaloids in yeast cell factories
Inês Carqueijeiro (EA2106, BBV, Tours)

Communication orale courte

- Bactéries de l'espèce *Burkholderia lata* dans l'industrie pharmaceutique, apports de la génomique
Arnaud Carlotti (Eurofins IDmyk, Eurofins, Limonest, France)

08:30-10:00 **SP4.5 - Microbiologie clinique** Salle 4 - Niveau S3**Animaux domestiques, animaux sentinelles ou vecteurs de zoonose ?**

Modérateurs : Eric Oswald et Gilbert Greub

- Devez-vous avoir peur de votre chat ?
Muriel Vayssier-Taussat (INRA, Nouzilly)
- Les infections bactériennes du tractus urinaires chez l'homme et le chien
Rachel Lavoué (IRSD, École Nationale Vétérinaire de Toulouse)

Communications orales courtes

- Resistance and virulence profiles in clinical *E. coli* collected from dogs in France
Marisa Haenni (Université de Lyon - ANSES, Lyon, France)
- Similitudes des mécanismes de récurrence des infections urinaires chez l'homme et l'animal : l'exemple d'un cas clinique chez le chien
Nicolas Jousserand (IRSD, Toulouse, France)
- Parlons de zoonoses : le jeu Krobs
Gilbert Greub (Université de Lausanne, Lausanne, Suisse)

08:30-10:00 **SP3.4 - Microbiote et toxicologie** Salle 2 - Niveau S3**Microbiote et écosystème : impact de la pollution et du réchauffement climatique** (en association avec l'ARET)

Modératrices : Marie-Chantal Canivenc-Lavier et Chloé Dupont

- Les microorganismes du sol : acteurs et marqueurs du réchauffement climatique
Thomas Lerch (UMR IEES-Paris, Paris)
- Amorçage microbien de l'immunité végétale et animal : des symbiotes comme signaux du développement - Marc-André Selosse (CNRS - MNHN, Paris)
- "Je t'aime moi non plus" ou les relations complexes qu'entretiennent les microorganismes du sol avec les pesticides et vice-versa
Fabrice Martin-Laurent (INRA, Dijon)



- 08:30-10:00 **SP1.8 - Antimicrobial agents**  *Salle Louis Armand Ouest - Niveau S3*
- Impacts of heavy metals and low antibiotic concentration on bacterial resistance**
Chairs: Corentine Alauzet and Patrick Plésiat
- **Quand les antibiotiques stimulent la dissémination de gènes de résistance : petites doses et effets dramatiques**
Christophe Merlin (CNRS, Vandœuvre-lès-Nancy)
 - **Adaptation des communautés bactériennes à une exposition aux métaux traces dans l'environnement : conséquences potentielles sur l'antibiorésistance**
Thierry Berthe (Rouen)
- Short oral presentations**
- **Gentamicin pollution at sub-inhibitory concentrations induces a response in the environmental resistome** - *Concepcion Sanchez-Cid (Université de Lyon, Ecully, France)*
 - **Étude de l'évolution des patrons de résistance d'*Escherichia coli* suite à des stress induits par des concentrations subinhibitrices de gentamicine**
Léna Simon (CEFE, CNRS, Montpellier, France)
- 08:30-10:00 **SP4.6 - Microbiologie clinique** *Salle 3 - Niveau S3*
- Physiopathologie des infections par les virus émergents**
(en association avec l'ASM)
- 
- Modérateurs : Évelyne Schvoerer et Laurent Andreoletti*
- **Identification de la protéine FHL1 comme un facteur essentiel à l'infection et la pathogénèse de CHIKV**
Laurent Meertens (Hôpital Saint-Louis, INSERM U944-CNRS 7212, Paris)
 - **Zika virus enhances monocyte adhesion and transmigration favoring viral dissemination to neural cells** - *Nilda Vanesa Ayala-Nunez (IRIM - CNRS, Montpellier)*
 - **Comment le virus Zika induit des microcéphalies**
Laurent NGuyen (Université de Liège, Belgique)
 - **Le virus Usutu : une nouvelle menace ?**
Yannick Simonin (INSERM UMR 1058, Montpellier)
- Communication orale courte**
- **Ebola, géographie d'un virus. Enjeux socio-spatiaux en Afrique Centrale : Perspectives pour l'Afrique de l'Ouest** - *Dr Jean-Paul Ilunga Mulaja (Réglementation sanitaire internationale, Equilibre international, Kabinda, RD Congo)*
- 08:30-10:00 **SP4.7 - Microbiologie clinique** *Salle Louis Armand Est - Niveau S3*
- Phages et phagothérapie : renaissance d'une discipline**
(en association avec le GREPI)
- 
- Modérateurs : Olivier Neyrolles et Jean-Louis Herrmann*
- **Molecular basis of an old trick: the phage-antibiotic synergism**
Mireille Ansaldi (CNRS, Marseille)
 - **La phagothérapie pulmonaire : de l'expérimental à la clinique**
Laurent Debarbieux (Institut Pasteur, Paris)
- Communications orales courtes**
- **Étude pharmacocinétique / pharmacodynamique de la phagothérapie chez l'animal : vers la généralisation d'une pratique confidentielle**
Raphaëlle Delattre (Groupe IBBA, Unité BMGE, Institut Pasteur, Paris, France)
 - **Therapeutic innovation in bone and joint infections: Evaluation of the activity of Lysin CF-301 on clinical strains belonging to *Staphylococcus epidermidis* species**
Aubin Souche (Equipe Pathogénie des Staphylocoques, CIRI, Lyon, France)

10:00-10:45 **Pause café - Visite de l'exposition - Posters**

Niveaux S1 et S2

SESSIONS PARALLÈLES

10:45-12:15

SP2.5 - Microbiologie des aliments

Salle 2 - Niveau S3

Place des virus et des bactériophages dans la chaîne alimentaire*Modérateurs : Monique Zagorec et Stéphane Chaillou*

- **Caractérisation et modélisation des populations de bactériophages de la croûte de fromages (type époisses) sous différentes conditions environnementales d'affinage**
Stéphane Chaillou (INRA, Paris)

Communications orales courtes

- **Contamination de l'eau par des virus entériques infectieux : influence des interactions avec la matière organique sur la stabilité et l'inactivation des virus**
Sebastien Wurtzer (Eau de Paris, Ivry-sur-Seine, France)
- **Salmonella phage diversity in French dairy farms and their potential as biocontrol agents**
Nathalie Desmasures (UNICAEN, UNIROUEN, EA 4651 ABTE, Normandie Univ., Caen, France)
- **Comment répondre aux défis de la phagothérapie en élevage aquacole ?**
Antoine Culot (INRA UMR STLO, Agrocampus Ouest, Rennes, France)

10:45-12:15

SP3.5 - Microbiote et toxicologie

Salle 1 - Niveau S3

Microbiote et écosystème : impact de la pollution et du réchauffement climatique (en association avec l'ARET)*Modératrices : Marie-Chantal Canivenc-Lavier et Saadia Kerdine-Römer*

- **Proliférations de cyanobactéries et microbiote des poissons téléostéens d'eau douce**
Sébastien Duperron (Muséum national d'Histoire naturelle, Paris)

Communications orales courtes

- **Stratégie d'analyse d'une contamination fécale (bactéries et virus) dans un espace littoral interdit à la baignade : cas de la baie d'Ayré (Charente-Maritime, France)**
Méry Ndione (LIENSs UMR 7266 - CNRS, Université La Rochelle, La Rochelle, France)
- **Réponse du microbiote intestinal du poisson medaka (*Oryzias latipes*) exposé à des cyanobactéries productrices de toxines par une approche en microcosmes**
Alison Gallet (UMR7245 MCAM, MNHN-CNRS, Paris, France)



10:45-12:15

SP1.9 - Antimicrobial agents

Salle Louis Armand Ouest - Niveau S3

Horizontal gene transfer and the evolution of antibiotic resistance*Chairs: Didier Mazel and Gérard Lina*

- **Plasmid taxonomy and the boundaries of HGT**
Fernando de La Cruz (IBBTEC, Santander, Espagne)

Short oral presentations

- **A mechanism for aminoglycosides-mediated SOS induction in *Escherichia coli* that selects for fluoroquinolone resistance**
Anamaria Babosan (Inserm UMR-S 1250 P3Cell, Reims, France)
- **Functional Characterization of Novel Mobile Integrins Gene Cassettes**
Thomas Jové
- **Mycoplasma conjugative chromosomal transfer: Influence of the antibiotic on the extent of genome mosaicism**
Emilie Dordet-Frisoni (IHAP équipe MYC, INRA ENVT, Toulouse, France)
- **Clash of the HGT giants: GWAS reveals pervasive inhibition of natural transformation by conjugative elements**
Xavier Charpentier (Inserm U1111, CIRI, Villeurbanne, France)

.../...

10:45-12:15	SP4.8 - Microbiologie clinique	<i>Salle Louis Armand Est - Niveau S3</i>
Actualités sur les virus respiratoires		
<i>Modérateurs : Evelyne Schvoerer et Laurent Andreoletti</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Comprendre les mécanismes de la réplication du virus respiratoire syncytial pour identifier des cibles thérapeutiques - Marie-Anne Rameix-Welti (UMR INSERM U1173, UVSQ - APHP, Montigny-le-Bretonneux) • Analyse dynamique de l'épidémie de VRS communautaire et mise en évidence de facteurs de risques associés aux formes graves Jean-Sébastien Casalegno (Hospices civils, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon) 		
Communications orales courtes		
<ul style="list-style-type: none"> • Données épidémiologiques et virologiques de la grippe saison 2018-2019 Bruno Lina (CIRI, Lyon, France) • Deux années d'utilisation de la PCR Grippe/VRS aux urgences : retour d'expérience Inès Rezzoug (Service de Biologie, Centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France) • Epidémiologie des infections à entérovirus D68 en 2018 : Recrudescence des infections chez l'adulte Maxime Duval (LMGE UMR CNRS 6023, Univ. Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France) 		
10:45-12:15	SP5.4 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology	 <i>Salle 3 - Niveau S3</i>
Structure and function of microbial envelopes		
<i>Chairs: Olivier Neyrolles and Jean-Louis Herrmann</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Structural and Functional Organization of Bacterial Membrane Microdomains assembly Daniel Lopez (National Centre for Biotechnology, Madrid, Espagne) 		
Short oral presentations		
<ul style="list-style-type: none"> • Iron acquisition in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> by the siderophore pyoverdine: an intricate interacting network including periplasmic and membrane proteins Anne Bonneau (CNRS, UMR7242, ESBS, Illkirch, France) • R28 N-terminal domain promotes <i>emm28</i> Group A <i>Streptococcus</i> cell adhesion through direct binding to $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$ and $\alpha 6\beta 4$ integrins Agnes Fouet (Bactéries et Périnatalité, Institut Cohin / Inserm, Paris, France) • Study of the role of <i>Escherichia coli</i> adhesins in bacterial auto-aggregation Yankel Chekli (Unité de génétique des biofilms, Institut Pasteur, Paris, France) 		
12:15-13:30	Déjeuner - Visite de l'exposition - Posters	<i>Niveaux S1 et S2</i>
13:30-14:15	Symposium bioMérieux	<i>Salle Louis Armand Ouest - Niveau S3</i>
Automatisation en microbiologie, innovations pour une meilleure prise en charge des infections		
<i>Modératrice : Valérie Lalande (Paris)</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Intégration du nouveau système d'hémoculture BACT/ALERT® VIRTUO®, impact sur le pré analytique, cas cliniques Gauthier Pean-de-Ponfilly (Paris) • WASPLab®/Phenomatrix™ & ChromID® CPSE, l'examen bactériologique des urines 3.0. Design des algorithmes, performances et implémentation en routine de la solution Olivier Dauwalder (Lyon) 		
14:15-14:20	Changement de salle	.../...



SESSIONS PARALLÈLES

14:20-15:50

SP7.3 - Microbiologie industrielle et biotechnologie

Salle 3 - Niveau S3

Intérêt de la cytométrie en flux en microbiologie (en association avec l'AFC)

Modérateurs : Marielle Bouix et Pierre Burguière

- **Utilisation de la cytométrie pour l'évaluation de la qualité des eaux de consommation et de process** - Karim Helmi (Veolia, Paris)
- **Hétérogénéité de populations au sein de culture en bioréacteur de *Yarrowia lipolytica* soumis à des fluctuations de l'environnement : Quantification de la transition dimorphique et des états physiologiques par cytométrie en Flux**

Nathalie Gorret (TBI UMR CNRS 5504 UMR INRA 792, INRA, Toulouse)

Communication orale courte

- **Mesure de la vitalité des microorganismes par cytométrie en flux**
Marielle Bouix (GMPA, AgroParisTech, Grignon, France)

14:20-15:50

SP2.6 - Microbiologie des aliments

Salle 2 - Niveau S3

Campy fait de la résistance

Modérateurs : Philippe Lehours et Michel Federighi

- **Culture et PCR : c'est élémentaire** - Philippe Lehours (CHU Pellegrin, Bordeaux)
- **Antibiorésistance de *Campylobacter*, évolution récente**
Isabelle Kempf (Anses, Ploufragan)
- **Les *Campylobacter* et l'environnement : des bassins versants au littoral**
Michèle Gourmelon (IFREMER, Plouzané)

Communication orale courte

- **Impact d'un traitement de la litière sur le microbiote caecal et la contamination du poulet chair par *Campylobacter jejuni***

Muriel Guyard-Nicodème (UHQPAP, ANSES, Ploufragan, France)

14:20-15:50

SP3.6 - Microbiote et toxicologie

Salle 1 - Niveau S3

Nouveaux modèles d'étude du microbiote (en association avec l'ARET)

Modérateurs : Marie-Chantal Canivenc-Lavier et Eric Oswald



- **Insects and their microbial partners: the *Drosophila* case study**
Renata Matos (Institut de Génétique Fonctionnelle, Lyon)
- **L'utilisation du séquençage haut débit pour étudier le microbiome des tiques**
Thomas Pollet (UMR BIPAR, INRA, ANSES, ENVA, Université Paris-Est, Maisons-Alfort)

Communication orale courte

- **La pollution atmosphérique au dioxyde d'azote, source de dysbiose du microbiote cutané ?**
Xavier Janvier (LMSM - EA4312, Université de Rouen Normandie, Evreux, France)

14:20-15:50

SP1.10 - Antimicrobial agents

Salle Louis Armand Ouest - Niveau S3

Antibiotic resistance, persistence and tolerance

Chairs: Marie-Frédérique Lartigue and Philippe Glaser

- **Mutation dynamics and fitness effects at the single cell level**
Lydia Robert (Université Pierre et Marie Curie, Paris)

Short oral presentations

- **Anticancer chemotherapy accelerates the extension of KPC-type carbapenemase activity towards ceftazidime-avibactam**

André Birgy (Université de Paris, IAME, Inserm, Paris, France)

- **La résistance au délamanide en France existe déjà**

Catherine Eckert (INSERM U1135 Cimi-Paris eq.13, Sorbonne Université, Paris, France)

.../...

- Resistance to Ceftazidime-Avibactam in a *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate due to the production of KPC-39, a single amino-acid variant of KPC-3
Agnes Jousset (EA7361, UPSud, Hopital Bicetre, Le Kremlin-Bicetre, France)
- Genetic characterization of lypopolysaccharide-modifying genes involved in polymyxin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* carrying MCR-1 by sequential time-kill experiments approach
Hariyanto Ih (Inserm U1070, Université de Poitiers, Poitiers, France)

14:20-15:50

SP5.5 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology

Salle Louis Armand Est

Niveau S3

Evolution of bacteria (in association with SSM)

Chairs: François-Xavier Weill and Gilbert Greub

- Évolution des chlamydia et des bactéries apparentées aux chlamydia

Gilbert Greub (Université de Lausanne, Suisse)

- La théorie de l'évolution face à la matière noire microbienne : qu'est ce qui a changé ? Qu'est ce qui pourrait changer ? - *Eric Baptiste (Sorbonne Universités, Paris)*

Short oral presentations

- Impact of the *Escherichia coli* ribosomal RNA operon copy number variations on the genome stability - *Sebastien Fleurier (Inserm, Paris, France)*
- Intermolecular recombination events modulates the pathogenicity of *Legionella pneumophila* - *Elisabeth Kay (CIRI (U111), Inserm/CNRS/ENS/Université de Lyon, Lyon, France)*



15:50-16:35

Pause café - Visite de l'exposition - Posters

Niveaux S1 et S2

SESSIONS PARALLÈLES

16:35-18:05

SP6.3 - Microbiologie environnementale et écologie microbienne

Salle Louis Armand Est

Niveau S3

Comment prévenir et combattre les Biofilms ?

Modérateurs : Isabelle Schalk et Gérard Lina

- Activity of drug combinations against staphylococcal biofilms
Françoise Van Bambeke (UC Louvain, Bruxelles, Belgique)
- Multi-species Biofilms: a way to expand knowledge on interspecies interactions
Maëlle Molmeret (MAPIEM, Toulon)

Communications orales courtes

- Formation and composition of *Francisella* biofilms, a survival strategy against antibiotic or environmental stresses - *Patricia Renesto (TIMC IMAG UMR5525, La Tronche, France)*
- Highly specific anti-*Staphylococcus aureus* Affitins: applications for detection and capture of bacteria and for inhibition of biofilm formation
Frédéric Pecorari (Inserm-U1232, Université de Nantes, Nantes, France)

16:35-18:05

SP1.11 - Antimicrobial agents

Salle Louis Armand Ouest - Niveau S3

Action plans to combat antibiotic resistance (in association with the ITMO I3M)



Chairs: Philippe Glaser and Evelyne Jouvin-Marche

- Présentation du Programme Prioritaire de Recherche Antibiorésistance et ses objectifs
Evelyne Jouvin-Marche (Inserm, Paris)
- Actualités sur les actions santé humaine de la feuille de route interministérielle (hors recherche) - *Céline Pulcini (Ministère des Solidarités et de la Santé, Paris)*

Short oral presentation

- Surveillance et Prévention de l'AntibioRésistance en Etablissement de Santé (SPARES) : Focus sur la surveillance de l'antibiorésistance
Christian Martin (Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Limoges, Limoges, France)

Clôture du 15^e congrès national de la SFM



Société Française
de Microbiologie

MICROBES ●●●●●

15^e congrès national de la SFM

RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS

Lundi 30 septembre

Tara Oceans: Eco-Systems Biology at Planetary Scale

Chris Bowler (cbowler@biologie.ens.fr)

UMR8197, IBENS, Paris, France

The ocean is the largest ecosystem on Earth and yet we know very little about it. This is particularly true for the plankton that drift within, even though they form the base of marine food webs and are key players in Earth's biogeochemical cycles. Ocean plankton are at least as important for the Earth system as the forests on land, but most of them are invisible to the naked eye and thus are largely uncharacterized. To increase our understanding of this underexplored world, a multidisciplinary consortium, *Tara Oceans*, was formed around the 36m research schooner *Tara*, which sampled plankton at more than 210 sites and multiple depth layers in all the major oceanic regions during expeditions from 2009-2013 (Karsenti et al. Plos Biol., 2011). This talk will summarize the first foundational resources from the project, which collectively represent the largest DNA sequencing effort for the oceans (see Science special issue May 22, 2015 and Nature 28 April, 2016), and their initial analyses, illustrating several aspects of the *Tara Oceans*' eco-systems biology approach to address microbial contributions to macro-ecological processes. The project provides unique resources for several scientific disciplines that are foundational for mapping ocean biodiversity of a wide range of organisms that are rarely studied together, exploring their interactions, and integrating biology into our physico-chemical understanding of the ocean. These resources, and the scientific innovations emerging to understand them, are critical towards developing baseline ecological context and predictive power needed to track the impact of climate change on the oceans.

The secret interaction networks of giant viruses and their parasites

Matthias Fischer¹ (mfischer@mr.mpg.de), Thomas Hackl²

¹Max Planck Institute F. Medical Research, Heidelberg, Allemagne

²Massachusetts Institute for Technology, Boston, États-Unis

Giant DNA viruses of protists represent one of the most exciting discoveries in recent microbiological history. The genomes of Mimivirus, Pandoravirus, and other giant viruses exceed one million basepairs in length and can code for more than one thousand proteins. The astonishing enzymatic complexity of these viruses is also reflected in the fact that many giant viruses have their own parasites. Virophages, for instance, are smaller DNA viruses that parasitize the giant virus transcription system, which can severely compromise the replication of giant viruses. Even smaller parasites such as transposons and transposons are associated with giant viruses and virophages alike. These various mobile genetic elements exchange genes and use each other as vehicles to enter host cells, persist and propagate. I will present details about a host-virus-virophage system that centers on the marine heterotrophic flagellate *Cafeteria roenbergensis*, a protist species that appears to have co-evolved with virophages for long periods of time.

Mots clés : mimivirus - giant virus - virophage - transposon - protist.

Caractérisation des mécanismes d'altération des produits carnés et de la mer par *Brochothrix thermosphacta*

Nassima Illikoud (nassima.illikoud@gmail.com)

UMR 1014, INRA, Oniris, Université Bretagne-Loire, Nantes, France

L'altération microbiologique des aliments entraîne des pertes économiques considérables. Elle résulte du développement et du métabolisme des microorganismes produisant des odeurs, saveurs, textures ou des couleurs indésirables. *Brochothrix thermosphacta*, est l'une des principales bactéries d'altération des produits carnés et de la mer. Elle produit des métabolites responsables d'odeurs désagréables, variant suivant les souches, les aliments et les communautés bactériennes qui l'entourent. Nous avons évalué sa diversité génétique et phénotypique au sein d'une collection de souches issues de diverses origines écologiques. Différentes méthodes ont discriminé les souches en groupes distincts, révélant une diversité significative. Cependant, celle-ci n'est pas liée à l'environnement dont les souches ont été isolées. Quatre souches représentatives de cette diversité ont été analysées par génomique comparative. Le contenu génomique est similaire, les différences résidant dans le contenu en phages et/ou plasmides et en composants de surface qui peuvent contribuer à leur adaptation écologique. Des mutations ponctuelles peuvent être responsables des différentes capacités à produire des molécules d'altération. Une étude transcriptomique a montré que les gènes différenciellement exprimés sur les matrices viande ou produit de la mer codent des fonctions importantes pour la croissance et la survie sur ces niches spécifiques. L'analyse du volatilome a montré que *B. thermosphacta* produit différentes molécules responsables d'odeurs désagréables en fonction de la matrice. Par conséquent, nous avons montré un effet de matrice plutôt qu'un effet de souche sur le potentiel d'altération de *B. thermosphacta*.

Mots clés : *Brochothrix thermosphacta* - Altération - Acétoïne - Diacétyl - Diversité - Génomique comparative - Volatilome - Transcriptomique.

Cultures antifongiques applicables comme ferments de bioprotection dans les produits laitiers : sélection, évaluation à l'échelle pilote et identification de composés supports de l'activité

Marcia Leyva Salas (marcia.leyvasalas@univ-brest.fr)

Lubem, Univ. Brest, Plouzané, France

La contamination fongique des produits laitiers est à l'origine de pertes économiques conséquentes et de gaspillage alimentaire. Dans un contexte de demande pour plus de « naturalité », les cultures de bioprotection et leurs métabolites représentent une alternative d'intérêt aux conservateurs chimiques pour lutter contre ces contaminants.

Les objectifs de cette thèse étaient i) de sélectionner des micro-organismes présentant une activité antifongique, pour élaborer des cultures de bioprotection applicables dans des produits laitiers, et ii) d'étudier les composés potentiellement supports de l'activité antifongique observée. Dans un premier temps, l'activité antifongique de 32 souches de bactéries lactiques et propioniques a été étudiée en modèles « fromage » et « yaourt ». L'étude de combinaisons de souches et de leur innocuité a conduit à sélectionner 2 combinaisons binaires de lactobacilles (A 1 et A3). Leur efficacité et applicabilité a été évaluée à l'échelle pilote en fabrication de de crème fraîche et de fromage.

Les challenges tests et tests d'usages ont montré que selon le produit laitier, A1 et A3 ont une activité antifongique similaire ou supérieure que les cultures bioprotectrices commerciales. Selon l'inoculum ajouté, ces cultures n'impactent pas les caractéristiques technologiques et organoleptiques des produits laitiers. Des méthodes chromatographiques des composés antifongiques suivies d'analyses statistiques ont permis de mettre en évidence des « cocktails » de 2 à 17 composés, selon la matrice et la culture considérée, qui sont probablement supports de l'activité antifongique.

Ces travaux contribuent à une meilleure compréhension des mécanismes d'action de l'activité antifongique et devraient conduire au développement de cultures antifongiques pour remplacer les conservateurs dans les produits laitiers.

Mots clés : produits laitiers - contamination fongique - bioprotection - ferments additionnels - bactéries lactiques - composés antifongiques.

Rôle de l'îlot génomique *pks* dans la synthèse des sidérophores-microcines chez *Escherichia coli*

Clémence Massip (massip.c@chu-toulouse.fr)

Laboratoire Bactériologie, CHU de Toulouse, Toulouse, France

Les sidérophores-microcines H47 et M (MccH47 et MccM) sont des peptides antimicrobiens hybrides, constitués d'une entité peptidique couplée à un groupement dérivé d'un sidérophore, l'entérobactine. Elles sont à l'origine de l'activité antagoniste de la souche *Escherichia coli* Nissle (EcN) vis-à-vis d'entérobactéries pathogènes. Cette souche est également porteuse de l'îlot *pks* à l'origine de la synthèse d'une génotoxine, la colibactine.

Nous avons déterminé que la peptidase ClbP codée par l'îlot *pks* était indispensable à la synthèse des sidérophores-microcines chez EcN. C'est la partie C-terminale ancrant ClbP dans la membrane interne qui permet la synthèse des MccH47 et MccM, et non son site catalytique essentiel à la maturation de la colibactine. Par rapport au système génétique conduisant à la synthèse des MccH47 et MccM chez les souches *E. coli* CA46 et CA58, l'îlot sidérophores-microcines de EcN est tronqué. Nous avons montré que IroB, impliqué dans la synthèse des salmochélines était indispensable à l'activité antagoniste de EcN, probablement en assurant le rôle de son homologue McM_L manquant chez EcN. Nous avons déterminé que l'ensemble des souches séquencées de *E. coli* portant un îlot microcines tronqué possédait les îlots *pks* et salmochélines, ce qui renforce l'hypothèse d'une interdépendance et d'une coévolution de ces systèmes.

Nous avons étudié la présence des îlots microcines, *pks* et salmochélines dans une collection de souches de *E. coli* responsables de pyélonéphrites, cystites ou bactériuries asymptomatiques. L'analyse génétique de plus de 200 souches recueillies à la suite d'examen cyto-bactériologiques des urines a permis de confirmer l'association systématique de ces 3 îlots. La proportion des souches productrices de MccH47 et MccM est identique quel que soit le tableau clinique, ce qui tendrait à prouver qu'il s'agit davantage d'un facteur permettant la colonisation de l'arbre urinaire à partir de la niche intestinale plutôt que d'un facteur de virulence dans le tractus urinaire.

Mots clés : *E. coli* - sidérophores-microcines - îlot *pks*, colibactine - souches uropathogènes.

Caractérisation des protéines Str3 et Tpx1 dans l'homéostasie de l'hème chez la levure *Schizosaccharomyces pombe*

Vincent Normant (normant@unistra.fr)

Equipe Métaux et Microorganismes, CNRS UMR 7242 BSC, Illkirch, France

La molécule d'hème est un groupement prosthétique qui est requis par de nombreuses protéines impliquées dans des processus cellulaires vitaux. En excès, la molécule d'hème libre est toxique car elle peut facilement causer des dommages aux membranes ou participer à la formation d'espèces réactives à l'oxygène. Son homéostasie doit donc être rigoureusement régulée. Pour obtenir l'hème de façon exogène, les organismes ont développé une panoplie de stratégies afin de l'acquérir. De plus, pour plusieurs organismes incluant les levures pathogènes, il a été montré que leur capacité à acquérir l'hème est souvent en lien direct avec leur habilité à infecter l'hôte. Chez l'organisme modèle, *Schizosaccharomyces pombe*, il a été découvert que la protéine de surface Shu1 est impliquée dans l'acquisition d'hème. Une souche délétée pour le gène *hem1⁺* n'est plus capable de synthétiser de l'hème. Elle doit donc recourir à l'acquisition d'hème exogène pour survivre. Une souche *hem1Δ shu1Δ* n'est pas capable de croître en présence d'une faible quantité d'hème (0,075μM) dans le milieu de culture. Nous avons montré dans cette thèse que si cette concentration excède 0,15μM, la souche est capable de croître, suggérant l'existence d'un deuxième transporteur d'hème. Cette croissance est dépendante de la protéine Str3 qui code pour un transporteur de type MFS (Major Facilitator Superfamily transporter). Ainsi, une souche *hem1Δ shu1Δ str3Δ* présente une incapacité de croître en présence de 0,15μM d'hème, montrant l'importance de *str3⁺* à cette concentration d'hème. La protéine Str3 se localise à la surface cellulaire. Elle a la capacité de lier de l'hème via une boucle extracellulaire. Enfin, la présence de Str3 à la surface cellulaire permet l'entrée dans la cellule de Zinc-Mésoporphyrine (ZnMP), un analogue fluorescent de l'hème. Nous avons ensuite montré que Str3 interagit avec la peroxyrédoxine Tpx1 en présence d'hème. La protéine Tpx1, initialement caractérisée pour sa réponse au stress oxydatif, est capable de lier deux molécules d'hème au niveau de deux motifs CP. La mutation des deux motifs CP abolie la capacité de croissance en présence de 0,15μM d'hème d'une souche délétée pour les gènes *hem1⁺* et *shu1⁺* (*hem1Δ shu1Δ*). Ainsi, Tpx1 et Str3 participent à une voie commune d'assimilation de l'hème chez *S. pombe*. Enfin, nos résultats montrent que la présence de Str3 et Tpx1 est requise pour le fonctionnement de l'hémoprotéine Frp1, une ferriréductase de surface.

Mots clés : Hème - *Schizosaccharomyces pombe* - Transporteur MFS - Peroxyrédoxine - Str3 - Tpx1.

Action antioxydante et antimicrobienne de composés phénoliques dans des milieux modèles et des émulsions riches en lipides insaturés

Aurelia Pernin (aurelia.pernin@gmail.com)

Micalis Institute - INRA - AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

Les composés phénoliques pourraient être de bons candidats pour assurer la qualité et la sécurité des produits périssables tels que les aliments prêts-à-consommer. Très répandus dans les plantes et les co-produits agro-industriels, ils peuvent limiter l'oxydation de lipides insaturés d'intérêt nutritionnel (omega-3, dont DHA et EPA) et le développement de bactéries pathogènes alimentaires telles que *Listeria monocytogenes*. L'objectif de cette thèse est d'évaluer la double activité antioxydante et antimicrobienne de ces composés phénoliques dans des milieux alimentaires complexes et de mieux comprendre les mécanismes d'action associés.

L'étude en milieux modèles a tout d'abord permis de mettre en évidence des relations structure- activités et de décrypter certains mécanismes d'action

d'action mettant en jeu des paramètres tels que le nombre et l'environnement chimique des groupements phénoliques, le logP, les formes dissociées / non dissociées des acides phénoliques. Les performances de trois composés sélectionnés (eugénol, acide férulique et α -tocophérol) ont ensuite été évaluées dans des milieux alimentaires complexes plus réalistes : des émulsions h/e composées d'huile de poisson, d'une phase aqueuse et de protéines de lactosérum ou Tween 80 en tant qu'émulsifiant. L'acide férulique ne présente aucune activité antioxydante mais peut inhiber le développement de *L. monocytogenes*. En revanche, l'eugénol et l' α -tocophérol sont de bons antioxydants dans les émulsions à base de protéines de lactosérum alors qu'ils n'y sont pas antimicrobiens. Quelques mécanismes d'action sont proposés pour expliquer ces comportements.

Mots clés : composés phénoliques - antioxydant - antimicrobien - émulsion - oxydation des lipides - *Listeria monocytogenes*.

Implication des enzymes lipolytiques dans la virulence et la survie mycobactérienne

Pierre Santucci (pierre.santucci@crick.ac.uk)

The Francis Crick Institute, Londres, Royaume-Uni

L'agent pathogène responsable de la tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, utilise principalement les lipides comme source d'énergie lors du processus infectieux. Cela suggère que les enzymes lipolytiques (ELs) sont des acteurs métaboliques d'une importance cruciale, qui jouent un rôle essentiel pour la survie et la persistance du bacille au sein des granulomes tuberculeux. Cependant, peu d'informations sont disponibles concernant la fonction biologique et l'implication des ELs dans le métabolisme des lipides de *M. tuberculosis in vivo*.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés au rôle physiologique de la protéine LipY (Rv3097c), une TAG-hydrolase de la famille des protéines PE-PPE apparentée à la lipase Hormono-sensible humaine. En utilisant un modèle expérimental de « foamy » macrophages, nous avons démontré que cette protéine sécrétée par le système de sécrétion ESX-5 était responsable de l'hydrolyse des triacylglycerols (TAG) de l'hôte dans la lumière phagosomale. Parallèlement, par une approche multidisciplinaire nous avons confirmé que le domaine N-terminal PE régulait de manière négative l'activité catalytique de LipY. Enfin des études physico chimiques d'interaction sur des membranes des phospholipides ont permis de mieux comprendre le mode d'action intra et extracellulaire de cette enzyme.

Dans une seconde étude, nous avons développé un modèle expérimental robuste et réversible basé sur la biodisponibilité en azote et en carbone, deux facteurs essentiels qui gouvernent la formation et l'hydrolyse de TAG sous la forme d'inclusions lipidiques intracytoplasmiques (ILI) chez les mycobactéries. La simplicité d'utilisation de ce modèle s'avère être un excellent système biologique permettant d'étudier les propriétés phénotypiques des bacilles riches en ILI.

Un autre aspect de ce travail a consisté à caractériser biochimiquement et fonctionnellement la protéine LipG (Rv0646c) de *M. tuberculosis*. Nos résultats ont permis de proposer que LipG est une phospholipase/thioestérase qui interagit avec le feuillet interne de la membrane cytoplasmique afin de moduler la composition phospholipidique de l'enveloppe mycobactérienne.

D'autre part à travers plusieurs projets collaboratifs, nous avons caractérisé différentes familles de composés capables d'inhiber la croissance d'espèces mycobactériennes en inactivant de nombreuses hydrolases à cystéine ou sérine active impliquées dans la biosynthèse de l'enveloppe mycobactérienne. L'ensemble des résultats obtenus au cours de ces travaux de thèse confirme que certaines ELs sont directement impliquées dans la virulence et/ou la survie des mycobactéries pathogènes. De plus, une très grande partie de ce travail ouvre de nouvelles perspectives sur la caractérisation et l'inhibition d'acteurs protéiques essentiels au métabolisme des lipides *in vivo*, offrant ainsi de nouvelles opportunités pour lutter contre *M. tuberculosis*.

Mots clés : *Mycobacterium tuberculosis* - lipides - lipases - ILI - persistance - dormance - virulence.



Société Française
de Microbiologie

MICROBES

15^e congrès national de la SFM

RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS

Mardi 1^{er} octobre

Nouvelles cibles en thérapeutiques anti-infectieuses (en association avec la SFP)**SP1.1-O1**

Frédéric Delbac¹ (frederic.delbac@uca.fr), Hicham El Alaoui¹, Frédérique Chaucheyras-Durand², Elodie Peghaire¹, Nastasia Prybylski¹, Philippe Michaud³

¹LMGE UMR 6023, Université Clermont Auvergne, Aubière, France

²Lallemand, R&D Animal Nutrition, Blagnac, France

³Institut Pascal UMR 6602, Université Clermont Auvergne, Aubière, France

Les microsporidies constituent un groupe de parasites intracellulaires obligatoires apparentés aux champignons ayant un spectre d'hôtes très large allant des insectes à l'Homme. Ces agents pathogènes opportunistes émergents, responsables d'infections intestinales, oculaires, musculaires ou disséminées, sont désormais reconnus comme prioritaires par le « National Institutes of Health » suite à la pandémie de SIDA ainsi qu'en raison du nombre croissant de patients transplantés ou atteints de cancer. L'impact vétérinaire et économique de ces parasites en aquaculture et en apiculture est aussi à souligner. Ainsi, l'espèce *Nosema ceranae* fait partie des agents pathogènes les plus fréquemment rencontrés chez l'abeille domestique et représente un des facteurs incriminés dans les pertes de colonies. Bien que les microsporidies diffèrent par leur spectre d'hôtes et leur spécificité de type cellulaire et tissulaire, elles partagent toutes le même mécanisme d'invasion. Ces parasites ont en effet développé un processus d'invasion unique, impliquant l'extrusion très rapide d'une structure appelée tube polaire qui permet d'inoculer le sporoplasme infectieux à l'intérieur du cytoplasme de la cellule hôte, initiant ainsi le cycle de multiplication intracellulaire.

Le répertoire de molécules antimicrosporidiennes est relativement limité, l'albendazole et la fumagilline étant les deux principales options présentant tout de même des échecs thérapeutiques et des problèmes de toxicité. Nos recherches ont pour but de proposer de nouvelles solutions prophylactiques et/ou thérapeutiques pour lutter contre *N. ceranae* qui colonise l'intestin des abeilles domestiques et qui peut être à l'origine d'une maladie appelée nosérose des abeilles. En effet, le seul traitement vétérinaire efficace pour lutter contre cette maladie, le Fumidil®-B (à base de fumagilline) n'est plus disponible sur le marché. Nous avons ainsi pu identifier un polysaccharide produit par l'algue marine *Porphyridium marinum*, présentant des activités antimicrosporidiennes *in vitro* et *in vivo*. Ce composé pourrait cibler l'étape initiale d'adhésion des spores à leurs cellules-hôtes. D'autres molécules naturelles d'origine végétale sont également étudiées pour leurs activités anti-microsporidiennes. Récemment, nous avons mis en évidence les effets bénéfiques de certains probiotiques chez des abeilles infectées par *N. ceranae*. Enfin, des projets portent aussi sur le développement d'analogues de la fumagilline présentant une toxicité réduite.

Mots clés : Microsporidies - parasite intracellulaire - *Nosema* - antiparasitaire - molécules naturelles.

Nouvelles cibles en thérapeutiques anti-infectieuses (en association avec la SFP)**SP1.1-1****Des imidazopyridazines ciblant la TgCDPK1 diminuent fortement l'infection par *Toxoplasma gondii* dans un modèle murin de toxoplasmose congénitale**

Héloïse Débare¹ (heloise.debare@gmail.com), Firmin Baron¹, Nathalie Moiré¹, Louis Lantier¹, Bruno Héraut¹, Céline Ducournau¹, Nathalie Van Langendonck², Caroline Denevault-Sabourin³, Isabelle Dimier-Poisson¹, Françoise Debierre-Grockiego¹

¹ISP, Université Tours, INRA, Tours, France

²Parasitologie-Mycologie, CHRU de Tours, Tours, France

³GICC UMR 7292 CNRS, Tours, France

Introduction et objectifs :

En France, la toxoplasmose congénitale (2,5/10000 naissances) est la deuxième cause de malformations après la trisomie 21. Lors d'une contamination fœtale avérée par amniocentèse, le traitement quotidien associe sulfadiazine et pyriméthamine ciblant le métabolisme des folates, ce qui peut entraîner des effets secondaires graves. Malgré cette prévention, un taux de transmission non négligeable persiste (200 cas/an). Dans 10% des cas, les enfants présentent des manifestations neurologiques ou oculaires, ou encore un retard psychomoteur. Il est donc important de développer de nouveaux traitements plus spécifiques du parasite et moins toxiques.

Matériels et méthodes :

Dans ce contexte, nous avons conçu et synthétisé des imidazo[1,2-*b*]pyridazines ciblant la calcium-dépendant protein kinase 1 de *T. gondii* (TgCDPK1), une enzyme sans homologue chez les mammifères et indispensable à l'invasion des cellules hôtes par la forme tachyzoïte. Ces inhibiteurs ou leur forme salifiée ont été testés *in vitro* sur la prolifération des tachyzoïtes, et *in vitro* sur la réduction de la charge parasitaire dans un modèle de toxoplasmose aiguë (période d'infection de 7 jours) ou dans un modèle de toxoplasmose congénitale (infection à mi-gestation).

Résultats, discussion et conclusion :

La forme salifiée d'imidazo[1,2-*b*]pyridazines capables d'inhiber l'enzyme et la prolifération des tachyzoïtes *in vitro* à des concentrations de l'ordre du sub-micromolaire [1], a permis de diminuer de plus de 90% la charge parasitaire cérébrale et pulmonaire dans un modèle de toxoplasmose aiguë [2]. Dans un contexte gestationnel, le traitement par voie intrapéritonéale a induit une réduction du nombre de parasites de plus de 95% dans le cerveau et les poumons des femelles adultes et d'environ 60% dans les fœtus. Le traitement par voie orale a induit une réduction du nombre de parasites de plus de 90% dans le cerveau et de 50% dans les poumons des femelles adultes et de plus de 95% dans les fœtus. Ces résultats montrent que les imidazo[1,2-*b*]pyridazines sont des molécules prometteuses en alternative thérapeutique de la toxoplasmose congénitale humaine.

Mots clés : toxoplasmose congénitale - TgCDPK1 - imidazo[1,2-*b*]pyridazines.

Références :

1. Moine E, Dimier-Poisson I, Enguehard-Gueiffier C, Logé C, Pénichon M, Moiré N, et al. 2015. Eur J Med Chem. 105:80-105.
2. Moine E, Moiré N, Dimier-Poisson I, Brunet K, Couet W, Colas C, et al. 2018. Int J Parasitol 48:561-8.

Nouvelles cibles en thérapeutiques anti-infectieuses (en association avec la SFP)**SP1.1-2****Validation and exploration of HldE, a Promising Target for Antibiotic Potentiation in Gram-negative bacteria**

Sébastien Coyne¹ (sebastien.coyne@evotec.com), Sandra Silve¹, Yassine Cherrak^{1,2}, Jon U Hansen³, Michael Mourez¹, Eric Bacqué¹, Frédéric Jeannot¹

¹EVOTEC ID Lyon, Marcy-l'Étoile, France

²current: IMM UMR7255, Marseille, France

³Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark

Heptose residues are the first non-essential constituents of the inner core LPS of most Gram-negative bacteria. Deep rough mutants, devoid of heptose and therefore exhibiting a short LPS, have been shown to be highly susceptible to antibiotics. HldE is a cytoplasmic enzyme participating in the biosynthesis of ADP-glycero-manno-heptose, the active form of heptose that is incorporated into nascent LPS chains. Inhibitors of HldE have been reported.

As part of our collaboration with GSK within the IMI ENABLE consortium, we have evaluated HldE as a potential target to develop antibiotic potentiators. This study presents (i) the full validation of HldE; (ii) the characterization of an optimized HldE inhibitor and (iii) investigations of *tolC-hldE* synthetic lethality. Genetic inactivation of *hldE* in *E. coli* confirmed the extended antibiotics susceptibility of a heptose-null mutant, also confirmed by chemical inhibition of HldE by a reference compound in a *DtolC* strain. Potentiation occurred at low level of HldE inhibition, as visualized by a LPS gel assay. High concentration of the reference compound did not select resistance while a moderate frequency of resistance, mediated by *hldE* overexpression, was observed at a lower concentration. In an *in vivo* thigh infection model, a *DhldE* mutant displayed decreased virulence and 6-fold increased susceptible to erythromycin treatment.

An optimized HldE inhibitor, obtained by medicinal chemistry, exhibited increased potentiation on *E. coli*. However, the activity was still limited to a *DtolC* background. In the latter, surprisingly, stand-alone antibacterial activity was observed. The inability to generate a double inactivated *tolC* and *hldE* mutant together with growth arrest when both gene expression was repressed using CRIPR-Cas9 were suggestive of an unexpected synthetic lethality between *tolC* and *hldE*.

In conclusion, we have validated HldE both *in vitro* and *in vivo* as a valuable target for potentiating antibiotics and showed an intriguing synthetic lethality with *tolC*. *In vivo* decreased virulence of a heptose-null mutant suggests that HldE inhibition could in addition reduce the bacterial virulence. Our results warrants further efforts to design HldE inhibitors.

This research received funding from the Innovative Medicines Initiative Joint Undertaking under Grant Agreement 115583, within European Gram-negative Antibacterial Engine (ENABLE) project.

Mots clés : antibiotic potentiator - new target - Gram-negative - LPS biosynthesis.

Nouvelles cibles en thérapeutiques anti-infectieuses (en association avec la SFP)**SP1.1-3****Développement d'un système d'évaluation de la *trans*-traduction *in vitro***

Charlotte Guyomar^{1*} (charlotte.guyomar@gmail.com), Marion Thépaut^{1,2*} (marion.thepaut@univ-rennes1.fr), Sylvie Nonin-Lecomte³, Agnès Méreau⁴, Renan Goude¹, Reynald Gillet¹

¹UMR 6290, RBS, Univ. Rennes 1, CNRS, IGDR, Rennes, France

²SATT Ouest-Valorisation, Rennes, France

³UMR 8015, LCRB, Univ. Paris Descartes, CNRS, Faculté de Pharmacie, Paris, France

⁴UMR 6290, EGD, Univ. Rennes 1, CNRS, IGDR, Rennes, France

*Co-premiers auteurs

Introduction et objectifs :

Chez les bactéries, le principal processus de sauvetage des ribosomes bloqués en cours de synthèse protéique est la *trans*-traduction. Il est assuré par l'ARN transfert-messager (ARNtm), associé à une petite protéine basique, SmpB. Compte tenu de son absence chez les eucaryotes et de son importance pour la survie de nombreuses bactéries pathogènes, la *trans*-traduction est une cible particulièrement attrayante pour de nouveaux antibiotiques. Au cours de ce travail nous avons développé un système de criblage de molécules ciblant la *trans*-traduction, dans l'objectif de développer une nouvelle classe d'antibiotiques.

Matériels et méthodes :

Nous avons mis au point un système de détection original, basé sur le réassemblage d'une protéine fluorescente : la GFP. La GFP forme une structure tridimensionnelle comprenant onze feuillets bêta externes antiparallèles et une hélice alpha interne. Individuellement, ces fragments ne sont pas fluorescents mais lorsqu'ils sont assemblés, la GFP devient fluorescente. Le système repose sur un système de transcription-traduction *in vitro* (PURExpress®, NEB) auquel sont rajoutés : (i) un fragment d'ADN codant pour les 10 premiers domaines de la GFP (GFP1-10) et dépourvu de codon stop, (ii) la protéine SmpB et (iii) un ARNtm modifié (ARNtmGFP11) au niveau du mRNA-Like Domain (MLD) afin de coder pour le fragment C-terminal de la GFP (domaine 11).

Résultats, discussion et conclusion :

Lors de la traduction les ribosomes se retrouvent bloqués après la synthèse des 10 premiers domaines de la GFP. Le complexe non productif engendré est libéré par l'intermédiaire de l'ARNtmGFP11 et de son partenaire SmpB qui *trans*-traduisent la GFP1-10 bloquée en lui ajoutant le 11ème domaine manquant. Ainsi, une *trans*-traduction efficace est corrélée à l'apparition d'un signal de fluorescence engendré par la protéine GFP réassemblée. Le système développé permet de manière simple de détecter spécifiquement l'activité *trans*-traductionnelle *in vitro*. Il présente de nombreux avantages en comparaison aux systèmes de *trans*-traduction existants : il est non radioactif, rapide et précis. Il est également adaptable en microplaques pour des criblages à haut débit. Enfin, nous avons adapté ce système à la *trans*-traduction de bactéries ESKAPE, permettant ainsi d'évaluer aisément de nouveaux composés contre ces espèces.

Mots clés : Trans-traduction - ARNtm - Antibiotiques - GFP - Criblage.

Aliments fermentés

SP2.1-O1

Rôle des bactéries lactiques dans les propriétés nutritionnelles des céréales

Christèle Humblot (Christele.Humblot@ird.fr), Jean-Pierre Guyot

Nutripass, IRD, Montpellier, France

Les céréales sont des aliments de base dans le monde entier et dans les pays du Sud, beaucoup sont consommées après fermentation. La fermentation améliore souvent la qualité nutritionnelle des céréales et les acteurs de la fermentation que sont les bactéries lactiques peuvent avoir des propriétés intéressantes. Les cibles nutritionnelles auxquelles nous nous intéressons sont les femmes en âge de procréer et les jeunes enfants, qui représentent les populations les plus vulnérables.

L'objectif de cette présentation est de présenter les principales propriétés fonctionnelles portées par les bactéries lactiques et leur utilisation pour améliorer la qualité nutritionnelle des céréales.

Nous travaillons essentiellement sur deux aliments modèles : (i) le ben-saalga qui est une bouillie de mil fermenté consommée par l'ensemble de la population au Burkina Faso, mais notamment par les jeunes enfants (ii) l'injera, pain plat fermenté à base de teff consommé quotidiennement par la majorité de la population Ethiopienne.

Plusieurs aspects nutritionnels sont essentiels. Tout d'abord, la densité énergétique des bouillies destinées aux jeunes enfants se doit d'être aussi importante que possible pour satisfaire les besoins spécifiques à cette classe d'âge. L'utilisation de bactéries lactiques amylolytiques permet d'apporter des solutions concrètes. Ensuite, la synthèse de composés d'intérêt nutritionnels comme les vitamines du groupe B ou bien les caroténoïdes permet d'enrichir des aliments fermentés sans utiliser des molécules de synthèse. Enfin, la dégradation de facteurs antinutritionnels comme les tannins, qui chélatent les minéraux et les rendent ainsi moins bio-accessibles permet d'améliorer l'absorption des minéraux.

Pour identifier, puis utiliser les bactéries lactiques d'intérêt nutritionnel, la première étape consiste à connaître les acteurs de la fermentation. Ensuite, la caractérisation de leur potentiel est indispensable. Pour ce faire, nous utilisons une combinaison de méthodes adaptées à chaque question. Le criblage génétique et biochimique permet d'estimer un potentiel lorsque la bactérie croît dans un milieu de culture. Mais les tests dans les matrices alimentaires sont indispensables pour mesurer l'effet réel des bactéries sur la qualité nutritionnelle des aliments.

Plusieurs bactéries lactiques utilisées seules ou en combinaison, ont prouvé leur efficacité pour améliorer la qualité nutritionnelle des aliments céréaliers fermentés.

Mots clés : céréales - nutrition - fermentation - Lactobacillus - folate.

Aliments fermentés

SP2.1-1

Selection of effective antifungal cultures in fermented dairy products and identification of antifungal metabolites

Marcia Leyva Salas¹ (marcia.leyvasalas@univ-brest.fr), Jérôme Mounier¹, Gilles Garric², Marie-Bernadette Maillard², Florence Valence², Emmanuel Coton¹, Anne Thierry (anne.thierry@inra.fr)²

¹Lubem, Univ. Brest, Plouzané, France

²UMR STLO, Inra, Rennes, France

Introduction:

Antifungal cultures are of growing interest as an alternative to chemical preservatives to reduce food fungal spoilage in the context of a growing consumers' demand for clean label foods [1]. Our aim was to select strains that exhibit significant antifungal activity in dairy products and to identify the compounds most likely involved in their activity.

Materials and methods:

Lactic acid bacteria and propionibacteria strains were screened alone and in combinations in yogurt and cheese models against four major spoilage fungi (*Penicillium commune*, *Mucor racemosus*, *Galactomyces geotrichum*, and *Yarrowia lipolytica*). Two binary combinations of lactobacilli were then selected to be evaluated *in situ* as adjunct cultures in sour cream and semi-hard cheeses produced at a pilot scale to evaluate their antifungal activity during challenge tests and shelf life tests, and their impact on organoleptic properties. Four methods, including liquid and gas chromatography coupled to mass spectrometry, were combined to detect and quantify antifungal compounds. These methods targeted 56 antifungal compounds as well as volatile compounds and were followed by statistical analyses to identify the compounds associated to antifungal activity.

Results and discussion:

The more effective antifungal culture, composed of two lactobacilli strains, delayed the growth of *P. commune*, *M. racemosus* and *R. mucilaginosa* for 2–24 days on sour cream, depending of the antifungal culture inoculum, and the growth of *P. commune* in semi-hard cheese for 1–6 days. Antifungal cultures had no effect on organoleptic properties at low inoculum level (6 logCFU/mL) [2]. Overall, 53 antifungal compounds were detected, of which 33 were in significantly higher amount in at least one product inoculated with an antifungal culture compared to the controls. They were present at concentrations below their minimum inhibitory concentration and thus could act in synergy. Among them, the most commonly identified were acetic, hydroxyphenyllactic, phenyllactic, 3-phenylpropanoic, 3-(4-hydroxyphenyl)propanoic and 5-oxopyrrolidine-2-carboxylic acids, diacetyl, acetoin, and a yet unidentified volatile compound. Our screening approach allowed developing antifungal combinations that exhibit significant antifungal activity and providing future prospects for use as bioprotective cultures in dairy products. This extensive study also contributes to improve the knowledge about the action mode of antifungal lactobacilli.

Mots clés : bioprotection - antifungal - organic acids - volatiles - adjunct cultures.

Références :

1. Leyva Salas M, Mounier J, Valence F, Coton M Thierry A & Coton E. Antifungal Microbial Agents for Food Biopreservation— A Review. *Microorganisms*, 2017; 5:37.
2. Leyva Salas M, Thierry A, Lemaître M, Garric G, Harel-Oger M, Chatel M, et al. Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Combinations in Dairy Mimicking Models and Their Potential as Bioprotective Cultures in Pilot Scale Applications. *Front. Microbiol.*, 2018; 9.

Aliments fermentés

SP2.1-2

Nature et rôle des moteurs biotiques dans la construction des communautés microbiennes des fromages traditionnels

Françoise Irlinger¹ (francoise.irlinger@inra.fr), Eric Dugat-Bony¹, Mahendra Mariadassou², Olivier Rué², Valentin Loux², Valérie Barbe³, Corinne Cruaud³, Frédéric Gavory³, Céline Spelle⁴, Céline Delbès⁵

¹UMR 782, GMPA, INRA, Université Paris Saclay, Thiverval-Grignon, France

²MaIAGE, INRA, Jouy-en-Josas, France

³Génoscope, CEA, Evry, France

⁴CNAOL, Paris, France

⁵UMRF, Université Clermont Auvergne, INRA, Aurillac, France

Introduction et objectifs:

Les fromages AOP sont généralement considérés comme des produits de haute qualité, non standardisés, dont la richesse sensorielle peut s'expliquer par la diversification des conditions de production du lait et de transformation. Ces différentes pratiques contribueraient à façonner « *in situ* » la biodiversité microbienne et pourraient conduire à la sélection de souches fromagères constituant des écotypes d'espèces issues de l'environnement qui se sont adaptés au milieu laitier. Ce projet, lauréat de l'AO des grands projets de séquençage 2017 de France Génomique, cherche à démontrer cette hypothèse en caractérisant les moteurs biotiques de la construction des communautés microbiennes des fromages AOP, en lien avec la diversité des conditions de production du lait et de transformation fromagère à l'échelle du territoire et des filières. Il s'agit de la première étude d'envergure portant sur les micro-organismes présents dans l'ensemble des fromages AOP français.

Matériel et méthodes :

Le séquençage massif d'amplicons de gènes « marqueurs taxonomiques » a été utilisé pour décrire la diversité bactérienne de 1200 fromages ainsi que 400 laits appartenant aux 44 filières AOP françaises. Une base de métadonnées consolidant l'ensemble des informations techniques associées aux échantillons a été également constituée.

Résultats :

En utilisant cette approche, plus de 280 genres et 500 espèces bactériennes ont été identifiés à partir des 11817344 séquences générées sur l'ensemble des 2400 échantillons de fromages (pâtes et croûtes). L'analyse de la structure des communautés bactériennes des fromages et des laits à l'échelle globale au regard des facteurs identifiés au sein des métadonnées, a montré des différences nettes en termes de richesse et de composition des communautés bactériennes entre les 7 familles de fromage mais également une grande variabilité de la richesse au sein d'une même famille. Cette richesse bactérienne est généralement supérieure en surface qu'au cœur des fromages. D'autres facteurs structurants forts tels que la durée d'affinage, la saison ont été également mis en évidence.

L'analyse des données se poursuivra pour les communautés fongiques. Six genres microbiens identifiés comme « clé de voûte » seront enfin étudiés par une approche de génomique comparative dans la prochaine phase du projet en 2020.

Mots clés : Diversité - Métagénomique - Fromages AOP - Lait.

Aliments fermentés

SP2.1-3

Qualités organoleptiques et microorganismes des cidres : Quoi de neuf ?

Marina Cretenet (marina.cretenet@unicaen.fr), Boris Misery, Fabien Cousin, Jean-marie Laplace

ABTE, Université de Caen Normandie, Caen, France

Introduction et objectifs :

Les produits cidricoles sont obtenus par une fermentation du jus de pomme par une microflore complexe, encore largement méconnue. Dans cette diversité, les bactéries lactiques ont donc une incidence favorable sur le développement des qualités organoleptiques du cidre mais sont aussi susceptibles d'entraîner des altérations du produit. L'objectif de nos travaux est de caractériser, aux différents stades de l'élaboration du cidre à distiller, les flores levurienne et lactique de moûts par microbiologie classique pour constituer une collection d'isolats et par des analyses métagénomiques des écosystèmes microbiens.

Matériel et méthodes :

Trois campagnes de prélèvements dans des sites de production normands (2016, 2018, 2019) ont été effectuées afin d'étudier la diversité des microorganismes de cidres du moût à la période de maturation avant distillation et, en particulier des bactéries lactiques de produits cidricoles normands. Ces prélèvements ont permis de constituer une collection de plus de 5000 isolats, des études taxonomiques sur de nouvelles espèces et une étude de la diversité des levures et des bactéries séquençage haut-débit (Illumina MiSeq 2x 300 bp séquençage « paired-end » ; région V1-V3 16S).

Résultats, discussion et conclusions :

Les résultats des différentes campagnes permettent aujourd'hui de pointer des spécificités dans la fermentation des produits cidricoles en comparaison aux produits vinicoles. Le cidre français est le premier écosystème où plusieurs espèces du genre *Oenococcus* sp. sont présentes. Le suivi des populations microbiennes couplé à des analyses physicochimiques et aromatiques font apparaître des disparités selon les producteurs. L'étude de la diversité microbienne par séquençage haut débit apporte de nouvelles propositions de solutions technologiques permettant de détecter précocement l'apparition d'altération de façon à en limiter le développement ou de pilotage des arômes et la maîtrise de la TML lors de l'élaboration des cidres.

Mots clés : Cidre - Lactobacillus - Oenococcus - Qualité organoleptique.

Références :

1. Cousin FJ, Le Guellec R, Schlüsselhuber M, Dalmaso M, Laplace JM, Cretenet M. 2017. Microorganisms in Fermented Apple Beverages: Current Knowledge and Future Directions. *Microorganisms*. 5(3). pii: E39.
2. Cousin FJ, Le Guellec R, Chagnot C, Goux D, Dalmaso M, Laplace JM, Cretenet M. *Oenococcus sicerae* sp. nov., isolated from French cider. *Syst Appl Microbiol*. 2018 Dec 21. pii: S0723-2020(18)30261-3. doi: 10.1016/j.syapm.2018.12.006.

Microbiote : un promoteur de toxicité ? *(en association avec la STCM)***SP3.1-O1****Microbiote, un acteur clé dans la toxicité hépatique de l'alcool**

Gabriel Perlemuter (gabriel.perlemuter@aphp.fr)

Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France

Résumé non parvenu.

Microbiote : un promoteur de toxicité ? (en association avec la STCM)**SP3.1-O2****Impact of the gut microbiome in the success of anticancer therapies**

Laurence Zitvogel (laurence.zitvogel@gustaveroussy.fr), Lisa Derosa, Bertrand Routy, Aurélie Fluckiger, Conrad Rauber, Marine Fidelle, Paula Roberti, Connie Duong, Maryam Tidjani Alou, Valerio Iebba, Mélodie Bonvalet

Inserm, Gustave Roussy Cancer Center, University Paris Saclay, Villejuif, France

We recently highlighted the crucial role of gut microbiota in eliciting innate and adaptive immune responses beneficial for the host in the context of effective therapies against cancer. Chemotherapeutic agents facilitate the gut permeability and selective translocation of Gram positive bacteria in secondary lymphoid organs. There, anti-commensal pathogenic TH17 T cell responses are primed, facilitating the accumulation of TH1 helper T cells in tumor beds post-chemotherapy as well as tumor regression (Viaud S, Science 2013). These findings have been extended to platinum salts as well as to a combination of anti-IL-10R mAb+CpG (Iida et al. Science Nov 2013). The immune checkpoint blockers (ICB) anti-CTLA4 Ab and anti-PD1/PD-L1 Ab are first-in class compounds approved for reinstating cancer immunosurveillance and prolonging survival in metastatic patients. Zitvogel's group showed that antibiotics compromise the efficacy of these ICB in mice and patients and unveiled the immunomodulatory role of distinct commensals from the intestinal ecosystem in mobilizing anticancer immunosurveillance. Vétizou et al. showed that the antitumor effects of CTLA4 blockade, largely dependent upon Toll like receptor (TLR)2/TLR4 receptors, markedly rely on the regulatory commensal *Bacteroides fragilis* (in coordination with *Burkholderia cenocepacia*, Science Nov 2015). Next, the demonstration of the deleterious role of antibiotics in the clinical efficacy of PD-1 blockade in lung, kidney and bladder cancer patients was brought up, highlighting the role of *Akkermansia muciniphila* as the main player in the immunomodulatory effects of pembrolizumab or nivolumab (Routy et al. Science 2017 Nov2). The mechanisms by which *A. muciniphila* restores gut dysbiosis will be discussed, involving CCR9 and IL-12. From these findings, we infer that oncomicrobiotics and/or fecal microbial transplantation could be considered as adjuvants to the current oncological armamentarium in dysbiotic cancer bearers.

Microbiote : un promoteur de toxicité ? (en association avec la STCM)**SP3.1-1****Acquisition du fer chez *Faecalibacterium prausnitzii* par une approche Rnaseq dans un modèle de culture en Chambre de Freter**

Eugénie Huillet¹ (eugenie.huillet@inra.fr), Sophie Verstaeten¹, Sandrine Auger¹, Véronique Robert¹, Camille Mayeur¹, Audrey Raise², Sébastien Dupont², Laurent Beney², Philippe Langella¹, Muriel Thomas¹

¹Equipe Probiote, Unité Micalis, INRA, Jouy-en-Josas, France

²UMR - PAM, AgroSup, Dijon, France

Contexte : *Faecalibacterium prausnitzii* est une bactérie intestinale anaérobie stricte, consommatrice d'acétate, productrice de butyrate, aux propriétés anti-inflammatoire remarquables (1-3). Elle est présente abondamment dans le colon de l'individu sain et a tendance à diminuer chez les patients atteints de maladies inflammatoire chronique de l'intestin (MICI).

In vitro, la croissance de *F. prausnitzii* est fortement stimulée en présence d'acétate (4). *In vivo*, le rôle majeur de l'acétate entre *F. prausnitzii* consommatrice d'acétate et une autre bactérie du colon productrice d'acétate (*Bacteroides thetaiotaomicron*) a été montré dans notre équipe (5). Le métabolisme central et la voie du butyryl-CoA :acétate -CoA transférase sont bien décrits mais les autres voies métaboliques sont peu décrites.

Objectif : Notre premier objectif est d'identifier les gènes activés (exprimés ou surexprimés) dans une culture de *F. prausnitzii*, avec de l'acétate en excès, en début de phase stationnaire. Nous avons choisi cette phase de croissance pour identifier les gènes/opérons requis pour l'adaptation de *F. prausnitzii* à des limitations nutritionnelles.

Méthode : Nous avons analysé 4 transcriptomes, par la méthode RNAseq, correspondant aux 4 conditions de croissance choisies: phases exponentielle et stationnaire de croissance dans le milieu complexe BHI-S avec ou non supplémentation en acétate (33mM). Au préalable, nous avons vérifié sur nos échantillons (N=3) de cultures bactériennes utilisés pour réaliser l'extraction d'ARN total, que l'ajout d'acétate stimule la croissance de *F. prausnitzii* et sa production de butyrate.

Résultats : Nous avons ainsi identifié 370 gènes surexprimés (12,8 % du génome souche A2-165) lorsque la culture entre en phase stationnaire de croissance dans le milieu de culture avec acétate. La souche *F. prausnitzii* A2-165 dédie 23% de son génome à la fonction transport (4). Nous nous sommes focalisés sur cette catégorie avec les gènes les plus différentiellement exprimés dans cette liste de 370 gènes : 3 systèmes d'acquisition différents du fer ont été identifiés, suggérant une adaptation de *F. prausnitzii* à son environnement appauvri en fer. Cette bactérie est désormais en voie d'industrialisation (ANR en cours, DOPEOS).

Mots clés : *Faecalibacterium prausnitzii*, acétate, transcriptome, croissance début phase stationnaire, acquisition du fer.

Références :

1. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermudez-Humaran LG, Gratadoux JJ, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(43):16731-6.
2. Quevrain E, Maubert MA, Michon C, Chain F, Marquant R, Tailhades J, et al. Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut*. 2016;65(3):415-25.
3. Miquel S, Leclerc M, Martin R, Chain F, Lenoir M, Raguideau S, et al. Identification of metabolic signatures linked to anti-inflammatory effects of *Faecalibacterium prausnitzii*. *MBio*. 2015;6(2).
4. Heinken A, Khan MT, Paglia G, Rodionov DA, Harmsen HJ, Thiele I. Functional metabolic map of *Faecalibacterium prausnitzii*, a beneficial human gut microbe. *J Bacteriol*. 2014;196(18):3289-302.
5. Wrzosek L, Miquel S, Noordine ML, Bouet S, Joncquel Chevalier-Curt M, Robert V, et al. *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biol*. 2013;11:61.

Microbiote : un promoteur de toxicité ? (en association avec la STCM)**SP3.1-2****Adaptation of the adherent-invasive *E. coli* pathobiont to gut environment in the context of intestinal inflammation**

Nicolas Barnich (nicolas.barnich@uca.fr), Gwladys Sevrin, Lucie Gibold, Richard Bonnet, Julien Delmas

Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Crohn's Disease (CD) is a chronic inflammatory disease of the gastrointestinal tract involving the dynamic interaction of host genetics, the microbiome and inflammatory responses. Ileal mucosa of CD patients is often abnormally colonized by enterobacteria, and more specifically adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC). AIEC are considered to be pathobionts, because they colonize and promote inflammatory diseases due to the adaptive evolution of their genome in a susceptible host. AIEC virulence factor expression is required for optimal gut colonization capacity. Interestingly, differential flagellin regulation was observed between commensal *E. coli* (HS) and AIEC (LF82) strains using different models, such as dynamic gastro-intestinal model and mono-colonized mice. Flagellum expression by AIEC bacteria, in contrast to that of commensal *E. coli*, is enhanced under intestinal conditions (bile acids and mucins). Flagella, together with the serine-protease called Vat-AIEC playing a role of mucinase, are involved in AIEC ability to cross mucus layer *in vitro* and *in vivo*, conferring a selective advantage in penetrating mucus layer and reaching epithelial surface. Global RNA sequencing of AIEC strain LF82 show an explosive effect of bile acids with a dysregulation of about 40% of the genome, with a global upregulation of genes involved in degradation and downregulation of those implicated in several biosynthesis. Ethanolamine utilization bestows a competitive advantage on AIEC strains which are capable of degrading it. Activation of metabolic pathways that interplay together to provide an energy benefit to AIEC pathobiont. These results improve the understanding of the global regulatory network under environmental stress and provide potential features to prevent abnormal enterobacteria colonization of patients with CD.

Structural biology for developing novel antimicrobial agents**SP1.2-O1****The bacterial cell wall formation machinery as a target for new antibiotic development**

Andrea Dessen (andrea.dessen@ibs.fr)

Institut de Biologie Structurale, Grenoble, France

Résumé non parvenu.

Structural biology for developing novel antimicrobial agents

SP1.2-1

New insights into the efflux mechanism of the OprM-MexAB pump from *Pseudomonas aeruginosa*

Yvette Ntsogo¹ (isabelle.broutin@parisdescartes.fr), Laura Monlezun², Cyril Garnier³, Laetitia Daury⁴, Olivier Lambert⁴, Gilles Phan³, Isabelle Broutin³

¹Department of Biochemistry, University of Cambridge, Cambridge, Royaume-Uni

²Division of Molecular Microbiology, University of Dundee, Dundee, Royaume-Uni

³Faculté de Pharmacie UMR 8015, CNRS/Université Paris Descartes, Paris, France

⁴CBMN, UMR 5248, CNRS/Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France

Introduction et objectifs :

Bacterial infections remain a major public concern due to the accelerated increase in the appearance of antibiotic resistance. Among the different mechanisms used by bacteria to resist to antibiotics, the active efflux plays a major role. In Gram-negative bacteria, this is achieved by tripartite efflux pumps that form a macromolecular assembly spanning both membranes of the cellular wall. In *Pseudomonas aeruginosa*, an opportunistic pathogen highly involved in nosocomial diseases, the constitutive pump is OprM-MexAB. OprM, belonging to the outer membrane factor (OMF) family, is embedded in the outer membrane acting as an exit duct, MexB, the resistance nodulation division (RND) transporter, is a type-I transporter localized in the inner membrane, and MexA, belonging to the membrane fusion protein (MFP) family, is a periplasmic protein anchored in the inner membrane via an N-terminal palmitate, that makes the link between the two membrane proteins. Along with functional studies, many crystal structures were solved of the individual components of this pump and of pumps from homologous bacteria like TolC-AcrAB from *E. coli* [1-5]. Nevertheless, a lot of questions concerning the assembly, the mechanism of efflux, and the opening of the whole pump are still a matter of active research, as the blockage of these pumps could restore the utility of the actual therapeutic arsenal.

Matériels et méthodes :

In order to apprehend the efflux mechanism, a combine approach was used linking antibiotic MICs measurements performed on modified *P. aeruginosa* strains with Xray crystallographic structures of forceful opened OprM mutants, and cryo-electron microscopy structures of the whole assembly.

Résultats, discussion et conclusion :

New information will be presented on the functional mechanism of the efflux pump MexAB-OprM clarifying the role of the different protein actors, like the recognition clues between the MFP and the OMF proteins, and the MexA chaperoning role on the transporter conformation changes. The understanding of these precise mechanisms involved in the whole pump assembly and function will facilitate the design of new antibiotics targeting the conformational modifications involved in the opening and/or the formation of the edifice.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa* - pompe à efflux - structure 3D - résistance.

Références :

1. Tsutsumi, K., Yonehara, R., Ishizaka-Ikeda, E., Miyazaki, N., Maeda, S., Iwasaki, K., et al. (2019). Structures of the wild-type MexAB-OprM tripartite pump reveal its complex formation and drug efflux mechanism. *Nat Commun* 10(1), 1520.
2. Ntsogo Enguene, Y.V., Phan, G., Garnier, C., Ducruix, A., Prange, T., and Broutin, I. (2017). Xenon for tunnelling analysis of the efflux pump component OprN. *PLoS One* 12(9), e0184045.
3. Daury, L., Orange, F., Taveau, J.C., Verchere, A., Monlezun, L., Gounou, C., et al. (2016). Tripartite assembly of RND multidrug efflux pumps. *Nat Commun* 7, 10731.
4. Monlezun, L., Phan, G., Benabdelhak, H., Lascombe, M.B., Enguene, V.Y., Picard, M., et al. (2015). New OprM structure highlighting the nature of the N-terminal anchor. *Front Microbiol* 6, 667.
5. Du, D., Wang, Z., James, N.R., Voss, J.E., Klimont, E., Ohene-Agyei, T., et al. (2014). Structure of the AcrAB-TolC multidrug efflux pump. *Nature* 509(7501), 512-515.

Structural biology for developing novel antimicrobial agents

SP1.2-2

Structure-guided design of a NAD kinase inhibitor with anti-infectious properties

Clarisse Leseigneur^{1,2} (clarisse.leseigneur@pasteur.fr), Muriel Gelin^{3,4,5}, Julie Paoletti^{6,7}, Marie-Anne Nahori⁸, Valérie Huteau^{6,7}, Grégory Jouvion^{10,11,9}, Laurence Dugué^{6,7}, David Clément^{6,7}, Jean-Luc Pons^{3,4,5}, Liliane Assairi^{12,13}, Sylvie Pochet^{6,7}, Gilles Labesse^{3,4,5}, Olivier Dussurget^{1,2}

¹Unité de Recherche Yersinia, Institut Pasteur, Paris, France

²Université de Paris, Paris, France

³Centre de Biochimie Structurale, Montpellier, France

⁴CNRS UMR5048 Inserm U1054, Montpellier, France

⁵Université de Montpellier, Montpellier, France

⁶Unité de Chimie et Biocatalyse, Institut Pasteur, Paris, France

⁷CNRS UMR3523, Paris, France

⁸Unité des Toxines Bactériennes, Institut Pasteur, Paris, France

⁹Unité de Neuropathologie Expérimentale, Institut Pasteur, Paris, France

¹⁰Inserm UMR S933, Paris, France

¹¹Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

¹²Institut Curie, Orsay, France

¹³Inserm U759, Orsay, France

Multidrug resistance is a major public health problem, which requires urgent development of new antibiotics and thus identification of new bacterial targets, as pointed out by the World Health Organization (1). We have initiated the characterization of such a new target: the nicotinamide adenine dinucleotide kinase (NADK). NADK is an ubiquitous enzyme involved in the last step of NADP biosynthesis. It catalyzes the 2'-phosphorylation of NAD to NADP using ATP as the phosphate donor. NADK plays an important role in controlling the ratio of reduced coenzymes NADH/NADPH, which is necessary for proper balance of the redox state and proper function of many metabolic pathways. Its activity has been shown to be essential for growth in clinically relevant pathogenic bacteria such as *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella enterica* and *Pseudomonas aeruginosa*. Given its key role and its structural divergence from human NADK, bacterial NADK is a promising drug target for antibiotic discovery.

We initially solved the structure of *Listeria monocytogenes* NADK (2). Screening and *in situ* synthesis using NADK crystals led to the identification of a family of di-adenosine derivatives as NADK inhibitors (3). Recently, using our structure-based approach, we have designed a new lead compound showing increased activity against NADK. Importantly, this compound is strongly active against a variety of clinical *Staphylococcus aureus* isolates, including methicillin-resistant strains. Furthermore, we found that the lead compound attenuated the virulence of *S. aureus* in mouse infection models. These findings reveal that di-adenosine derivatives could control NADK activity and provide proof of concept that NADK is a druggable target against antibiotic-resistant pathogenic bacteria.

Mots clés : antibiotics - orphan target - NAD kinase - Staphylococcus - MRSA.

Références :

1. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en/>
2. Poncet-Montange et al. 2007. NAD kinases use substrate-assisted catalysis for specific recognition of NAD. *J Biol Chem* 282:33925–34.
3. Gelin et al. 2012. Screening and *in situ* synthesis using crystals of a NAD kinase lead to a potent antistaphylococcal compound. *Structure* 20:1107–17.

Structural biology for developing novel antimicrobial agents

SP1.2-3

Multivalent fucosides as antiadhesive against *Aspergillus fumigatus* infections

Annabelle Varrot¹ (annabelle.varrot@cermav.cnrs.fr), Victor Lehot², Sami Brument², Yoan Brissonet², David Goyard³, Christina Nativi⁴, Olivier Renaudet³, Patrice Le Pape⁵, Sébastien Gouin²

¹CERMAV UPR 5301, CNRS, Grenoble cedex 9, France

²CEISAM, UMR CNRS 6230, LUNAM Université, Nantes, France

³DCM, UMR5250, University Grenoble Alpes, Grenoble, France

⁴Department of Chemistry Ugo Schiff, University of Florence, Florence, Italie

⁵Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Nantes, Nantes, France

Aspergillus fumigatus is a prevalent airborne opportunistic fungal pathogen responsible for life-threatening lung or invasive infections in immunocompromised and cystic fibrosis patients. Antifungal resistant strains have emerged and new therapeutics are required. As a large number of pathogenic microorganisms, this mold produces carbohydrate binding proteins or lectins as receptors to specifically recognize glycoconjugates of the host epithelia triggering the first step of infection: adhesion to the host. As lectins play an important role in pathogen-host interactions, they have, thus, become promising drug-targets in particularly for antiadhesive therapy where pathogen adhesion - and therefore infection - would be prevented by fooling the lectins with soluble glycoconjugates. This will allow subsequently natural clearance of the pathogen.

FleA is a fucose specific lectin identified at the surface of *A. fumigatus* conidia with pro-inflammatory activity. It mediates adhesion of fungal conidia to human pneumocytes. We have accumulated substantial knowledge on the interactions of recombinant FleA with host glycoconjugates both at the biochemical and structural level (1-2). This led to the design of powerful fucose-derived inhibitors which can serve as antimicrobial therapeutic agents, as a complement to or an alternative to antifungal therapy (3-4). Multivalency of lectins plays a major role in their strong avidity for glycosylated cell surfaces. FleA folds as a 6-bladed-beta-propeller which forms dimers. It presents 12 fucose binding sites and this multivalency information has been exploited to design glycoconjugates with higher affinity and specificity. Multivalent fucosides glycoconjugates have showed a better potential as antiadhesive than their corresponding monovalent one. Some displayed high efficiency in preventing fungal spore adhesion to bronchoepithelial cells and they are being further developed.

Références :

1. Houser J, Komarek J, Kostlanova N, Cioci G, Varrot A, Kerr SC, Lahmann M, Balloy V, Fahy J V, Chignard M, Imberty A, Wimmerova M, 2013, PLoS One, 8:e83077.
2. Houser J, Komarek J, Cioci G, Varrot A, Imberty A, Wimmerova M, 2015, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 71:442-53.
3. Lehot V, Brissonet Y, Dussouy C, Brument S, Cabanettes A, Gillon E, Deniaud D, Varrot A, Le Pape P, Gouin SG, 2018, Chemistry, 24:19243-19249.
4. Goyard D, Baldoneschi V, Varrot A, Fiore M, Imberty A, Richichi B, Renaudet O, Nativi C, 2018, Bioconjug Chem, 29:83-88.

New technologies in microbiology

SP4.1-O1

Fourier transform infrared spectroscopy: unlocking fundamentals and prospects for bacterial strain typing

Ângela Novais¹ (angelasilvanovais@gmail.com), Ana R. Freitas¹, Carla Rodrigues², Luísa Peixe¹

¹Microbiology, UCIBIO. Faculty Pharmacy, Univ. Porto, Porto, Portugal

²Biodiversity & Epidemiology, Institut Pasteur, Paris, France

Bacterial strain typing is a fundamental tool for Public Health microbiology, especially to support surveillance and control of infectious diseases. Strategies based on different phenotypic and genotypic principles have been used since the early 1930's with variable outcomes and performances, supported by an increasing knowledge on bacterial population structure as well as advances on technologies, instruments and data analysis tools. Current challenges on infection control demand the implementation of a bacterial typing method that combines a high reliability and accuracy with a rapid, low cost and user-friendly performance.

Fourier-Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy is a phenotypic-based method used for bacterial differentiation since the 1990's that can be easily adapted to provide a simple, fast and cost-effective bacterial typing tool. Bacterial differentiation is based on characteristic spectral fingerprinting profiles, obtained by exposure of the bacteria to an infrared beam, that result from the variable composition in different macromolecules that produce characteristic vibration modes. Besides fundamentals, a brief historical overview on the applications of FT-IR for bacterial typing is provided in light of bacterial genotypic, phenotypic and biochemical features, in order to definitively give this methodology credit to be widely accepted by microbiologists for routine strain typing. Consistently, the discriminatory biochemical fingerprints observed on FT-IR spectra have been correlated with sugar-based coating structures that besides reflecting strain variation, are also of high relevance for the specificity in pathogen-host interactions. Finally, our experience in the application of a FT-IR-based workflow for surveillance and outbreak detection is presented, with a special focus on one of the most critical nosocomial pathogens nowadays – *Klebsiella pneumoniae*.

Mots clés : Strain differentiation - Spectroscopy - Surface polysaccharides.

New technologies in microbiology

SP4.1-O2

Aspects logistiques liés à la mise en place d'une plateforme de séquençage à haut débit en Santé Publique

Vincent Enouf¹ (vincent.enouf@pasteur.fr), Maud Vanpeene²

¹Plateforme de Microbiologie Mutualisée, Institut Pasteur, Paris, France

²IntegraGen SA, Évry, France

La plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) de l'Institut Pasteur, est ouverte depuis 2015 à l'ensemble des laboratoires de référence (CNR et CCOMS) et des collections pasteurienne de Paris et du Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP). Dans un esprit de mutualisation technologique, P2M regroupe les demandes et permet ainsi l'utilisation en routine du séquençage de nouvelle génération multi-pathogènes (NGS), technique qui restait jusqu'ici inaccessible car trop coûteuse pour de nombreux laboratoires de référence. Localisée dans le OMICS Center regroupant les activités de production de séquences et d'analyses de données, la plateforme réalise actuellement environ 25 000 séquences annuelles. Cette activité suivant un processus quasi-industriel, a été développée et fonctionne aujourd'hui en partenariat avec la société IntegraGen, spécialisée initialement dans le séquençage humain. Les résultats apportent une réelle plus-value en termes de santé publique, confirmée par les autorités de santé qui ont intégré une partie de ces nouveaux éléments dans le financement des CNR. Aujourd'hui, P2M réalise le séquençage NGS des CNR pasteuriens et de structures extérieures.

Une méthode unique de fabrication de librairie a été développée pour séquencer bactéries, virus, champignons, parasites selon le même procédé. Ainsi, il est plus aisé de déterminer un planning de production et de respecter les délais de rendu de résultats. Ces délais fluctuent en fonction du type de matrice, du jour de dépôt sur la plateforme et oscillent entre 3 et 12 jours. L'enregistrement des demandes sur le LIMS, la préparation des ADN, le respect des concentrations sont des éléments importants que le client doit parfaitement maîtriser pour garantir les meilleurs résultats. Il a été nécessaire d'investir dans de la robotique de pipetage.

L'analyse bioinformatique des données en sortie de séquenceur permettant de valider ou non la qualité des séquences, des outils informatiques de gestion (commandes de réactifs, commandes des clients, comptabilité), de management de la qualité, d'édition de devis et de facturation ont été développés spécifiquement pour cette plateforme afin de toujours obtenir de bons résultats et une parfaite traçabilité.

Mots clés : Plateforme - Séquençage - Santé publique - Multi-pathogènes - Illumina.

New technologies in microbiology

SP4.1-1

Métagénomique clinique : conclusions du groupe de réflexion Paris-Genève

Etienne Ruppé¹ (etienne.ruppe@inserm.fr), Maud Salmona²

¹Laboratoire de Bactériologie, AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

²Département des agents infectieux, Hôpital Saint-Louis, Université de Paris, Paris, France

Pour le groupe de métagénomique clinique Paris-Genève¹⁻²

Hôpitaux Universitaires de Genève, Laboratoire de Recherche Génomique, Genève, Suisse

Introduction et objectifs :

La métagénomique clinique (MgC) est définie comme l'application des nouveaux outils de séquençage (next-generation sequencing, NGS) à des échantillons cliniques en vue d'établir un diagnostic microbiologique, notamment l'identification d'agents potentiellement pathogènes et la prédiction de leur sensibilité aux antimicrobiens. En parallèle de la mise à disposition des séquenceurs de nouvelle génération dans les établissements de soins, la MgC est actuellement en plein essor. De nombreuses séries de cas sont rapportées dans la littérature, montrant le potentiel de la MgC comme outil diagnostique complémentaire aux méthodes conventionnelles. Ainsi nous avons créé un groupe de réflexion comprenant des experts franciliens et genevois provenant de différents horizons, avec comme objectif d'établir un consensus en vue de l'utilisation de la MgC en routine.

Matériels et méthodes :

Le groupe de MgC Paris-Genève comprend 18 experts en bactériologie, virologie, mycologie, parasitologie, maladies infectieuses, wet-lab et bioinformatique, travaillant dans 6 établissements de l'AP-HP et aux Hôpitaux Universitaires de Genève. A ce jour (juin 2019), 5 réunions de travail ont été tenues sur les thématiques suivantes : état des lieux des pratiques locales en MgC, préparation des échantillons, séquençage, informatique et bioinformatique.

Résultats, discussion et conclusion :

A travers les différentes réunions, un consensus a pu être dégagé sur les points suivants. La MgC est pour le moment effectuée sur séquenceur Illumina (San Diego, Californie). Tous les échantillons peuvent être considérés pour application de la MgC. Afin de capturer l'ensemble des informations de l'échantillon, il a été convenu d'analyser en parallèle l'ADN et l'ARN. La déplétion en ADN humain a semblé indispensable dans certaines situations (échantillons riches en cellules humaines, comme les échantillons purulents). Un minimum de 2x5 millions de séquences (150 bases) par échantillon a été établi, avec possibilité de séquencer avec une plus grande profondeur dans un second temps, et tout particulièrement en cas de suspicion d'infection virale. Un travail spécifique sur les bases de connaissance (nettoyage de la base RefSeq) et sur les stratégies d'analyse bioinformatique est toujours en cours.

New technologies in microbiology

SP4.1-2

A prospective multi-centreevaluation of the NG-test Carba5, a multiplex immunochromatographic assay for the rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in culture

Thierry Naas¹ (Thierry.naas@aphp.fr), Daniele Meunier², Lorena Lopez Cerero³, Pierre Bogaerts⁴, Eleonora Riccobono⁵, Elodie Creton⁶, Garance Cotellon⁶, Laurent Dortet⁶, Katy Hopkins², Gian-Maria Rossolini⁵, Youri Glupczynski⁴, Alvaro Pascual Hernández³, Neil Woodford², Stéphanie Simon⁷, Herve Volland⁷

¹EA7361, UPSud, Hôpital Bicêtre, Bactériologie, Le Kremlin-Bicêtre, France

²Public Health England, London, UK

³Hôpital de Séville, Séville, Espagne

⁴Hôpital UCL Montgodinne, Montgodinne, Belgique

⁵Hôpital Universitaire de Florence, Florence, Italie

⁶Hôpital Bicêtre, Bactériologie, Le Kremlin-Bicêtre, France

⁷CEA, Gif-sur-Yvette, France

The spread of carbapenemase-producing Enterobacteriales (CPE) is a public health concern. Rapid detection and identification of CPE is essential to prevent further spread and inform appropriate antimicrobial therapy. During a prospective multi-centre study, we have evaluated the NG-test Carba5 (NGBiotech), a multiplex Lateral Flow ImmunoAssay (LFIA) allowing the detection of NDM, OXA-48-, KPC-, VIM- and IMP-like carbapenemases from bacterial culture in less than 15 minutes (usually 2 min for positivity).

A total of 1095 isolates was tested between February - October 2018. KPC (n=151; 62% were from Italy), OXA-48-like (n=231; 43%, 26%, 21% came from France, Belgium and UK, respectively), NDM (n=119; 52% and 36% were from UK and France, respectively), VIM (n=94; 61% were from Spain), IMP (n=28; 79% were from Spain) and multiple carbapenemase producers (n=26) were all detected in a time-to-positivity average of 2-3 minutes (Table 1). Only 3/652 CPE (IMI-1, OXA-427 and OXA-23) were not detected, illustrating that the NG-test Carba5 was able to detect 99.5% of CPE circulating in the countries involved in the study. Of note, the NG-test Carba5 detected 12 IMP-8-positive isolates not detected by the Xpert® Carba-R assay (Cepheid).

The NG-test Carba5 is able to detect the 'big 5' carbapenemase families on their own or in combination with other carbapenemases. The overall sensitivity and specificity were nearly 100%. It requires minimum hands-on-time (<1 min), is easy to implement and has a time-to-positivity of less than 3 mins, in most of the cases. This tool is critical for implementing rapid infection control measures and is also relevant in areas with a high prevalence of NDM-, OXA-48-, KPC-, VIM- or IMP-like producers to discriminate between the carbapenemase families, especially with novel avibactam-based treatments.

Mots clés : LFIA - Carbapenemase - detection.

Metabolism and microbial pathogenesis

SP5.1-O1

Remodelling *Yersinia*-host interactions: For better or worse?

Petra Dersch (petra.dersch@uni-muenster.de)

University of Münster, Institute for Infectiology, Münster, Germany

Yersinia pseudotuberculosis evolved numerous strategies to survive in mammalian hosts. A hallmark is the ability to rapidly adjust the lifestyle upon host entry to prevent attacks by the host immune systems. One important strategy is that *Y. pseudotuberculosis* uses a type III secretion system to apply toxic effector proteins into professional phagocytes to prevent phagocytosis. Some isolates also produce the cytotoxic necrotizing factor (CNFY), which enhances Yop translocation, contributes significantly to the induction of acute inflammatory responses and results in extensive tissue destruction. Presence of CNFY leads to a strong reduction of professional phagocytes and natural killer cells, whereas a loss of the toxin allows efficient tissue infiltration of these immune cells and rapid killing of the pathogen. A suppression of CNFY function, however, increases interferon- γ -mediated responses, comprising non-inflammatory antimicrobial activities and tolerogenesis. This process is accompanied by a preterm reprogramming of the pathogen's transcriptional response towards persistence, which gives the bacteria a fitness edge against host responses and facilitates establishment of a commensal-type life style without disease symptoms. To capture the range, magnitude and complexity of the underlying control mechanisms, we used different RNA-seq-based approaches to identify control factors important for this process. We identified a range of complex regulatory cascades implicating sensory and regulatory RNAs. In summary, our findings highlight a novel level of complexity in which the concerted action of transcriptional regulators and non-coding RNAs adjusts the control of *Yersinia* fitness and virulence to the requirements of their virulent lifestyle.

Mots clés : bacterial virulence - virulence regulation - host response.

Références :

1. Nuss A.M., Heroven A.K., Waldmann B., Reinkensmeyer J., Jarek M., Beckstette M. & Dersch P. (2015) Transcription profiling by RNAseq reveals Crp as master regulator of small regulatory RNAs in *Yersinia pseudotuberculosis* PLoS Genetics, 11(3):e1005087.
2. Nuss A.M., Beckstette M., Pimenova M., Schmühl C., Opitz W., Pisano F., Heroven A.K., and Dersch P. Tissue dual RNA-seq allows fast discovery of infection-specific functions and ribo-regulators shaping host-pathogen transcriptome. (2017) Proc. Natl. Acad. Sci. USA Jan 17. pii: 201613405. doi: 10.1073/pnas.1613405114.
3. Heine W., Beckstette M., Heroven A.K., Thiemann S., Heise U., Nuss A.M., Pisano F., Strowig T., Dersch P. (2018) Loss of CNFY toxin-induced inflammation drives *Yersinia pseudotuberculosis* into persistency. PLOS Pathogens 14(2):e1006858.

Metabolism and microbial pathogenesis

SP5.1-1

The polyamine spermidine modulates the production of the bacterial genotoxin colibactin

Camille Chagneau^{1,2} (camille.chagneau@inserm.fr), Christophe Garcie^{1,2}, Nadège Greif¹, Alexander O. Brachmann³, Jörn Piel³, Jean-Philippe Nougayrède¹, Patricia Martin¹, Eric Oswald^{1,2}

¹Inserm/ IRSD, Toulouse, France

²CHU Purpan - Bactériologie, Toulouse, France

³Institute of Microbiology - ETH, Zürich, Suisse

Introduction :

Colibactin is a genotoxin produced by *Escherichia coli* strains that harbor the *pks* island. This polyketide/non-ribosomal peptide induces DNA double-strand breaks and DNA interstrand crosslinks in infected eukaryotic cells. Colibactin-producing strains are found associated with colorectal cancer biopsies in humans and promote intestinal tumor progression in various murine models. Polyamines are small polycationic molecules produced both by microorganisms and eukaryotic cells. Their levels are increased in malignancies, where they contribute to disease progression and metastasis. Bacteria can also take advantage of polyamines to modulate virulence factors regulation or biosynthesis. In this study, we investigated the putative roles of polyamines in colibactin genotoxic activity.

Material and methods:

E. coli mutants deleted for genes involved in the major endogenous polyamines synthase pathway were engineered and tested for colibactin related effects and production by different complementary assays: i.e. megalocytosis phenotype induction and quantification of histone H2AX phosphorylation in response to DNA damage after cell infection; DNA interstrand crosslink formation and colibactin prodrug motif quantification by LC-MS.

Results and discussion:

We demonstrated that the endogenous spermidine synthase SpeE is required for full genotoxic activity of colibactin-producing *E. coli*. Supplying spermidine in a $\Delta speE pks+$ *E. coli* strain restored genotoxic activity. Spermidine is involved in the autotoxicity linked to colibactin and is required for direct damaging activity on DNA. The production of colibactin prodrug motif is impaired in $\Delta speE$ mutants. Therefore, we demonstrated that spermidine has a direct impact on colibactin synthesis.

We describe a new interplay between the synthesis of the genotoxin colibactin and the polyamine spermidine. This work provides new hypotheses for the role of these metabolites in the pathophysiology, as both *E. coli* producing colibactin and polyamines are present in the gut and both associated with colorectal cancer tissue. This work highlights the potential deleterious synergy between microbiota and host cell metabolism during carcinogenesis.

Mots clés : colibactin - polyamines metabolism - spermidine - *Escherichia coli* - genotoxicity.

Metabolism and microbial pathogenesis

SP5.1-2

Le métabolisme du sucre est une cible prédominante d'adaptation chez *Escherichia coli* dans l'intestin de la souris

Mohamed Ghalayini^{1,2,3} (mohamed.ghalayini@inserm.fr), Mélanie Magnan¹, Sara Dion⁴, Erick Denamur^{4,5}, Olivier Tenaillon^{1,5}, Mathilde Lescat^{1,3,6}

¹UMR 1137, équipe QEM, Inserm, Paris, France

²APHP - Hôpital Avicenne, Réanimation médico-chirurgicale, Bobigny, France

³Université Paris Nord, PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, France

⁴UMR 1137, équipe EVRest, Inserm, Paris, France

⁵Université Paris Diderot, PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, France

⁶APHP - Hôpital Jean Verdier, Service de microbiologie, Bondy, France

Introductions et objectifs :

E. coli du groupe phylogénétique B2, responsable de pathologies extra-digestives, colonise de plus en plus le tube digestif des individus des pays industrialisés au détriment des autres groupes phylogénétiques, probablement en rapport avec un élément du mode de vie occidental comme l'alimentation. Une précédente expérimentation évolutive avait mis en évidence une faible sélection d'une souche de *E. coli* appartenant à ce groupe dans le tube digestif de souris nourries avec un seul régime standard (Lescat *et al.* 2017) suggérant une bonne adaptation de celle-ci (Couce & Tenaillon 2015). La question se pose du mode d'adaptation de *E. coli* du groupe phylogénétique B2 en fonction du régime, mais aussi du mode d'adaptation d'une souche de *E. coli* appartenant à un autre groupe phylogénétique.

Matériels et méthodes :

Nous avons étudié, pendant plus d'un an, l'adaptation de *E. coli* 536 (appartenant au groupe phylogénétique B2) extraite des fèces de souris nourries avec un régime riche en gras et en sucre (Western Diet, WD) et de *E. coli* HS extraite des fèces de souris nourries avec un régime WD ou nourries avec un régime standard avec fibre (Chow diet, CD). Les souches ont été extraites à trois points de temps, séquencées puis les mutations ont été analysées.

Résultats, discussion et conclusion:

Nous avons trouvé un fort signal de sélection chez *E. coli* HS en rapport avec des convergences mutationnelles touchant principalement le métabolisme du sucre. Les convergences touchant le métabolisme du maltose, du glycérate, du mannose et du 2keto-3-desoxy-D-gluconate se retrouvent significativement plus dans le groupe CD. Les convergences touchant le métabolisme du gluconate se retrouvent significativement plus chez WD. En contraste, nous avons observé une faible trace de sélection chez *E. coli* 536 probablement en rapport, en partie, avec le traitement à la streptomycine et une faible convergence sur *lacl*. Le métabolisme du sucre semble être un enjeu crucial d'adaptation de *E. coli* au tube digestif de souris dont les cibles dépendent du régime alimentaire mais dont l'intensité dépend de la souche.

Mots clés : *Escherichia coli* - Adaptation - Commensalisme - Expérimentation évolutive in vivo à long terme - Métabolisme du sucre.

Références :

1. Lescat M *et al.* 2017 *Molecular Ecology* 26(7), 1802–1817.
2. Couce A & Tenaillon O 2015 *Frontiers in Genetics*, 6, 99.

Metabolism and microbial pathogenesis

SP5.1-3

Modifications métaboliques chez *Pseudomonas aeruginosa* en coexistence avec *Staphylococcus aureus*

Laura Camus¹ (laura.camus@inserm.fr), Paul Briaud¹, Sylvère Bastien¹, Anne Doléans-Jordheim^{1,2}, Sylvie Elsen³, François Vandenesch^{1,2}, Karen Moreau¹

¹U1111 - Pathogénie des staphylocoques, CIRI - Inserm, Lyon, France

²Institut des Agents Infectieux, Lyon, France

³U1036, CEA - BIG, Grenoble, France

Objectifs et matériels :

Les poumons des patients atteints de mucoviscidose sont colonisés par de nombreux microorganismes dont les principaux agents d'intérêt clinique sont *Pseudomonas aeruginosa* (PA) et *Staphylococcus aureus* (SA). Selon la tranche d'âge, jusqu'à 40% des patients présentent une co-infection par ces deux bactéries. Différents modes d'interactions entre PA et SA se manifestent au cours de l'infection : les souches de PA peuvent soit inhiber la croissance du staphylocoque selon des mécanismes bien décrits, soit coexister durablement avec SA. Nous cherchons à comprendre comment cet état de coexistence affecte la physiologie de PA. Nous avons pour cela étudié l'expression génique et le métabolisme de 22 couples de souches PA/SA isolés d'expectorations de patients atteints de mucoviscidose et présentant cet état de coexistence.

Méthodes et résultats :

Les souches PA et SA de chaque couple ont été cultivées en monoculture et en coculture. L'expression génique chez PA après 4h de monoculture ou coculture a été évaluée par RNAseq (2 couples de souches) puis confirmée par RT-qPCR (22 couples). Les résultats obtenus montrent que la présence de SA modifie de manière importante le métabolisme de PA et l'utilisation des ressources nutritives. Chez 70% des souches de PA, la coculture avec SA induit une surexpression significative du système *aco*, impliqué dans le catabolisme de l'acétoïne. D'une part, les souches cliniques de SA ont présenté une forte production d'acétoïne, signal inducteur de la surexpression du système *aco* chez PA. D'autre part, un catabolisme de l'acétoïne a été observé chez les souches cliniques de PA, particulièrement en coexistence avec SA. Enfin, l'utilisation de mutants du système *aco* a permis de mettre en évidence que le catabolisme de l'acétoïne par PA favorise la survie des deux bactéries dans un milieu appauvri.

Conclusions :

Nos résultats indiquent que la coexistence avec SA induit une surexpression du système *aco* chez PA, lui permettant de cataboliser l'acétoïne produit par le staphylocoque. L'acétoïne, source de carbone alternative pour PA et impliquée dans la résistance au stress acide chez SA, pourrait favoriser la persistance des deux bactéries dans les poumons des patients atteints de mucoviscidose.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa* - *Staphylococcus aureus* - Mucoviscidose - Interactions - Acétoïne.

Thérapeutiques antifongiques (en association avec la SFMM/SFPT)

SP1.3-O1

Émergence de la résistance aux échinocandines

Isabelle Accoceberry (isabelle.accoceberry@chu-bordeaux.fr)

CNRS, UMR 5234, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

Les échinocandines (caspofungine, micafungine, anidulafungine) sont les derniers antifongiques mis sur le marché dans les années 2000 et les seuls ciblant la paroi cellulaire fongique, structure polysaccharidique complexe indispensable à la croissance et à la survie des champignons. Ce sont des inhibiteurs non-compétitifs de la glucane synthase, complexe enzymatique codé par les gènes *FKS*, responsable de la synthèse du β -1,3-D-glucane, composant majeur de la paroi fongique et absent des cellules de mammifères. Leur excellent profil de tolérance, le faible nombre d'interactions médicamenteuses, leur activité fongicide marquée vis-à-vis des *Candida spp* y compris les espèces résistantes aux azolés, font qu'elles se sont rapidement imposées comme le traitement de première ligne des candidoses invasives chez la plupart des patients. Leur consommation a donc fortement augmenté ces dernières années et des résistances associées à l'acquisition de mutations ponctuelles dans différentes régions appelées « Hot-Spot » des gènes *FKS* ont été rapportées. Si la prévalence de la résistance reste très faible chez *Candida albicans* et la plupart des *Candida spp*, les données concernant les espèces haploïdes *Candida glabrata* et *Candida auris* sont plus alarmantes.

En raison de la place importante des échinocandines dans l'arsenal antifongique encore limité, l'objectif de cette présentation est :

- (i) de fournir un aperçu actualisé de la résistance et de la tolérance aux échinocandines chez les *Candida spp*, en abordant les mécanismes moléculaires sous-jacents, l'épidémiologie, les méthodes phénotypiques et génotypiques de détection disponibles en routine [1] ;
- (ii) la pertinence clinique de la détection des mutations de résistance n'étant pas clairement établie, de démontrer l'intérêt du développement de modèles cellulaires d'expression des gènes *FKS* pour déterminer l'impact potentiel des mutations sur les concentrations minimales inhibitrices, la morphologie et la composition de la paroi, le fitness et la virulence ainsi que sur la réponse immunitaire de l'hôte [2-5]. La résistance microbiologique n'est pas le seul facteur déterminant dans la réponse au traitement, la sévérité de la maladie sous-jacente, le statut immunitaire de l'hôte, le contrôle de la source de l'infection, le délai de mise en œuvre du traitement, les paramètres PK-PD, le fitness de l'isolat ... peuvent jouer un rôle important.

Mots clés : Echinocandines - Résistance - Mutation FKS - *Candida spp*.

Références :

1. Healey KR, Perlin DS. 2018. Fungal Resistance to Echinocandins and the MDR Phenomenon in *Candida glabrata*. *J Fungi (Basel)*. 4(3). pii: E105.
2. Accoceberry I, Couzigou C, Fitton-Ouhabi V, Biteau N, Noël T. Challenging SNP impact on caspofungin resistance by full-length *FKS1* allele replacement in *Candida lusitanae*. 2019. *J Antimicrob Chemother*. 74(3):618-624.
3. Ben-Ami R, Garcia-Effron G, Lewis RE, Gamarra S, Leventakos K, Perlin DS, Kontoyiannis DP. 2011. Fitness and virulence costs of *Candida albicans* *FKS1* Hot Spot mutations associated with echinocandin resistance. *J Infect Dis*. 204(4):626-635.
4. Quilès F, Accoceberry I, Couzigou C, Francius G, Noël T, El-Kirat-Chatel S. 2017. AFM combined to ATR-FTIR reveals *Candida* cell wall changes under caspofungin treatment. *Nanoscale* 9:3731-3738.
5. Lewis RE, Viale P, Kontoyiannis DP. 2012. The potential impact of antifungal drug resistance mechanisms on the host immune response to *Candida*. *Virulence* 3(4):368-376.

Thérapeutiques antifongiques (en association avec la SFMM/SFPT)**SP1.3-O2****Antifungal stewardship**

Marie-Elisabeth Bougnoux (marie-elisabeth.bougnoux@aphp.fr)

Institut Pasteur - Necker-Enfants Malades, Paris, France

Résumé non parvenu.

Thérapeutiques antifongiques (en association avec la SFMM/SFPT)**SP1.3-O3****Optimisation de la prise en charge thérapeutique antifongique sous l'angle Pharmacocinétique/ Pharmacodynamique**

Peggy Gandia (gandia.p@chu-toulouse.fr)

Lab. Pharmacocinétique et Toxicologie, CHU Toulouse, Toulouse, France

Les patients atteints d'une infection fongique invasive (IFI) représentent une population dont le taux de mortalité (20-30%) reste élevé malgré un arsenal thérapeutique diversifié. Maximiser les chances de survie de ces patients requiert une prise en charge personnalisée impliquant un schéma posologique adapté. Ce dernier est usuellement établi selon 3 critères principaux : l'effet concentration- ou temps-dépendant, la présence d'un effet post-antifongique et le profil pharmacocinétique de l'antifongique. Il peut être amélioré à l'échelle individuelle par le biais d'un suivi thérapeutique pharmacologique (STP).

Pour qu'un médicament soit éligible au STP, il doit répondre à 3 conditions : (1) une relation entre exposition et effet, caractérisée par le critère pharmacocinétique/pharmacodynamique (PK/PD), (2) une marge thérapeutique étroite, et (3) une forte variabilité inter-individuelle associée à une faible variabilité intra-individuelle. Ceci est le cas de la Flucytosine et des triazolés pour lesquels le STP est recommandé de sorte à optimiser la réponse au traitement tout en limitant sa toxicité. A l'inverse, pour l'Ambisome et la Caspofungine, le STP n'est recommandé que chez les populations connues pour présenter une forte variabilité inter-individuelle des paramètres pharmacocinétiques (i.e. réanimation...).

A ce jour, le STP des ATF, tel qu'il est réalisé en pratique hospitalière, repose sur la détermination de concentrations plasmatiques mesurées à des temps choisis puis comparées à des seuils préétablis (par exemple, dosage de la concentration maximale pour la Flucytosine et de la concentration minimale pour les ATF triazolés). En effet, l'utilisation directe des critères PK/PD (C_{max}/CMI , ASC/CMI , $T > CMI$) est difficilement applicable à la pratique clinique pour des raisons d'épargne sanguine et de logistique. Toutefois, ce STP dit standard reste perfectible et peut facilement être optimisé à l'aide de la pharmacocinétique de population (PK POP), approche encore trop peu développée en milieu hospitalier. En effet, la PK POP permet d'estimer le profil cinétique complet d'un médicament pour un patient et interpréter ainsi des concentrations mesurées pour des schémas d'administration (doses, intervalle entre deux prises) non conventionnels. En outre, elle permet d'estimer la valence cinétique du critère PK/PD (i.e. ASC pour les triazolés) et définir au mieux le schéma d'administration garantissant une efficacité micro-biologique et/ou clinique.

Mots clés : Antifongique - Suivi thérapeutique pharmacologique - Critère pharmacocinétique/pharmacodynamique.

Thérapeutiques antifongiques (en association avec la SFMM/SFPT)**SP1.3-1*****Lactobacillus rhamnosus* Lcr35® as an effective treatment for preventing *Candida albicans* infection in the preclinical model *Caenorhabditis elegans***

Cyril Poupet¹ (cyril.poupet@uca.fr), Taous Saraoui¹, Philippe Veisseire¹, Muriel Bonnet¹, Marylise Gachinat¹, Olivier Camarès¹, Christophe Chassard¹, Adrien Nivoliez², Stéphanie Bornes¹

¹UMRF 0545 UCA INRA VAS, Aurillac, France

²biose Industrie, Aurillac, France

Introduction and aims:

The increased recurrence of *Candida albicans* infections is associated with greater resistance to anti-fungal drugs. This involves the establishment of alternative therapeutic protocols such as the use of probiotic microorganisms whose antifungal potential has already been demonstrated using preclinical models (cell cultures, laboratory animals) and clinical studies. Understanding the mechanisms of action of probiotic microorganisms has become a strategic need for the development of new therapeutics for humans. In this study, we investigated the prophylactic anti-*Candida albicans* properties of *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35® using the *in vivo* *Caenorhabditis elegans* model.

Materials and methods:

For this, we followed the survival of the nematode in the case of a fungal infection, prevented or not by the probiotic Lcr35®. This followed by a gene expression analysis. Also, we are interested in the localization of the DAF-16 transcription factor.

Results, discussion and conclusion:

On the top of having a pro-longevity activity in the nematode, Lcr35® protects the animal from the fungal infection even if the yeast is still detectable in its intestine. At the mechanistic level, we note the repression of genes of the p38 MAPK signaling pathway and genes involved in the antifungal response induced by Lcr35® suggesting that the pathogen no longer appears to be detected by the worm immune system. However, the DAF-16 / FOXO transcription factor, implicated in the longevity and antipathogenic response of *C. elegans*, is activated by Lcr35®. These results suggest that the probiotic strain acts by stimulating its host via DAF-16, but also by suppressing the virulence of the pathogen. However, for more precision, an exhaustive study of the *C. elegans* transcriptome will be carried out in order to decipher the mechanisms of action of Lcr35®.

Mots clés : *C. elegans* - *Lactobacillus rhamnosus* - *Candida albicans* - survival - immune response.

Références :

1. Poupet C, Saraoui T, Veisseire P, Bonnet M, Dausset C, Gachinat M, et al. *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35® as an effective treatment for preventing *Candida albicans* infection in preclinical models: first mechanistical insights. bioRxiv [Internet]. 2019 Apr 18 [cited 2019 May 10];612481. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/612481v1>.
2. Nivoliez A, Camares O, Paquet-Gachinat M, Bornes S, Forestier C, Veisseire P. Influence of manufacturing processes on *in vitro* properties of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35®. *J Biotechnol.* 2012;160(3-4):236-41.

Interactions hôtes-pathogènes environnementaux

SP6.1-O1

Écologie, évolution et émergence de vibrios pathogènes

Frédérique Le Roux (fleroux@sb-roscoff.fr), Yannick Labreuche

LBI2M UMR 8227 SBR Roscoff, Ifremer, Roscoff, France

Alors que les études sur agents infectieux d'invertébrés marins ont bénéficiées de l'ère de la génomique, l'exploration des mécanismes de virulence est souvent biaisée par ce qui est connu chez les pathogènes humains. Or les vibrios environnementaux (par opposition aux quelques souches *V. cholerae* modèles de laboratoire) sont particulièrement pertinents pour aborder des questions fondamentales telles que la dynamique éco-évolutive des pathogènes. Ils représentent de plus une source précieuse de mécanismes moléculaires à découvrir. Dans une première partie, je discuterai de l'histoire évolutive de vibrios pathogènes d'huîtres creuses et de la sélection de souches plus virulentes dans des fermes ostréicoles. Cette sélection dépend d'un plasmide codant un système de sécrétion de type VI (T6SS). Ce T6SS est responsable de la toxicité du vibrio contre les cellules clés de la réponse immunitaire de l'huître. Dans la deuxième partie de mon exposé, je décrirai une nouvelle toxine, la nigrtoxine, initialement identifiée chez un vibrio pathogène de crevette. Cette toxine s'est avérée létale pour les Tetraconata (crustacés et hexapodes) alors qu'elle ne présente pas de toxicité pour les autres animaux. La nigrtoxine possède une nouvelle structure protéique de type a / b. Son domaine N-terminal est essentiel à la translocation cellulaire de la protéine et probablement à la spécificité envers les Tetraconata. Une fois internalisée par les cellules eucaryotes, la nigrtoxine induit une mort cellulaire par apoptose par le biais de caractéristiques structurelles localisées dans le domaine C-terminal de la protéine.

Mots clés : evolution - ecologie - virulence - vibrio - invertébrés.

Interactions hôtes-pathogènes environnementaux**SP6.1-O2****Insectes et phytopathogènes**

Yvan Rahbé (yvan.rahbe@inra.fr)

INRA, Lyon, France

Résumé non parvenu.

Interactions hôtes-pathogènes environnementaux

SP6.1-1

Les amibes libres de l'environnement contribuent-elles à disperser l'antibio-résistance ?

Sabine Favre-Bonté¹ (sabine.favre-bonte@univ-lyon1.fr), Maelenn Le Roy¹, Marion Rocher², Margaux Gaschet³, Christophe Dagot³, Yann Héchard², Marie-Cécile Ploy³, Sylvie Nazaret¹

¹Equipe MEEB, Ecologie Microbienne CNRS5557 INRA1418, Villeurbanne, France

²Equipe Microbiologie de l'Eau CNRS7267, Ecologie Biologie des Interactions, Poitiers, France

³UMR INSERM 1092, Limoges, France

Introduction et objectifs :

La résistance aux antibiotiques est une préoccupation majeure pour la santé publique et l'environnement. Les effluents hospitaliers, urbains ou d'élevage, et les eaux usées traitées des stations d'épuration (STEU) sont des sources de bactéries résistantes aux antibiotiques et de gènes de résistance aux antibiotiques. Leur rejet dans les milieux naturels contribue à la dissémination de l'antibiorésistance et, leur survie et persistance dans l'environnement vont être notamment conditionnées par les interactions avec d'autres microorganismes comme la microfaune. Les amibes sont connues pour se nourrir principalement de bactéries par phagocytose. Certaines peuvent cependant être également des réservoirs de pathogènes. En effet des analyses de diversité amibienne de l'eau par approche métagénomique et de sols par approche culturale, ont révélé la présence, de bactéries appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Burkholderia* ou *Acinetobacter* et aux espèces opportunistes comme *S. maltophilia* ou *P. aeruginosa* dont certaines souches sont multi-résistantes aux antibiotiques. Ainsi dans l'environnement, les amibes pourraient contribuer à la survie et la dispersion de bactéries antibiorésistantes.

Matériels et méthodes :

57 échantillons d'eaux ont été prélevés sur le site de Limoges : eaux du réseau hospitalier, eaux usées urbaines (sans activité de soins), entrée et sortie de la STEU et rivière recevant les effluents traités de la STEU. Les amibes, les bactéries et les bactéries associées à 75 amibes ont été isolées. Le profil d'antibiorésistance des souches de *S. maltophilia* et *P. aeruginosa* a été caractérisé. Les intégrons de résistance aux antibiotiques (classes 1, 2 et 3) ont été recherchés par qPCR, dans le compartiment amibien et hors des amibes.

Résultats, discussion et conclusion :

Les souches de *P. aeruginosa* associées aux amibes semblent moins résistantes que celles isolées des eaux, alors que les souches de *S. maltophilia* associées aux amibes y compris dans la rivière, présentent plus de résistances acquises que celles libres. Si les intégrons de classes 1, 2 et 3 sont détectés dans les eaux le long du transect, seuls les intégrons de classe 1 sont retrouvés associés aux amibes. Ces résultats mettent en avant le rôle potentiel des amibes dans la dispersion de l'antibiorésistance dans l'environnement.

Mots clés : *Stenotrophomonas maltophilia* - *Pseudomonas aeruginosa* - Amibes libres - STEU - antibiorésistance.

Interactions hôtes-pathogènes environnementaux

SP6.1-2

Inventaire comparatif des tiques de la région de Bouzeguène (entre 2014 et 2015), et la détection moléculaire des *Rickettsia*

Karima Brahmi (karib20032002@yahoo.fr)

Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Département de biologie, Tizi-Ouzou, Algérie

A tick inventory was carried out in the region of Bouzeguène to bioclimatic per-wet and cold winter between January and May 2015. Sampling of ticks on cattle of different farms was conducted by direct capture by hand. This technique has revealed the existence of 7 species of ticks of the family Ixodidae: *Hyalomma marginatum marginatum*, *Hyalomma detritum detritum*, *Hyalomma* sp, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus* sp.. and *Boophilus* sp. The comparative study of our study to that made in the previous year over the same period revealed the abundance *Hyalomma marginatum marginatum* in 2014 with a rate of 37.03% and rather *Boophilus* sp. in 2015 with a rate of 47.26%. We also noted the absence of *Ixodes* species during our year of study, suspecting the little altitude level of our website. The parasite rates highlighted the difference in infestation rates and parasite loads of species of different farms. Finally, molecular detection of *Rickettsia* was performed on ticks by PCR, confirming the existence of the genus *Rickettsia* Bouzeguène in the region.

Mots clés : Inventory; - Ticks; - Parasite rates - Pathogen - *Rickettsia* sp.

Références :

1. Kernif T., Messaoudene D., Ouahioune S., Parola P., Raoult D., Bitam I., 2012 - Spotted fever group *Rickettsiae* identified in *Dermacentor marginatus* and *Ixodes ricinus* ticks in Algeria. *Ticks Tick Borne Dis.* (5-6): P380-1.
2. Kernif T., Parola P., Yssouf A., Socolovschi C., Temmam S., Lagadec E., Tortosa P., - First molecular detection of *Rickettsia africae* in ticks from the Union of the Comoros. *Parasit Vectors.* 22: 444p.
3. Parola P, Paddock Cd, Raoult D. (2005) - ticks borne *Rickettsioses* around the world: emerging discuses challenging old concepts. *Clin. Microbiol. Rev;* 18: p: 719-756.
4. Parola P & Raoult D., 2001 - Ticks and tick-borne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Erratum in: Clin Infect;* 33(5):749.
5. Walker A.r., Bouattour A., Camicas J.-L., Estrada-Peña A., I.g.horak., Latif A.a., Pergram R.g. And Preston P.m. (2003). *Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to Identification of Species.* Edit. Atalanta et Houten, Netherlands (Pays-Bas), 227p.

Interactions hôtes-pathogènes environnementaux

SP6.1-3

Diversité génétique et répartition spatiale de *M. ulcerans* par séquençage ADN du génome

Alban Besnard (alban.besnard@inserm.fr)

CRCINA Inserm U1232, Angers, France

Introduction et objectifs :

Mycobacterium ulcerans (Mu) est l'agent causal d'une maladie tropicale négligée diagnostiquée majoritairement en Afrique Centrale et de l'Ouest qui porte le nom de l'ulcère de Buruli. D'après les connaissances scientifiques, la bactérie est associée à l'eau et elle se transmet par inoculation. Néanmoins les réservoirs du pathogène et ses vecteurs sont encore mal connus. Dans cette présentation, nous montrerons comment la mise en relation entre la diversité génétique obtenue par séquençage du génome et la géolocalisation des patients peut nous donner des informations importantes sur la bactérie, ses réservoirs et sa dissémination.

Matériels et méthodes :

Pour cela, nous avons travaillé avec 208 souches provenant de patients béninois ayant contractés la maladie entre 2006 et 2017. Le lieu de vie de chaque patient a été géolocalisé. Après isolement des souches, un séquençage ADN a été effectué avec Illumina ou IonTorrent selon les années. A la suite d'une détection de SNP avec snippy en alignant sur un génome de référence (Agy99), la construction d'un arbre phylogénétique a été effectué avec PhymI. Une fois les groupes génétiques déterminés, nous avons analysé leur répartition géographique et identifié des clusters géographiques avec un modèle spatial de QGIS (Satscan).

Résultats et discussion :

7167 SNP ont été identifiés et 5922 ont été conservés selon des critères de couverture minimum sur toutes nos souches. 4800 SNP caractérisent des différences avec un groupe distant (Mu A2) auquel appartiennent 7 de nos souches. 1021 SNP marquent des différences entre nos souches restantes (Mu A1), dont 436 qui ne sont présent qu'une seule fois.

Nous avons déterminé 9 clusters génétiques, l'un d'eux étant très différent des autres (Mu A2). Ces différents groupes ne sont pas répartis aléatoirement sur le territoire et 3 clusters géographiques ont été identifiés. Cela traduit l'existence de plusieurs réservoirs indépendants dans le bassin étudié.

Il serait intéressant d'étudier la diversité génétique des souches environnementales de *M. ulcerans* dans les zones identifiées pour tester nos hypothèses.

Mots clés : Séquençage - Diversité génétique - Mycobacterium Ulcerans - Phylogénie.

Sécurité des aliments : la vigilance reste de mise

SP2.2-O1

Épidémie de listériose en Afrique du Sud : qu'avons-nous appris ?

Alexandre Leclercq (alexlec@pasteur.fr)

CNR/CCOMS LISTERIA, Institut Pasteur, Paris, France

De juin 2017 à juillet 2018, la plus grande épidémie mondiale de listériose a eu lieu en Afrique du Sud, pays dont la prévalence de l'infection par le HIV est élevée, notamment chez les femmes en âge de procréer. 937 cas furent confirmés dont 43% de nouveau-nés et un taux de mortalité global de 26%. Les investigations microbiologiques et épidémiologiques, auxquelles l'OMS a pris part, identifièrent que la source était un aliment prêt-à-consommer à base de viandes, le « French Polony », fabriqué dans une grande entreprise agroalimentaire sud-africaine. Ce produit largement consommé nationalement a conduit à une exposition élevée de la population, notamment les sujets à risque, femmes enceintes et/ou sujets immunodéprimés. La souche de *Listeria monocytogenes* responsable de cette épidémie appartenait au clone hypervirulent CC6 (LISL6ST6CT4148).

Les principaux enseignements tirés de cette épidémie sont les suivants :

- La listériose ne survient pas que dans l'hémisphère nord. *Listeria monocytogenes* peut également être la cause d'épidémies dans les pays du Sud, du fait la présence de populations à risque. Une surveillance active est donc nécessaire avec notification obligatoire des cas et utilisation du typage génomique centralisé des souches d'origine clinique et d'origine alimentaire afin d'identifier les clusters de cas et leurs sources. Cette surveillance microbiologique permet de déclencher et de guider les investigations épidémiologiques pour une détection rapide et un management optimal de l'épidémie.
- La nécessité d'une approche coordonnée de type « One Health » et d'une communication entre les différentes autorités en charge de la surveillance.
- La nécessité d'adopter des réglementations en hygiène des aliments adaptées intégrant l'HACCP. Ceci est facilité par l'existence du *Codex Alimentarius* et la prise en compte des capacités analytiques locales et de la population à risque rencontrée.

Après plus de 110 épidémies répertoriées mondialement, il est important de ne pas négliger le danger représenté par *Listeria monocytogenes* dans la surveillance nationale des pathogènes alimentaires, y compris dans les pays du Sud. L'absence de surveillance peut engendrer des pertes humaines et économiques lourdes, et avoir un impact national, régional, voire international, en cas d'exportation de l'aliment contaminé à l'origine de l'épidémie.

Mots clés : Afrique du Sud - Listeria - Grossesse - Sécurité alimentaire - Surveillance épidémiologique.

Sécurité des aliments : la vigilance reste de mise

SP2.2-1

Les lipides insaturés des aliments, accélérateurs de croissance pour *Listeria monocytogenes*

Florence Dubois-Brissonnet¹ (florence.dubois@agroparistech.fr), Cécile Touche¹, Aurélia Pernin^{1, 2}

¹Institut Micalis, AgroParisTech, INRA, Jouy-en-Josas, France

²Ingénierie Procédés Aliments, AgroParisTech, INRA, Massy, France

Introduction et objectifs :

Les recommandations nutritionnelles visant à augmenter le ratio acides gras insaturés/saturés dans l'alimentation sont aujourd'hui bien admises par les industriels et les consommateurs. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'impact de ces recommandations sur la sécurité sanitaire des aliments. Il vise notamment à caractériser l'effet de lipides alimentaires selon le type d'acides gras, leur niveau d'estérification ou leur état (dispersé ou en émulsions) sur la croissance de *Listeria monocytogenes* et sur l'efficacité de composés antimicrobiens.

Matériels et méthodes :

La croissance de 46 souches de *Listeria monocytogenes* en présence ou absence d'acide oléique a été suivie pendant 10 jours à 4°C pour évaluer la variabilité inter-souche de la différence de croissance en présence de l'acide gras. L'effet de différents types d'acides gras, libres ou estérifiés, dans des milieux de culture ou des émulsions avec 30% d'huile a ensuite été évalué. Afin de comprendre les mécanismes physiologiques mis en œuvre, des analyses biochimiques des phospholipides membranaires ont été effectuées.

L'impact de la présence de lipides alimentaires a également été évalué sur l'activité de deux composés antimicrobiens aux propriétés physico-chimiques différentes en comparant l'inhibition de croissance obtenue en milieux de culture et en émulsions constituées de 30% d'huile.

Résultats :

Les 46 souches testées ont été classées selon leur capacité à pousser plus vite à basse température en présence de l'acide gras insaturé. Pour la souche la plus réactive, le phénomène de surcroissance à basse température est très marqué avec les acides gras insaturés libres, un peu moins pour les lipides estérifiés dispersés ou pour les triglycérides en milieux émulsionnés. Le phénomène de surcroissance s'accompagne d'une incorporation membranaire des acides gras insaturés exogènes.

En présence de gouttelettes lipidiques, l'activité antimicrobienne de l'eugénol (log P = 2,61) disparaît, probablement parce que celui-ci migre dans la phase hydrophobe. À l'inverse, l'acide férulique, moins hydrophobe (log P = 1,67), conserve une certaine efficacité dans la phase aqueuse.

En conclusion, les lipides peuvent avoir un impact favorisant significatif sur la croissance de *Listeria monocytogenes* soit en s'incorporant dans la membrane à basse température quand le système de synthèse devient déficient soit en piégeant les antimicrobiens hydrophobes.

Mots clés : surcroissance - basse température - composés phénoliques antimicrobiens - acides gras - reprogrammation membranaire.

Sécurité des aliments : la vigilance reste de mise

SP2.2-2

Méthodes d'analyse des parasites protozoaires dans les aliments : actualités

Isabelle Villena¹ (ivillena@chu-reims.fr), Stéphanie La Carbona²

¹Laboratoire de Parasitologie, CHU / Université Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

²Société ACTALIA, Saint-Lô, France, France

L'OMS a publié pour la première fois en 2015, le fardeau imposé par les maladies d'origine alimentaire imputées aux parasites. Les protozoaires *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. et *T. gondii* ont alors été rapportés responsables en 2010 de 47.1 millions de cas, 5913 décès et de près d'1.2 million DALYs (Disability Adjusted Life Years : nombre cumulé d'années perdues en raison d'une mauvaise santé, d'un handicap ou d'un décès précoce), l'eau étant exclue de ces données [1, 2]. Suite à une priorisation des parasites d'origine alimentaire en Europe réalisée dans le cadre d'une action COST EURO-FoodBorne Parasites, *T. gondii* et *C. parvum* qui se classent respectivement en 1^{ère} et 2^{ème} position pour l'Ouest de l'Europe [3], sont désormais reconnus comme importants dans le domaine de la sécurité des aliments par l'EFSA [4].

En 2016, une norme décrivant une méthode basée sur la microscopie à épifluorescence pour détecter *Cryptosporidium* et *Giardia* dans les végétaux frais à feuilles vertes et les fruits à baies a été publiée (NF EN ISO 18744). Cependant, cette méthode reste peu ou pas appliquée, car elle est chronophage, coûteuse, requiert une expertise accrue et ne permet pas d'accéder aux informations nécessaires à l'évaluation du risque (espèce, viabilité). Aucune méthode standard n'est disponible pour *T. gondii*. Le développement de méthodes alternatives moléculaires fait donc consensus et est largement privilégié pour la détection de ces trois parasites dans les aliments.

L'Unité Mixte Technologique (UMT) ACTIA PROTORISK (2015-2019), qui associe le pôle Sécurité des Aliments d'ACTALIA et l'EA 7510 Epidémiologie-Surveillance et Circulation des Parasites dans l'Environnement, a développé des outils d'analyse performants, adaptés à différentes matrices, économiquement intéressants, rapides et accessibles aux laboratoires.

L'UMT s'est également intéressée aux méthodes permettant d'évaluer le caractère infectieux des parasites dans les matrices alimentaires, pour proposer des alternatives aux essais *in vivo*, qui restent à l'heure actuelle la référence pour accéder de manière fiable à cette information. Les méthodes seront présentées lors du congrès et les résultats sur quelques exemples applicatifs en matrices seront exposés.

Mots clés : parasites protozoaires - Détection - viabilité - infectiosité.

Références :

1. Kirk MD, Pires SM, Black RE, Caipo M, Crump JA, Devleeschauwer B, et al. 2015; PLoS Med.; 12(12):e1001921.
2. Torgerson PR, Devleeschauwer B, Praet N, Speybroeck N, Willingham AL, Kasuga F, et al. 2015. PLoS Med. ; 12(12):e1001920.
3. Bouwknecht M, Devleeschauwer B, Graham H, Robertson LJ, van der Giessen JW, The Euro-Fbp Workshop Participants.2018; Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull.23(9).
4. EFSA BIOHAZ (EFSA Panel on Biological Hazards). 2018; EFSA Journal ;16(12):5495, 113 pp.

Sécurité des aliments : la vigilance reste de mise

SP2.2-3

Évaluation quantitative des risques microbiens appliquée à la viande bovine : vue d'ensemble et défis à venir

Vincent Tesson¹ (vincent.tesson2@inra.fr), Michel Federighi¹, Enda Cummins², Sandrine Guillou¹, Géraldine Boué¹

¹Secalim, INRA-Oniris, Nantes, France

²School of Biosystems & Food Engineering, University College of Dublin, Dublin, Irlande

Introduction et objectifs :

Chaque année en Europe, environ 10% des quelque 23 millions de maladies d'origine alimentaire sont liées à la consommation de viande, avec une forte contribution de la viande bovine. Ces maladies sont majoritairement dues à des contaminations bactériennes pathogènes qui se produisent entre l'élevage et l'assiette du consommateur. Pour prévenir cela, les processus décisionnels en matière de sécurité sanitaire des aliments reposent sur l'évaluation quantitative des risques microbiologiques (EQRM). Dans ce contexte, et après plusieurs crises sanitaires associées à la viande, le développement des EQRM s'est accru au cours des dernières décennies. Cette étude vise à réaliser une analyse critique des EQRM existantes de la viande de bœuf et à identifier les défis à venir.

Matériels et méthodes :

Cette analyse est basée sur une revue systématique effectuée selon la méthode PRISMA. Les articles ont été étudiés pour mettre en évidence leurs champs d'application, les étapes de la chaîne de traitement prises en compte ainsi que les données d'entrée collectées et les résultats obtenus.

Résultats, discussion et conclusion :

Ces modèles d'EQRM ont été développés en réponse à des préoccupations de santé publique liées à la consommation de viande dans différents pays. Ainsi, à partir de 1397 articles, 110 ont été sélectionnés pour analyse dont 39 sont spécifiques aux EQRM. Ces modèles ont été majoritairement élaborés pour deux espèces bactériennes pathogènes (*E. coli* et *Salmonella*). Une partie seulement des EQRM prend en compte l'ensemble de la chaîne de traitement. Des modèles de microbiologie prédictive ont également été ajoutés à l'analyse, car ils aident grandement à estimer l'impact des stades de croissance et d'inactivation.

Les défis identifiés concernent la prise en compte de l'ensemble de la filière, la centralisation de la collecte des données et l'harmonisation des modèles pour une utilisation plus simple et étendue à d'autres contextes.

Cette analyse peut servir de base pour l'intégration des modèles collectés dans un outil harmonisé pour l'ensemble de la chaîne de la viande bovine et aidera la communauté scientifique et les autorités chargées de la sécurité sanitaire des aliments à identifier les besoins spécifiques de surveillance et de recherche.

Mots clés : QMRA - boeuf - viande - harmonisation des modèles - microbiologie prédictive.

Sécurité des aliments : la vigilance reste de mise

SP2.2-4

Development and harmonization of innovative methods for comprehensive analysis of foodborne toxigenic bacteria, ie. *Staphylococcus spp.*, *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*

Manon Michaut¹ (manon.michaut@anses.fr), Dominique Clermont², Taran Skjerdal³, Olivier Firmesse¹, Benoît Gassilloud⁴, Valérie Fessard⁵, Nalini Ramarao⁶, Michel Gohar⁶, Michel Hebraud⁷, Julia Chamot Rooke², Christelle Mazuet², Julien Masquelier⁸, Sarah Denayer⁸, Alexandra Fetsch⁹, Stephen Francis Marino⁹, Jacques-Antoine Hennekinne¹, Yacine Nia¹

¹Laboratoire de sécurité des aliments, Anses, Maisons-Alfort, France

²Institut Pasteur, Paris, France

³Norwegian Veterinary Institute, Oslo, Norvège

⁴Laboratoire d'Hydrologie de Nancy, Anses, Nancy, France

⁵Laboratoire de Fougères, Anses, Fougères, France

⁶INRA, Jouy-en-Josas, France

⁷INRA, Clermont Ferrand, France

⁸Sciensano, Bruxelles, Belgique

⁹German Federal Institute for Risk Assess, Berlin, Allemagne

Toxins produced by *Staphylococcus spp.*, *Bacillus spp.* and *Clostridium spp.* (excluding *botulinum*) are the third cause of food-poisoning outbreaks (FPOs) in the European Union, leading to nearly 900 outbreaks in 2017 (EFSA report 2017). Even methods allowing the detection of some toxins are available in the commerce, the involvement of the whole of toxins remain unknown. For example, over 27 staphylococcal enterotoxins described, only 5 are detectable using routine methods (EN ISO 19020).

In the frame of One Health European program (H2020), TOX-Detect project aims to contribute to increase consumer health protection by filling the critical gaps of lacking methodologies to characterize foodborne toxigenic bacteria and to detect their toxins and. This project launched in January 2018 with a budget of 2.8 M € gather six European partners representing France, Germany, Norway and Belgium.

In this work, development and harmonization of new ("non-NGS") approaches for a better detection and quantification of bacterial toxins or factors involved in the virulence of toxigenic bacteria, including those that remain currently undetectable (emerging threats) will be discussed. Three different methods: (i) liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS/MS) experiments, highly specific and allowing for quantification of toxins of the three pathogens; (ii) matrix-assisted laser desorption/ionization coupled to time-of-flight detectors (MALDI-ToF) that could lead to an accurate and rapid identification and characterization of toxigenic bacteria; (iii) quantitative immune-enzymatic methods (ELISA) potentially use for toxin/virulence factors detection at the food industry level for *Staphylococcus* and *Bacillus* toxins will be developed. To assess and optimize the performance of the developed methods, the implementation of ring trials will be presented.

In conclusion, the methods developed in this project will contribute to the increase of the strong evidence outbreaks reported by EFSA each year.

Mots clés : food-poisoning outbreaks - toxigenic bacteria - non-NGS based detection - Mass Spectrometry - Immunoassays.

Microbiotes et exposition aux xénobiotiques (en association avec la STCM/ARET)**SP3.2-O1****We are what we eat: modern stressors of the host-microbiota super-organism**

Benoit Chassaing (bchassaing@gsu.edu)

Institut Cochin, Inserm U1016, Paris, France

The intestinal tract is inhabited by a large and diverse community of microbes collectively referred to as the gut microbiota. While the gut microbiota provides important benefits to its host, disturbance of the microbiota–host relationship is associated with numerous chronic inflammatory diseases, including inflammatory bowel disease and metabolic syndrome. A primary means by which the intestine is protected from its microbiota is *via* multi-layered mucus structures that cover the intestinal surface, allowing the vast majority of gut bacteria to be kept at a safe distance from epithelial cells that line the intestine. Thus, agents that disrupt mucus–bacterial interactions might have the potential to promote diseases associated with gut inflammation. We previously reported that, in mice, consumption of relatively low concentrations of two commonly used emulsifiers, detergent-like molecules and ubiquitous component of processed foods, induced chronic colitis in susceptible host and low-grade inflammation and obesity/metabolic syndrome in wild-type hosts. Emulsifier-induced metabolic syndrome was associated with microbiota encroachment, altered species composition and increased pro-inflammatory potential. Follow-up mechanistic studies demonstrated that the intestinal microbiota is the direct target of such additives, and importantly revealed that not all the microbiotas are impacted in the same way by such disturbance, supporting the concept that some individuals might be at higher risk of host–microbiota perturbations following emulsifier exposure. Our current work is also revealing a central role played by mucus-penetrating microbiota in driving intestinal inflammation and metabolic abnormalities, opening new therapeutic avenues to treat and prevent chronic inflammatory disorders.

Mots clés : Microbiota - Emulsifiers - Inflammation.

Microbiotes et exposition aux xénobiotiques (en association avec la STCM/ARET)**SP3.2-O2****Impact des nanoparticules de TiO₂ passivées sur des bactéries cutanées ou aéroportées**

Sécolène Depayras^{1,2} (segolene.depayras@gmail.com), Laura Rowenczyk^{2,3}, Marine Ringuedé², Magalie Barreau², Céline Picard³, Nicolas Hucher³, Michel Grisel³, Marc Feuilloley², Nicole Orange², Cécile Duclairoir-Poc²

¹GIP Plate Forme Technologique d'Evreux M, Evreux, France

²LMSM EA 4312, Université de Rouen, Evreux, France

³URCOM EA 3221, FR CNRS 3038URC, Université du Havre, Le Havre, France

Les nanoparticules (NPs) de dioxyde de titane (TiO₂) sont couramment utilisées en industrie cosmétique pour leurs propriétés optiques anti-rayonnement UV tout en demeurant transparentes après application cutanée. Cependant elles sont très photo-réactives et entraînent la formation de dérivés réactifs de l'oxygène, entraînant divers dommages cellulaires. Ainsi, leur surface est souvent modifiée par passivation par dépôt de silice ou d'aluminium afin d'inhiber la photo-production de radicaux. Parfois, ce dépôt est complété par un greffage de groupements organiques pour faciliter leur formulation dans les matrices cosmétiques.

L'innocuité du cosmétique est réglementée par la directive européenne 1223/2009. Cependant peu d'études s'intéressent à leur comportement lors de leur production, stockage ou pendant utilisation. En effet, les NPs sont exposées à diverses agressions extérieures générant le vieillissement, l'agrégation et la détérioration de l'enrobage¹ pouvant impacter les cellules eucaryotes². Toutefois le microbiote cutané est également un paramètre clef dans l'évaluation de l'innocuité de ces NPs, altérées ou non, sur la barrière cutanée. Cette flore bactérienne de la peau, commensale et transitoire, détecte et répond à une multitude de signaux environnementaux et de leur hôte tels que la présence de produits cosmétiques et conservateurs modulant ainsi leur virulence³.

Dans ce travail trois lots d'émulsion huile dans eau ont été formulés avec les mêmes ingrédients et sans conservateur : (i) sans NP, avec des NPs (ii) passivées hydrophiles ou (iii) hydrophobes⁴. L'impact de ces différentes émulsions, avec ou sans vieillissement, a été évalué sur *S. aureus* et *P. fluorescens* représentant respectivement le microbiote cutané et les biocontaminations aéroportées afin de mimer l'application d'un produit solaire sur la peau et la biocontamination ponctuelle d'un cosmétique lors de sa production ou de son prélèvement. Ces travaux ont montré que les propriétés de surface des NPs sont le paramètre prépondérant impactant la croissance des bactéries cutanées étudiées. Ainsi les NPs de TiO₂ hydrophiles favoriseraient le développement de bactéries potentiellement pathogènes. D'autre part, chez le modèle de biocontamination aéroportée⁵, les NPs hydrophiles impactent l'intégrité de la membrane bactérienne.

Mots clés : NP-TiO₂ - Cosmétiques - Vieillissement - Passivation - Microbiote cutané.

Références :

1. Rossano M., Hucher N., Picard C., Colleta D., Le Foll F., and Grisel M. (2014) Effects of aging on structure and stability of TiO₂ nanoparticle-containing oil-in-water emulsions. *Int. J. Pharm.* 461, 89–96.
2. Rossano M. (2014) Utilisation des nanoparticules de dioxyde de titane dans les émulsions cosmétiques : Impact sur la santé humaine et l'environnement.
3. Saguet T., Enault J., Philbe J.-L., Feuilloley M., Cruz C. C., and Yvergnaux F. (2013) Integration of skin microbiological physiology as target towards a new cosmetic approach. *IFSCC 2013 Conference Proceedings*.
4. Rowenczyk L., Picard C., Duclairoir-Poc C., Hucher N., Orange N., Feuilloley M., Grisel M., (2016) Development of preservative-free nanoparticles-based emulsions: Effects of NP surface properties and sterilization process. *Int J Pharm.*, 510(1).
5. Rowenczyk L., Duclairoir Poc C., Barreau M., Picard C., Hucher N., Orange N., Grisel M., Feuilloley M., (2017) Impact of coated TiO₂-nanoparticles used in sunscreens on two representative strains of the human microbiota: Effect of the particle surface nature and aging., *Coll. Surf. B Bio.*, 158:339-348.

Microbiotes et exposition aux xénobiotiques (en association avec la STCM/ARET)**SP3.2-1****Beneficial effect of a probiotic prophylactic strategy to counteract neuro-inflammation and behavioral impairments induced by Polycyclic Aromatic Hydrocarbon in mice**

Chloé Morel¹ (chloe.morel7@etu.univ-lorraine.fr), Henri Schroeder¹, Justine Paoli¹, Eleftheria Charalambous², Claire Thiébault¹, Pauline Guebels², Aline Dosen¹, Jonathan D. Turner², Magali Genay¹, Nathalie Grova²

¹CALBINOTOX/Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

²Department of Infection and Immunity, Luxembourg Institute of Health, Luxembourg, Luxembourg

Introduction and objectives:

There is growing evidence that supplementation with probiotics improves intestinal transit, induces systemic protective immune responses and presents beneficial effect on stress and anxiety. Concomitantly, exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH), especially in juvenile, proves to induce cognitive developmental delay and behavioral impairments related to anxiety. This study provides a proof of concept on the use of probiotic beneficial effect to counteract the neurotoxic effects induced by PAH.

Material and methods:

We studied six groups of 12 Swiss female mice each. Three groups were daily fed with a mixture of probiotics for 8 weeks whereas the others received the vehicle only. After 1 month of probiotic supplementation, the 3 groups of each conditions were exposed by oral gavage to a mixture of 16-PAHs (3 times per week, 0, 20 and 200 µg/kg, 4 weeks). Neurobehavioural status related to exploration, anxiety and immediate learning were studied during the last week of PAH exposure. Faeces were collected, -before, -after 4 weeks of probiotic supplementation and -at the end of PAH exposure to assess the microbiota balance and the probiotic viability along the gastro-intestinal tract.

Results, discussion, conclusion:

Preliminary data showed that probiotics enable a faster growth of mice compared to controls ($p < 0.05$) and reduce the loss of weight observed in PAH-treated groups. Enumeration of probiotic strains at several time point, pointed out that the probiotics survive along the gastro-intestinal tract, but PAH seems to affect their viability as well as this of microbiota at 200 µg/kg of bw. Analysis of microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing should confirm this result. In the light-dark apparatus, supplementation with probiotics partially restore the decrease of the level of activity observed in mice exposed to PAH 200 µg/kg ($p < 0.05$). Behavioral analyses currently under evaluation should enable us to understand how PAH-induced neurotoxicity and if probiotics may prevent their detrimental effects.

Mots clés : probiotics - Polycyclic Aromatic Hydrocarbon - neuro-inflammation - anxiety.

New antibiotics

SP1.4-O1

Odilorhabdins: a new class of antibiotics with natural origin

Philippe Villain-Guillot (p.villainguillot@nosopharm.com)

NOSOPHARM, Lyon, France

Antibiotic resistance remains a high unmet medical need. Novel antibiotic classes are clearly needed to overcome the current mechanisms of resistance faced by the clinicians. Odilorhabdins represent such a novel class. They inhibit the bacterial ribosome with a new mode of action, and have a broad spectrum antibacterial activity. Odilorhabdins are bactericidal agents and retain their activity against multidrug-resistant bacteria, including the WHO high-priority pathogens Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* (CRE). They showed efficacy in various *in vivo* infection models. Odilorhabdins are currently under pre-clinical development.

The discovery of the Odilorhabdins stems in the screening of a collection of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* strains. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* are bacterial symbionts of specific entomopathogenic nematodes. These bacterial genera represent a new bioresource for drug discovery.

The discovery and the preclinical pharmacological properties of the Odilorhabdins will be presented.

Mots clés : Odilorhabdins - Antibiotic - Resistance - Enterobacteriaceae - Ribosome.

Références :

1. Pantel L. et al, 2018, Mol Cell 70, 83-94
2. Racine E. et al, 2018, Antimicrob Agents Chemother 62, e01016-18
3. Zhao M. et al, 2018, Antimicrob Agents Chemother 62, e01067-18
4. Sarciaux M. et al, 2018, J Med Chem 61, 7814-7826

New antibiotics

SP1.4-1

Potentiel Antibactérien de Prodrogue à base de Calixarène et du 2,4-Di-tert-butylphénol synthétisés par des *Bacillus licheniformis* thermophiles isolés à partir d'une source d'eau chaude en Algérie

Nihel Klouche Khelil^{1,2} (nklouche20000@gmail.com), Nadia Aissaoui¹

¹Laboratoire LAMAABE, Université Tlemcen, Tlemcen, Algérie

²Département de chirurgie dentaire, Université Tlemcen, Tlemcen, Algérie

Introduction et objectif :

La présente étude a pour objet d'isoler, d'identifier et d'élucider les structures des composés antibactériens produits par deux bactéries thermophiles formant des spores isolés à partir d'une source thermale chaude (98°C) située à Guelma (Algérie).

Matériel et méthodes :

Deux souches thermophiles nommées LMB3701 et LMB3707 ont été isolées à partir d'eau d'une source thermale chaude (98°C) située à Guelma (Algérie). La caractérisation morphologique, biochimique et physiologique a été réalisée. L'identification moléculaire a été faite en utilisant le séquençage d'ARNr 16S et PCR-ITS 16-23S. La capacité de ces bactéries thermophiles à produire des composés antibactériens vis-à-vis de deux bactéries multirésistantes, *Pseudomonas aeruginosa* (NR_0754828.1) et *Staphylococcus aureus* (NR0075.1) en culture pure et culture mixte a été étudiée par la technique Radial Diffusion Assay (RDA) à 55°C. L'élucidation structurale de composés actifs a été réalisée à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse couplée spectrométrie de masse (GCMS).

Résultats, discussion et conclusion :

Le séquençage des souches thermophiles a permis d'affilier les deux isolats à l'espèce *Bacillus licheniformis* avec 99% de similarité, les numéros d'accès au niveau du GenBank sont comme suit : KX100031 et KX100032. La caractérisation phénotypique a mis en évidence plusieurs différences entre les isolats thermophiles et *Bacillus licheniformis* ATCC 14580. L'activité antibactérienne des isolats thermophiles vis-à-vis des deux souches multirésistantes utilisées est due à l'association de deux composés phénoliques: le 2,4-di-tert-butylphénol en tant que principe actif et le p-tert-butylcalix [4] arène en tant que prodrogue selon les résultats comparatifs de l'analyse GCMS des cultures pures et mixtes. Au meilleur de nos connaissances, il s'agit du premier rapport montrant la production de p-tert-butylcalix [4] arène et de 2,4-di-tert-butylphénol en tant qu'extrêmolytes par l'espèce *Bacillus licheniformis* à 55°C.

Mots clés : Activité antibactérienne - Analyse GC-MS - source d'eau chaude - prodrogue - *Bacillus licheniformis*.

New antibiotics

SP1.4-2

What can Phenomics approaches bring to the antibiotic discovery field?

Nelly Dubarry (nelly.dubarry@evotec.com), Berthet A.*, Lapeyrere C.*, Bagel A., Vassort A., Mourez M.

BacteriOmics, Evotec-ID Lyon, Marcy-l'Étoile, France

Fighting against emergence of bacterial resistance to Antibiotics is a public health worldwide priority and innovative therapies are key to tackle this challenge. Two of the main bottlenecks in the search for an antibiotic molecule with a novel mode of action (MoA) are the understanding of its resistance liabilities and of its molecular target. Indeed, the corresponding studies are demanding, time consuming, and often not easily transposed to *in vivo* conditions. Therefore, there is a need to enhance the *in vitro* profiling of active molecules with putative new MoA in order to select and push forward the best molecules. We propose that a combination of phenotypic studies, or Phenomics, can be a way to improve the antibiotic discovery pipeline.

Our research group focus on three axes:

- a rapid MoA attribution based on microscopy and cytological profiling, which allows (i) to identify and select molecules with new MoA and (ii) to develop MoA based assays to support medicinal chemistry structure-activity relationship studies and ensure that optimized molecules remain on target during optimization,
- an early study of how antibiotic activity is modulated by the composition of the growth medium and thus the bacterial metabolism, which allows to enlarge *in vitro* characterization and mimic conditions that might be encountered *in vivo*,
- a rapid resistance risk identification by medium dependent activity loss, cross-resistance with other antibiotics or high frequency of spontaneous resistance.

We will present case studies to exemplify how fluorescent reporters-based technologies (from plate-readers to microscopy) combined with growth profiling in different media (phenotypic microarray approach) can reveal properties of an antibiotic. These novel approaches yield large amounts of information, a welcome change from a past dominated by optimization solely based on Minimal Inhibitory Concentrations. However, this brings new questions on how to manage the risks uncovered by these approaches and on how to solidify *vitro* to *vivo* translation.

Mots clés : MoA - antibiotics - phenomics.

New antibiotics

SP1.4-3

Generation of analogues of stambomycins by genetic engineering and allied approaches

Li Su^{1,2} (li.su@univ-lorraine.fr), Yaouba Souaibou^{1,2}, Laurence Hôtel¹, Christophe Jacob², Bertrand Aigle¹, Kira Weissman²

¹UMR 1128 UL-INRA, DynAMic, Université de Lorraine, INRA, Vandoeuvre-Lès-Nancy, Nancy

²UMR 7365 UL-CNRS, IMoPA, Université de Lorraine, CNRS, Vandoeuvre-Lès-Nancy, Nancy

The polyketide secondary metabolites of bacteria exhibit a wide diversity of useful biological properties, including antibiotic, antifungal, anti-tumor and immunosuppressive properties. The stambomycins A–D are anti-cancer compounds recently discovered from *Streptomyces ambofaciens* ATCC23877, using a genome mining approach [1, 2]. Notably, these metabolites exhibit anti-tumor activities against several cancer cell lines with IC₅₀ values similar to or even superior to those for multiple drugs in clinical usage [1, 2].

The modular type I PKS system responsible for stambomycin biosynthesis comprises 9 distinct polypeptide subunits, and thus 8 interprotein interfaces. The generation of native stambomycin therefore critically depends on the ability of the subunits to arrange themselves in the correct order and to resist inappropriate associations. Conversely, rational manipulation of the interprotein interfaces to change the order of subunits represents an attractive strategy to afford stambomycin analogues, as no modifications are made to the native modules [3]. The molecular basis for generation of the four stambomycins is an exceptional domain responsible for recruiting four atypical pentyl- and hexylmalonyl-CoA-based extender units – a choice which has a direct impact on biological activity. In this context, we aim to manipulate both of these key aspects of the biosynthesis using a multidisciplinary approach anchored in synthetic biology, to generate novel analogues for biological evaluation.

Mots clés : stambomycin analogues - genetic engineering - interface.

Références :

1. Laureti, L., et al., Identification of a bioactive 51-membered macrolide complex by activation of a silent polyketide synthase in *Streptomyces ambofaciens*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011. 108(15): p. 6258-6263.
2. Aigle B. et al., Stambomycins and derivatives, their production and their use as drugs. Patent WO/2011/009938.
3. Whicher, J.R., et al., Structural rearrangements of a polyketide synthase module during its catalytic cycle. Nature, 2014. 510(7506): p. 560-+.

New antibiotics

SP1.4-4

Mechanism of action of flavonoids in the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*

Cécile Jacry¹ (cecile.jacry@inra.fr), Matthieu Jules^{1,2}, Anne-Gaëlle Planson¹

¹SyBER group, INRA-MICALIS, Jouy-en-Josas, France

²AgroParisTech, Thiverval-Grignon, France

Introduction and objectives:

Flavonoids belong to a large family of compounds found in plants. This family is an important source of new drugs and nutraceuticals because of their antioxidant, antiviral, antibacterial, anticancer and immunosuppressive activities¹ and are the subject of many studies. Despite a very active field of research, the mechanism of action of flavonoid compounds is still poorly characterized. Our study focuses on the characterization of the antibacterial activity of flavonoids targeting Gram-positive bacteria. In my PhD research project, my objectives are to i) set up an effective toxicity assay to characterize the antibacterial activity of flavonoids against the Gram-positive model bacterium *Bacillus subtilis* and ii) decipher the antibacterial mechanism of action of flavonoids.

Materials and methods:

B. subtilis BSB1 has been used as a model strain of Gram-positive bacteria for the characterization of the flavonoid antibacterial activity. All the flavonoids used in this study are solubilized in DMSO. Live cell array² (LCA) was used to monitor *B. subtilis* growth in the presence of various concentrations of flavonoids in order to characterize their antibacterial activity.

Results, discussion and conclusion:

A 50% decrease of the growth rate was observed at 93 mg.L⁻¹ of naringenin and 32 mg.L⁻¹ pinocembrin, two flavonoids known to target Gram-positive bacteria. In order to determine the mechanism of action of these two flavonoids, we performed toxicity assays against 67 *B. subtilis* strains inactivated for multidrug efflux transporters and/or the cognate regulators³. Nine out of 67 deleted strains displayed a significantly different growth phenotype compared to the wild type strain in the presence of either one of these flavonoids.

To further characterize the mechanism of action of flavonoids as antibacterial compounds and identify novel flavonoids active against Gram-positive bacteria, a library of 64 flavonoids was tested and the MIC (Minimum Inhibitory Concentration) was estimated for each of the compounds that showed an antibacterial activity. We are currently performing high-throughput experiments using well-chosen reporter genes and transcriptomics to fully characterize the response of *B. subtilis* in presence of the selected, active flavonoids (*i.e.* 18 compounds).

Mots clés : *Bacillus subtilis* - flavonoids - antibacterial activity - mechanism of action.

Références :

1. Yang, X. et al. (2015). Prenylated flavonoids, promising nutraceuticals with impressive biological activities. Trends Food Sci. Technol. 44, 93–104.
2. Borkowski, O. et al. (2016). Translation elicits a growth rate-dependent, genome-wide, differential protein production in *Bacillus subtilis*. Mol. Syst. Biol. 12, 870–870.
3. 1. Koo, B. M. et al. (2017). Construction and Analysis of Two Genome-Scale Deletion Libraries for *Bacillus subtilis*. Cell Syst.

Actualités référentiels et observatoire SFM**SP4.2-O1****Le Quamic fait peau neuve**

Brigitte Lamy^{1,2} (brigitte_lamy@yahoo.fr)

¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Nice, Nice, France

²U1065, Equipe 6, Inserm Nice, France

L'accréditation d'un secteur de microbiologie reste un exercice difficile, qui nécessite réflexion et discernement. La SFM a souhaité proposer une nouvelle édition du QUAMIC afin de mieux aider et guider le microbiologiste médical dans sa démarche d'accréditation (norme NF 15189:2012), dont l'échéance finale est 2020. Cette 3^{ème} édition et qui remplace de fait l'édition de 2017, est une édition augmentée et renouvelée, qui tient compte des évolutions récentes impulsées par le Cofrac, les recommandations de pratiques professionnelles et les évolutions technologiques.

La démarche qualité doit, avant toute chose, être guidée par l'intérêt clinique, et ce référentiel a vocation à guider le microbiologiste dans la réflexion pour une juste démarche, c'est-à-dire préservée de toute « qualité mal placée » et au bénéfice de la prise en charge médicale des patients. Cette nouvelle édition reste, plus que jamais, basée sur ce socle fondateur.

Les grandes nouveautés de ce référentiel seront présentées autour de 6 axes : i) la nécessaire flexibilité des recommandations car les organisations, les activités, les besoins et les moyens varient d'un laboratoire à l'autre. Les recommandations du Quamic sont à appliquer et adapter avec souplesse et discernement en fonction d'un contexte, pour atteindre le niveau d'assurance qualité médicalement nécessaire et suffisante à la patientèle considérée; ii) les nouvelles stratégies dans l'élaborations des dossiers de validation de méthode, afin de permettre, par une approche globale, une simplification des dossiers tout en gagnant en cohérence et en efficacité; iii) le choix et le management des indicateurs de suivi, ainsi que les écueils à éviter; iv) le nécessaire développement des « stratégies », que ce soit pour la gestion des CIQ ou pour la gestion de projet, celle des procédures dégradées ou d'acceptation d'un nouveau lot de réactif; v) la gestion d'un dossier de validation de méthode en cas de recommandations contradictoires; vi) la nécessaire évolution vers une métrologie plus adaptée aux besoins, la microbiologie médicale étant caractérisée par des problématiques spécifiques et complexes et des niveaux d'exigence très variables.

Mots clés : Quamic - accréditation des laboratoires - intérêt clinique - nouveautés.

Actualités référentiels et observatoire SFM

SP4.2-O2

CA-SFM 2019 : les évolutions récentes

François Jehl (francois.jehl@chru-strasbourg.fr)

Plateau Technique de Microbiologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Les dix dernières années ont vu évoluer les recommandations du CA-SFM de façon significatives. Les deux changements les plus marquants concernent le mode de calcul des concentrations critiques cliniques (CCC) ainsi que l'importance accrue des concentrations critiques pharmacodynamiques (PK/PD) d'une part, et la mise en place au niveau européen d'une nouvelle catégorisation clinique des souches responsables d'infection, d'autre part.

- 1 - Les concentrations critiques cliniques : elles résultent des caractéristiques bactériologiques des bactéries (cut-off épidémiologiques), pharmacodynamiques (pharmacocinétique de l'antibiotiques couplée à la sensibilité des bactéries) et cliniques (études d'efficacité en fonction des CMI).
- 2 - La nouvelle catégorisation clinique fait état de souches « S » [sensibles à posologies standards] ; de souches « I » [sensibles à forte exposition – increased exposure - de l'antibiotiques (signifiant forte posologie ou concentrations spontanément élevées au site infectieux)] et de souches « R » [résistantes]. Le vrai changement vient de la catégorie sensible à fortes posologie, qui remplace l'ancienne catégorie intermédiaires. Les recommandations CA-SFM proposent les tableaux des posologies standards et élevées selon les pratiques européennes (en place) et, très prochainement française (SPILF).

De nombreuses CCC sont spécifiques d'espèces (ou genres), affinant ainsi la catégorisation cliniques. Des CC dites « pharmacodynamiques ou PK/PD » ont été établies, lorsque cela est possible, pour les couples antibiotiques – bactéries dépourvus de CCC spécifiques ; enfin, lorsqu'il n'existe ni CCC spécifique, ni CC PK/PD, la catégorisation clinique peut être approchée grâce aux cut-off épidémiologiques. L'EUCAST propose des modalités de réalisation de l'antibiogramme directement sur hémoculture (rapid AST) avec la possibilité de lire l'antibiogramme précocement, à des temps d'incubation très précis, auxquels correspondent des diamètres critiques propres.

Pour certains couples antibiotiques-bactéries, les difficultés techniques de réalisation de l'antibiogramme s'accompagnent d'une incertitude de mesure dans les zones de sensibilité proche des valeurs des concentrations critiques (Zone d'Incertitude Technique = ZIT ; diamètres ou CMIs). Ces couples sont (ou seront prochainement) recensés dans les recommandations du CA-SFM, avec la marche à suivre lorsque le diamètre d'inhibition ou la CMI tombe dans la ZIT.

Mots clés : CA-SFM - Concentrations critiques - PK/PD - Rapid AST - Zone d'Incertitude Technique.

Actualités référentiels et observatoire SFM**SP4.2-O3****Manuel de sécurité et sûreté biologiques : 2^{ème} édition**

Sébastien Allix-Le Guen¹ (s.allix-leguen@lab-science.eu), Patrice Binder²

¹Lab'Science, Nazelle-Négron, France

²SFM, Paris, France

Cet ouvrage, est la seconde édition du « Manuel de sécurité et sûreté biologiques » dont la première édition avait été publiée en 2014. Cette première édition avait reçu un accueil très favorable de la communauté des microbiologistes, virologistes et ingénieur en biosécurité. Elle n'était toutefois pas exempte de critiques et des demandes d'amélioration ont été transmises au comité éditorial. La SFM a donc décidé de demander à sa Section Sécurité-Sûreté Biologiques d'établir une seconde édition tenant compte des observations reçues.

L'objectif général de ce manuel est de rassembler dans un seul ouvrage les bases techniques, légales, réglementaires et éthiques des bonnes pratiques en sécurité et sûreté biologiques. Ce manuel est un outil de formation et une source d'informations pour tous ceux qui, soucieux de compléter leurs connaissances de ces domaines, recherchent des informations utiles à l'amélioration de leurs compétences et de l'exercice de leur métier. Pour cette seconde édition, le renforcement de l'objectif pédagogique a été la préoccupation du comité éditorial. Deux axes de travail ont été retenus. Le premier vise à donner une meilleure visibilité à la structure de l'ouvrage. Le second concerne la facilité de lecture et l'amélioration de la compréhension des textes. Ainsi, après avoir recensé les grands thèmes à traiter, il a été décidé de construire le plan de cette édition autour de 12 chapitres et de renforcer leur illustration en augmentant le nombre de figures, photos, schémas, tableaux, et exemples en encadrés. Les contributions de la première édition ont donc été redistribuées en fonction de cette nouvelle organisation du manuel. Elles ont été revues et complétées par un nouveau comité de rédaction qui s'est appuyé sur des contributeurs sollicités à cet effet.

Nous espérons que le lecteur trouvera dans cette seconde édition une information qui répondra à ses attentes concrètes pour la mise en œuvre des principes de sécurité et de sûreté biologiques. Nous espérons également que cette nouvelle édition du manuel pourra servir de guide pour l'information, l'instruction et la formation des formateurs et tout lecteur cherchant à compléter ses connaissances dans les domaines de la sécurité et de la sûreté biologiques.

Mots clés : Sécurité biologique - Sûreté biologique - Formation - Pédagogie - Référence nationale.

Actualités référentiels et observatoire SFM**SP4.2-O4****Observatoire SFM des hémocultures**

Gérard Lina (gerard.lina@univ-lyon1.fr)

CIRI, Lyon, France

Résumé non parvenu.

Modulation of cell signalling pathways by microbes (*in association with SFV*)**SP5.2-O1****Convergent evolution of viruses and bacteria to hijack cellular kinases**

Thomas Michiels¹ (thomas.michiels@uclouvain.be), Michael Peeters², Frédéric Sorgeloos²

¹*Virologie moléculaire, UCLouvain, de Duve Institute, Bruxelles, Belgique*

²*UCLouvain, de Duve Institute, Bruxelles, Belgique*

For billion of years, microbes have co-evolved with their hosts, exploiting essential cell components to replicate while escaping the immune response. Here, we show that three pathogens from different kingdoms, share a convergent mechanism to hijack p90-ribosomal S6 kinases (RSK), effector kinases of the extracellular regulated kinase 1/2 (ERK1/2)-dependent mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway.

Using coimmunoprecipitation and mass spectrometry analysis, we discovered that Cardiovirus leader proteins interacted with RSK kinases in infected cells. L protein binding induced sustained RSK phosphorylation on serine residues important for kinase activity.

Mutation analysis allowed the identification of a linear motif, conserved in Cardiovirus L proteins, that is responsible for RSK recruitment and activation. Remarkably, other proteins from unrelated infectious agents, namely ORF45 of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) and YopM protein of *Yersinia* use a similar motif to bind RSK kinases. All three pathogens' proteins bind the very same surface-located loop of RSK to trigger kinase activation.

We propose a model whereby these proteins of distinct pathogens use a convergent mechanism to recruit and activate cellular RSK kinases but hijack the kinases for different purposes.

Mots clés : Cardiovirus - Bacteria - kinase.

Modulation of cell signalling pathways by microbes (*in association with SFV*)**SP5.2-1****Modulation of NF- κ B signalling by a *Coxiella burnetii* eukaryotic-like effector protein**

Mélanie Burette (melanie.burette@irim.cnrs.fr), Julie Allombert, Ghizlane Maarifi, Sebastien Nisole, Karine Lambou, Matteo Bonazzi

CNRS IRIM, Montpellier, France

Coxiella burnetii, the etiological agent of the worldwide emerging zoonosis Q fever, replicates inside host cells in large autolysosome-like compartments and persists by protecting infected cells from apoptosis and silencing the innate immune response to infection. Recent bioinformatics analysis led to the identification of 7 *Coxiella* effector proteins containing eukaryotic-like domains, potentially involved in protein-protein interactions, post-translational modification and chromatin rearrangements. Among these, NopA (for Nucleolar protein A), displays 4 regulation of chromatin condensation (RCC) domains, which are found in the eukaryotic Ran GEF RCC1. Similar to RCC1, NopA localizes at the nucleus of infected or transfected cells, it is found associated with the chromatin nuclear fraction, and uses the RCC domains to interact with Ran, a GTPase involved in the nucleocytoplasmic transport. Differently from RCC1 however, NopA accumulates at nucleoli and sequesters Ran, thus perturbing nucleocytoplasmic transport. Indeed, NopA disrupts the Ran GDP-GTP gradient by increasing Ran-GTP levels in infected or transfected cells leading to a defect in the nuclear import of the NF- κ B subunit p65. Accordingly, qRT-PCR analysis on a panel of cytokines has shown that cells exposed to the *Coxiella nopA::Tn* or *dotA::Tn* mutant strains present a functional innate immune response, as opposed to cells exposed to wt *Coxiella* or the corresponding *nopA* complemented strain. Thus NopA is a master regulator of the innate immune response allowing *Coxiella* to behave as a stealth pathogen.

Mots clés : *Coxiella burnetii* - Interaction hôte-pathogène - Réponse immunitaire - NF- κ B.

Modulation of cell signalling pathways by microbes (*in association with SFV*)**SP5.2-2****Srn024, un petit ARN nécessaire à la croissance bactérienne chez le pathogène *Streptococcus agalactiae***

Nancy Jabbour¹ (nancy.jabbour@etu.univ-tours.fr), Aurélia Hiron¹, Sophie Poussing², Marie-Frédérique Lartigue¹

¹Equipe 5 BRMF, UMR1282 ISP/Université de Tours, Tours, France

²Laboratoire de Biologie Médicale, Hôpitaux privés de Metz, Metz, France

Introduction et objectif :

Streptococcus agalactiae est la cause majeure des infections néonatales humaines, mais aussi un pathogène émergent chez les adultes immunodéprimés. Sa capacité à coloniser différents hôtes montre son aptitude à s'adapter aux changements environnementaux, qui serait en partie due aux ARN régulateurs, très peu étudiés chez *S. agalactiae*. L'ARN potentiellement régulateur Srn024 a été identifié par RNAseq mais sa fonction reste inconnue. Par ailleurs, il serait régulé par le système à deux composants CiaRH, qui semble impliqué dans différents processus tels que la formation de biofilm et l'antibiorésistance. L'objectif ici est d'identifier la fonction de Srn024 afin de mieux comprendre les réseaux de régulation bactériens sous le contrôle des ARN.

Matériels et méthodes :

La prévalence du gène *srn024*, identifié dans la souche *S. agalactiae* NEM316, première souche séquencée, a été étudiée dans 374 souches représentatives de la diversité génétique de l'espèce en utilisant des techniques de biologie moléculaire et des analyses *in silico* de génomes séquencés. Puis, un mutant de délétion de *srn024* a été construit dans la souche NEM316. Différents phénotypes liés à CiaRH ont été recherchés dans la souche mutante : la formation de biofilm, la sensibilité aux antibiotiques et la croissance bactérienne.

Résultats, discussion et conclusion :

Srn024 est présent chez toutes les souches quelle que soit leur origine anatomique ou leur position phylogénétique. Le rôle biologique de Srn024 a été étudié en construisant un mutant NEM316 Δ *srn024*. Les concentrations minimales inhibitrices des différents antibiotiques testés sont identiques pour la souche sauvage et NEM316 Δ *srn024*. La formation du biofilm semble également similaire pour les deux souches. En revanche, un défaut de croissance de la souche mutante par rapport à la souche sauvage a été mis en évidence en milieu chimiquement défini (MCD) alors que ces deux souches ont une croissance identique en milieu Todd-Hewitt. Ces résultats semblent indiquer que l'ARN régulateur Srn024 permettrait à la bactérie de s'adapter en MCD. Des expériences de complémentation du phénotype de la souche mutante sont indispensables pour confirmer ces résultats. Des analyses plus poussées seront nécessaires pour comprendre le mécanisme d'adaptation de ce mutant à ce milieu.

Mots clés : ARN régulateurs - *Streptococcus agalactiae* - croissance bactérienne.

Modulation of cell signalling pathways by microbes (*in association with SFV*)**SP5.2-3****Impact des formes ARN virales tronquées en région 5' non codante sur la réponse interféron de type 1 dans un modèle murin de myocardite à virus Coxsackie-B3**Domitille Callon^{1,2} (domitille.callon@gmail.com), Fatma Berri¹, Laurent Andreoletti^{1,3}¹EA-4684 Cardiovir, Université Reims Champagne Ardennes, Reims, France²Anatomo-pathologie et IML, CHU Reims, Hôpital Robert Debré, Reims, France³Laboratoire de Virologie, CHU Reims, Hôpital Robert Debré, Reims, France

Des formes majoritaires d'Entérovirus-B tronquées jusqu'à 50 nucléotides (nt) dans la région 5'Non-Codante (5'NC) associées à des proportions minoritaires de formes complètes (FC) ont été caractérisées comme étant des populations virales présentes dans les tissus cardiaques de patients au stade d'infection aiguë (myocardite) ou chronique de type persistante (cardiomyopathie dilatée) [1]. En utilisant un modèle de myocardite induite par la souche cardiotrope CVB3/28 chez la souris DBA2/J, nous avons étudié la dynamique d'émergence des populations virales tronquées en 5'NC dans le cœur ainsi que le profil de la réponse interféron- β (IFN- β) au cours de la phase précoce de l'infection (J2-J7). Par une stratégie de RACE-PCR, nous avons démontré l'apparition de deux populations virales ARN tronquées majoritaires (8 à 36nt et 37 à 50nt) associées à des FC minoritaires dans la phase précoce de la myocardite aiguë à CVB3/28. De plus, nos résultats indiquent une activation de la réponse cytokinique Th-1 (MCP-1 (J3 : $p < 0,001$) et TNF- α (J2 : $p < 0,05$)) ainsi qu'une absence d'induction de la réponse IFN- β au cours de la phase aiguë de la myocardite. Durant cette phase, une corrélation positive ($R^2=0,6453$; $p=0,002$) entre la proportion de FC et tronquées intermédiaires (délétions inférieures à 36nt) et les concentrations en IFN- β a été observée alors qu'une corrélation inverse était mise en évidence entre les proportions de formes tronquées de 37 à 50nt et les concentrations en IFN- β ($R^2=0,6453$; $p=0,002$). La transfection d'ARN synthétiques des formes tronquées en 5'NC ou complètes de CVB3 dans des cellules cardiaques primaires humaines a confirmé l'existence d'une modulation différentielle des deux populations virales sur la voie des IFN- β et d'identifier les séquences d'ARN immunomodulatrices responsables de la synthèse de l'IFN- β comme étant les tiges-boucles « *b* » et « *c* » de la structure en feuille de trèfle (entre 15 et 50nt dans la 5'NC). Au final, la dynamique de sélection de formes virales ARN tronquées de 15 à 50nt de CVB3 peut significativement moduler la sécrétion d'IFN- β dans les tissus cardiaques, aboutissant à un potentiel mécanisme d'échappement du virus au système immunitaire inné et à la persistance du virus dans le cœur.

Mots clés : Myocardite aiguë - Entérovirus - Délétions - Immunité innée - Interférons type 1.

Références :

1. Bouin A, Gretteau P-A, Wehbe M, Renois F, N'Guyen Y, Leveque N, et al. Enterovirus Persistence in Cardiac Cells of Patients Suffering From Idiopathic Dilated Cardiomyopathy is Linked to 5' Terminal Genomic RNA-Deleted Viral Populations With Viral-Encoded Proteinase Activities. *Circulation* [Internet]. 13 févr 2019.

New immunotherapeutic approaches (in association with SFI)**SP1.5-O1****Dendritic cell targeting of viral antigens in DNA vaccination in pig and ruminants**

Isabelle Schwartz (isabelle.schwartz@inra.fr)

INRA, Jouy-en-Josas, France

DNA vaccination is an attractive strategy, presenting many advantageous properties, including a good safety profile due to lack of infectious risk, heat-stability, adaptability to pandemic strains, and ease of rapid and large-scale production. Whereas the high immunogenicity of naked DNA has been demonstrated in many instances in mouse models, immunogenicity revealed to be only suboptimal in human and domestic animals. One approach to bypass this limitation is to target the vaccine antigen to dendritic cells, the most efficient cells that initiate adaptive immune responses. I will present an overview of the results obtained using this strategy in sheep, pig, non-human primates and in the reference mouse model in the case of the Rift Valley Fever, the influenza and the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. In some cases, the DC-targeting strategy has improved protective immunity but in several cases, no effect, or detrimental outcomes have been obtained. These conflicting results will be discussed in light of the species, the targeted receptors, the antigen-type, the mode of delivery and the desired type of immune response.

Mots clés : Vaccination - DNA - dendritic cell - pig.

New immunotherapeutic approaches (in association with SFI)**SP1.5-O2****Novel approaches boosting innate immunity against *Pseudomonas aeruginosa***

Isabelle Fleurot¹ (isabelle.fleurot@inra.fr), Mickaël Riou², Claire Chevaleyre¹, Sandrine Melo¹, Michel Olivier¹, Christelle Rossignol¹, Céline Barc², Jérémy Pezant², Alexi Pléau², Alain Deslis², Nikolai Klymiuk³, Jean-Claude Sirard⁴, Ignacio Caballero¹

¹Infectiologie et Santé Publique, INRA, Université Tours, Nouzilly, France

²Plateforme d'Infectiologie expérimentale, INRA, Nouzilly, France

³CiMM, LMU Munich, Munich, Allemagne

⁴CILL, Institut Pasteur Lille, Lille, France

Pseudomonas aeruginosa, an opportunistic gram-negative bacterium that rarely infects human lungs unless the host immune system has been impaired, is one of the main pathogens found in cystic fibrosis (CF) patients. *P. aeruginosa* infections in CF patients are difficult to treat, becoming chronic and contributing to exacerbated lung inflammation and respiratory failure. Modulation of innate immunity has been proposed as an alternative to improve defence against infections. This approach is particularly attractive in CF since exacerbated immune response is central to the pathogenesis of CF lung disease. Innate immunity in epithelial and immune cells can be stimulated through activation of Toll-like receptors (TLRs), the main family of pattern recognition receptors. Stimulation of TLR5 through flagellin-based interventions have demonstrated protective activity against several gram-negative bacteria (*Salmonella* sp., *Burkholderia cepacia*, *Yersinia pseudotuberculosis*), restoring immune-competence and promoting tissue repair processes.

Here, we aimed to determine the effect of flagellin stimulation on the innate immune response against *P. aeruginosa* using an experimental pig model of lung infection. The pig model presents several advantages since swine and human lungs are similar in terms of anatomical, histological, biochemical, and physiological features. This is especially true in CF, where pigs lacking CFTR present a similar phenotype to what is typically observed in human patients. *P. aeruginosa*-infected pigs showed an acute neutrophilic response with an exacerbated release of neutrophil serine proteases that peaked 3-6 h post-infection (p.i.) leading to lung destruction and tissue hepatisation 24h p.i. When animals were pre-treated with flagellin 24h before the experimental infections, we observed a significant decrease in the expression of pro-inflammatory markers. In addition, a better lung status was observed on infected animals that had been pre-treated with flagellin compared to infected controls. The effect of flagellin pre-treatment on immune response to *P. aeruginosa* infection was confirmed using *ex-vivo* and *in vitro* models of lung epithelium from CFTR^{-/-} pigs.

In conclusion, our data point to a modulatory role of flagellin pre-treatment on the immune response to *P. aeruginosa*. This approach may have a therapeutic potential to improve inflammatory manifestations of CF.

Mots clés : TLR5 - Flagellin - Cystic Fibrosis - *Pseudomonas aeruginosa*.

New immunotherapeutic approaches (in association with SFI)**SP1.5-O3****Towards the development of a tetravalent synthetic carbohydrate-based glycoconjugate vaccine against shigellosis**

Armelle Phalipon (armelle.phalipon@pasteur.fr)

Pathogénie Microbienne Moléculaire, Institut Pasteur, Paris, France

Shigella remains in the top four pathogens responsible for moderate to severe diarrhea in children below 5 years of age (1). The polysaccharide part, named the specific O-antigen (O-SP), of the major *Shigella* surface antigen, the lipopolysaccharide (LPS), is a promising vaccine target (2). In collaboration with Laurence Mulard (Head of the Unit of Chemistry of Biomolecules, Institut Pasteur, Paris), we developed a conjugate vaccine prototype incorporating a unique well-defined synthetic oligosaccharide (OS) hapten, chemically designed for optimal antigenic, conformational, structural and functional mimicry of the O-SP from *Shigella flexneri* 2a (SF2a), coupled to the tetanus toxoid as carrier protein (3, 4). We assessed the safety and immunogenicity of this original synthetic OS-based vaccine candidate, SF2a-TT15, conceived to drive the antibody response towards the key “protective” determinants of the native O-SP, in a first-in-human phase I study (5, and submitted). SF2a-TT15 was shown to be safe and well tolerated. It induced high levels of anti-SF2a LPS IgG antibodies with functional capabilities along with SF2a-specific memory B cells. These results support further evaluation of this vaccine candidate in additional settings. Phase 2a/2b studies are ongoing to assess SF2a-TT15 tolerability, reactogenicity and immunogenicity in infants in low-middle-income countries and make the proof-of-concept of its protective capacity in adults in a controlled human infection model (CHIM).

The same synthetic OS-based strategy was applied to SF3a, and the combination of the two optimized SF2a and SF3a glycoconjugates was shown to induce anti-SF2a LPS and anti-SF3a LPS IgGs in mice with functional properties against SF2a and SF3a strains. The design of the best conjugates incorporating mimics of SF6 O-SP and *S. sonnei* O-SP is ongoing, with the aim to develop a 4-valent vaccine combining the 4 OS-based conjugates to fight against the most predominant circulating *Shigella* strains, *i.e.* SF2a, SF3a, SF6, and *S. sonnei*.

Altogether, these findings also encourage additional evaluation in humans of other synthetic glycan-based vaccine candidates as a promising way forward to a novel generation of fine-tuned glycoconjugate vaccines against infectious diseases.

Mots clés : *Shigella* - bacillary dysentery - conjugate vaccine - synthetic oligosaccharide - phase 1 clinical trial.

Références :

1. Kotloff KL et al., 2019, Lancet Glob Health 7:e568-e584
2. Cohen D. et al., 2019, Hum Vaccin Immunother. 2019;15:1401-1408
3. Phalipon A. et al., 2009, J. Immunol. 82:2241-7
4. Barel LA. and Mulard LA., 2019, Hum Vaccin Immunother. 15:1338-1356
5. Van der Put R. et al., 2016, Bioconj. Chem. 27:883-92

Des facteurs de risques et des échanges

SP2.3-O1

La résistance aux antibiotiques des bactéries des aliments fermentés

Sabine Leroy (sabine.leroy@inra.fr), Régine Talon

UMR MEDIS, UCA, INRA, Clermont-Ferrand, France

Les aliments fermentés sont une source importante de bactéries vivantes. L'ingestion d'aliments fermentés, qui peut représentée entre 5 et 50% des apports, est considérée comme bénéfique pour la santé de part leurs qualités nutritionnelles et sanitaires et l'apport de microorganismes en quantité, 10⁴ à 10⁹ micro-organismes par gramme ou ml, qui peuvent survivre au transit et avoir un rôle transitoire sur le système immunitaire ou le microbiote digestif [1]. Lorsque la fermentation est contrôlée à l'aide de ferments, ils sont largement dominants dans le produit fini et assurent sa qualité sanitaire. Cependant, de nombreux aliments sont fermentés de manière naturelle permettant la multiplication des microorganismes les plus adaptés, originaires de la matière première et/ou de l'environnement de fabrication. Dans ces communautés microbiennes, des bactéries, incluant des bactéries lactiques, peuvent être résistantes à des antibiotiques et constituer un réservoir de gènes conférant ces résistances. Ces gènes peuvent être transmis par transfert horizontal aux autres bactéries de la communauté ou à des bactéries pathogènes potentiellement présentes dans ces aliments. Si de nombreuses études se sont intéressées à ces transferts de gènes en conditions *in vitro*, très peu ont fait la démonstration de ces transferts au sein d'un aliment. Ces études ont révélé que des transferts étaient possibles entre souches appartenant à la même espèce au sein de matrices laitières ou carnées. Des transferts par conjugaison d'une résistance à la tétracycline ont ainsi été observés entre 2 souches de *Lactococcus lactis* dans un lait fermenté [2] et de *Staphylococcus xylosus* au cours de la fermentation de saucissons [3]. De même, un transfert de résistance à la vancomycine a pu être mis en évidence entre souches d'*Enterococcus faecalis* au cours de la fermentation de fromages et de saucissons [4]. Dans tous les cas, la fréquence des transferts étaient faibles au sein des matrices alimentaires. Cependant, les aliments fermentés naturellement fermentés renfermant des communautés microbiennes complexes provenant en partie du microbiote des animaux d'élevage questionnent sur le potentiel transfert de résistance aux antibiotiques au microbiote intestinal de l'Homme [5].

Mots clés : Antibiorésistance - Transfert horizontal - Aliment fermenté - Bactéries lactiques - Staphylocoques.

Références :

1. Rezac S., Kok C.R., Heermann M., Hutkins R. 2018. Fermented Foods as a Dietary Source of Live Organisms. *Front Microbiol.*9: 1785.
2. Toomey N., Monaghan A., Fanning S., Bolton D. 2009. Assessment of antimicrobial resistance transfer between lactic acid bacteria and potential foodborne pathogens using *in vitro* methods and mating in food matrix. *Foodborne Pathog. Dis.* 6, 925-933.
3. Leroy S., Christieans S., Talon R. 2019. Tetracycline gene transfer in *Staphylococcus xylosus* in situ during sausage fermentation. *Front Microbiol.* 10:392.
4. Coconcelli P. S., Cattivelli D., Gazzola S. 2003. Gene transfer of vancomycin and tetracycline resistance among *Enterococcus faecalis* during cheese and sausage fermentations. *Int. J. Food Microbiol.* 88, 315-323.
5. Devirgiliis C., Barile S., Perozzi G. 2011. Antibiotic resistance determinants in the interplay between food and gut microbiota. *Genes Nutr.* 6:275-284.

Des facteurs de risques et des échanges

SP2.3-1

Role of the exporter PptAB in secretion of pheromones in *Streptococcus thermophilus*

Abarna Lingeswaran¹ (abarna.lingeswaran@inra.fr), Coralie Metton¹, Céline Henry², Véronique Monnet^{1,2}, Vincent Juillard¹, Rozenn Gardan¹

¹ComBac, Micalis, INRA, Jouy-en-Josas, France

²PAPPSO, Micalis, INRA, Jouy-en-Josas, France

Introduction and objectives:

Quorum-sensing (QS) is a communication mechanism used by bacteria to control various functions such as bioluminescence, competence for transformation or virulence factor production. QS regulates the expression of genes in a coordinated way when the concentration of secreted signaling molecules overcome a given threshold during the bacterial growth. In Gram-positive bacteria, these molecules called auto-inducers or pheromones are mainly oligopeptides. Pheromones' life-cycle is divided into four steps: intracellular production, maturation and secretion, which remain poorly known, followed by detection and regulation of the expression of target genes. *Streptococcus thermophilus* used in dairy industry for fermentation is known to have QS systems with pheromones called SHP (Short Hydrophobic Peptides) associated to transcriptional regulators of Rgg family(1). In *S. thermophilus*, we want to dissect the role of PptAB, an ATP Binding Cassette transporter, known to export SHP pheromones in *Streptococcus agalactiae* (2) and *Streptococcus pyogenes* (3).

Material and methods:

To identify if the transporter PptAB is necessary for the activation of the SHP/Rgg mechanisms found in *S. thermophilus*, we used a genetic approach with transcriptional reporters composed of promoter regions of target genes of three different QS systems fused with reporter genes *luxAB*. These fusions were introduced by natural transformation in the chromosome of a wild-type (WT) strain and a mutant strain (Δ pptAB). To study the role of PptAB in the secretion of the mature pheromones, we used mass spectrometry (MS) to research mature forms of SHP pheromones in supernatants of WT and Δ pptAB strains.

Results, discussion and conclusion:

With the genetic approach, we observed that only promoter regions of targets genes from WT reporter strains were activated compared to Δ pptAB reporter strains by measuring the relative amount of light emitted by the reporter gene. Hence, we confirmed the involvement of PptAB in the activation of the studied QS systems. By MS, spectra corresponding to mature forms of two studied SHP pheromones were detected only in the supernatant of the WT strain compared to Δ pptAB strain. This showed the involvement of PptAB in secretion of the studied pheromones.

Mots clés : *Streptococcus thermophilus* - Quorum-sensing - Pheromones - Secretion.

Références :

1. Fleuchot B, Gitton C, Guillot A, Vidic J, Nicolas P, Besset C et al. 2011. Rgg proteins associated with internalized small hydrophobic peptides: a new quorum-sensing mechanism in streptococci. *Mol Microbiol.* 80(4), 1102-1119.
2. Pérez-Pascual D, Gaudu P, Fleuchot B, Besset C, Rosinski-Chupin I, Guillot A et al. 2015. RovS and its associated signaling peptide form a cell-to-cell communication system required for *Streptococcus agalactiae* pathogenesis. *MBio.* 6(1), e02306-14.
3. Chang JC, Federle MJ. 2016. PptAB exports Rgg quorum-sensing peptides in *Streptococcus*. *PLoS One.* 11(12), e0168461.

Des facteurs de risques et des échanges

SP2.3-2

The mobilome; a major contributor to *Escherichia coli* stx2-positive O26:H11 strains intra-serotype diversity

Sabine Delannoy¹ (sabine.delannoy@anses.fr), Patricia Mariani-Kurkdjian², Hattie Webb³, Stéphane Bonacorsi², Patrick Fach¹

¹Laboratoire de sécurité des aliments, Anses, Maisons-Alfort, France

²Service de microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

³Department of Animal and Food Sciences, Texas Tech University, Lubbock, États-Unis

Introduction:

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) of serotype O26:H11/H- constitute a diverse group of strains and several clones with distinct genetic characteristics have been identified and characterized. Especially, a clone possessing the *stx2* gene has emerged in the last decade. The objective of our study was to gain a better insight into the phylogenetic relationships of the various *stx2*-positive O26:H11 strains circulating in France.

Methods:

Whole genome sequencing was performed using Illumina and PacBio technologies on eight clinical *stx2*-positive O26:H11 strains circulating in France. A combination of bioinformatics methodologies was used to perform a comparative and phylogenetic analysis of these strains with ten other O26:H11 genomes obtained from publicly available databases.

Results:

Comparative analyses of the whole genome of the *stx2*-positive O26:H11 strains indicate that several clones of STEC O26:H11 are co-circulating in France. Phylogenetic analysis of the French strains together with *stx2*-positive and *stx*-negative *E. coli* O26:H11 genomes obtained from Genbank indicates the existence of four clonal complexes (SNP-CCs) separated in two distinct lineages, one of which comprises the “new French clone” (SNP-CC1) that appears genetically closely related to *stx*-negative attaching and effacing *E. coli* strains. Interestingly, the whole genome SNP (wgSNP) phylogeny is summarized in the *cas* gene phylogeny, and a simple qPCR assay targeting the CRISPR array specific to SNP-CC1 (SP_O26-E) can distinguish between the two main lineages. The PacBio sequencing allowed a detailed analysis of the mobile genetic elements (MGEs) of the strains. Numerous MGEs were identified in each strain, including a large number of prophages and up to four large plasmids, representing overall 8.7 to 19.8% of the total genome size. Analysis of the prophage pool of the strains shows a considerable diversity with a complex history of recombination. Each clonal complex (SNP-CC) is characterized by a unique set of plasmids and phages, including *stx*-prophages, suggesting evolution through separate acquisition events.

Conclusions:

These data provide insight on the phylogenetic relationships of the various *stx2* positive O26:H11 strains circulating in France. Overall, the MGEs appear to play a major role in O26:H11 intra-serotype clonal diversification.

Mots clés : STEC - mobile genetic elements - phylogeny - comparative genomics - *Escherichia coli*.

Des facteurs de risques et des échanges

SP2.3-3

Exfoliative toxin E, a new *Staphylococcus aureus* virulence factor with host-specific activity

Yves Le Loir¹ (yves.le-loir@inra.fr), Ichiro Imanishi², Aurélie Nicolas³, Ana-Carolina Barbosa Caetano⁴, Thiago Luiz de Paula Castro⁴, Natayme Rocha Tartaglia^{3, 4}, Ricardo Mariutti⁵, Eric Guédon³, Sergine Even³, Nadia Berkova³, Raghuvir K. Arni⁵, Nubia Seyffert⁴, Vasco Azevedo⁴, Koji Nishifuji²

¹UMR1253 STLO, INRA, Rennes, France

²Tokyo University of Agriculture and Tech, Tokyo, Japon

³INRA, Rennes, France

⁴UFMG, Belo Horizonte, Brésil

⁵UNESP, São José do Rio Preto, Brésil

The primary hosts of *Staphylococcus aureus* are humans, but this opportunistic pathogen has evolved to adapt to other hosts such as domestic and farm animals. Such adaptation can be illustrated at the population structure level, with clonal complexes adapted to a given host. It can also be illustrated at the molecular level, with some toxins that are specifically active against targets in a given host. The work presented here is an illustration of *S. aureus* adaptation to peculiar hosts, at the molecular level. Exfoliative toxins (ETs) are secreted virulence factors produced by staphylococci. These serine proteases specifically cleave desmoglein 1 (Dsg1) in mammals and are key elements in staphylococcal skin infections. We recently identified a new *et* gene in *S. aureus* O46, a strain isolated from ovine mastitis. Here, we characterized the new *et* gene at a genetic level and the enzymatic activity of the deduced protein. The *S. aureus* O46 genome was re-assembled, annotated and compared with other publicly available *S. aureus* genomes. The deduced amino acid sequence of the new *et* gene shared 40%, 53% and 59% sequence identity to those of ETA, ETB and ETD, respectively. The new *et* gene shared the same genetic vicinity and was similar in other *S. aureus* strains bearing this gene. The recombinant enzyme of the new *et* gene caused skin exfoliation in vivo in neonatal mice. The new *et*-gene was thus named *ete*, encoding a new type (type E) of exfoliative toxin. We showed that ETE degraded the extracellular segments of Dsg1 in murine, ovine and caprine epidermis, as well as in ovine teat canal epithelia, but not that in bovine epidermis. We further showed that it directly hydrolyzed human and swine Dsg1 as well as murine Dsg1alpha and Dsg1beta, but not canine Dsg1 or murine Dsg1gamma. Molecular modeling revealed a correlation between the preferred orientation of ETE docking on its Dsg1 cleavage site and species-specific cleavage activity, suggesting that the docking step preceding cleavage accounts for the ETE species-specificity. This new virulence factor may contribute to the bacterial colonization on the stratified epithelia in certain ruminants with mastitis.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* - host-specificity - host-adaptation - exfoliative toxin - molecular modeling.

Microbiote et alimentation *(en association avec la STCM)***SP3.3-O1****Impact du microbiote sur l'allergie alimentaire aux protéines de lait de vache chez les nourrissons**

Anne-judith Waligora-Dupriet (anne-judith.waligora@parisdescartes.fr)

Université Paris Descartes, Paris, France

Résumé non parvenu.

Microbiote et alimentation (en association avec la STCM)**SP3.3-O2****Le microbiote intestinal : une nouvelle source de probiotiques ?**

Luis Bermudez (luis.bermudez@inra.fr)

Institut Micalis, INRA, Jouy-en-Josas, France

Un probiotique désigne un micro-organisme vivant qui lorsqu'il est administré en quantité suffisante, il exerce un effet bénéfique pour la santé de l'hôte (selon l'OMS, 2002). Cette définition fait la distinction entre les cultures du levain, (administrés comme éléments de transformation des aliments) et les microorganismes commensaux (non administrés mais déjà présents chez l'hôte : microbiote intestinale) des bactéries probiotiques, qui elles, sont administrées chez l'hôte pour promouvoir des effets sur la santé. Malgré que le microbiote intestinale est souvent la source de nouvelles souches probiotiques, tant qu'elles ne sont pas bien isolées, caractérisées et leurs effets sur la santé (pas d'effet néfaste pour l'hôte) clairement démontré, elles ne peuvent pas être qualifiées de «probiotiques». Les probiotiques traditionnels ont été isolés (pour la plupart) à partir de différentes sources telles que des aliments fermentés traditionnels ou même des selles humaines. Par ailleurs, ces bactéries (qui appartiennent pour la plupart aux genres *Lactobacillus* spp. et *Bifidobacterium* spp.) sont classés comme des microorganismes GRAS (Generally Regarded as Safe) par la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis, ou QPS (Qualified Presumption of Safety) par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) du fait de leur parfaite innocuité. Des études métagénomiques sur le microbiote humain ont permis d'identifier récemment un certain nombre d'espèces bactériennes susceptibles d'exercer des effets bénéfiques sur l'hôte dans différentes conditions physiopathologiques telles que l'obésité, l'inflammation intestinale ou encore le cancer. *Akkermansia muciniphila* et *Faecalibacterium prausnitzii* ainsi que d'autres bactéries productrices de butyrate font partie de ces microbes. Cependant, ces micro-organismes n'ont pas le même historique d'utilisation sûre que les probiotiques traditionnels et leur innocuité n'est pas considérée aujourd'hui comme prouvée. Que ces bactéries puissent ou non être utilisées dans des aliments, des compléments alimentaires ou des médicaments dépendra de la démonstration de leur innocuité et l'efficacité de ces utilisations et du cadre réglementaire.

Mots clés : Microbiote - Bactéries commensales - Probiotiques - Inflammation - Cancer.

Microbiote et alimentation (en association avec la STCM)**SP3.3-1****Fermented milks, using *Lactobacillus casei* or *Propionibacterium freudenreichii*, prevent mucositis, a side effect of chemotherapy, in mice**

Gwénaél Jan (gwenael.jan@inra.fr)

UMR STLO, INRA, Rennes, France

Introduction and objectives:

Mucositis, a common side effect of cancer chemotherapy, is a clinically important gastrointestinal inflammatory disease. It consists in a painful inflammation and ulceration of the digestive mucosa, which may compromise proper nutrition of the patient, as well as termination of the treatment. It thus increases mortality and morbidity and contributes to rising health care costs. Its treatment is mainly supportive and often fails to relieve symptoms. Probiotic bacteria may maintain homeostasis and reduce side effects of chemotherapy [1]. A major limit to probiotic bacteria anti-inflammatory effect is their susceptibility to digestive stresses and several studies indicate the key protective role of food matrices in increasing probiotics' effect via the protection of bacteria against digestive constraints. In this study, we investigated the role of fermented milk, using the immunomodulatory *Lactobacillus casei* BL23 [2] or *Propionibacterium freudenreichii* CB129 [3, 4] as a probiotic starter, and of its fortification via addition of whey proteins.

Materials and methods:

We evaluated the role of whey protein isolate (WPI), when added to skim milk fermented by *L. casei* BL23 or by *P. freudenreichii* 138, as a protective matrix against *in vitro* stress challenges. In addition, we investigated *in vivo* the therapeutic effect of these fermented beverages in a murine model of mucositis induced by 5-Fluorouracil (5-FU). The monitored outcomes included weight loss, ileum histopathological score, villus height, crypt depth and number of mucus-producing goblet cells.

Results:

This study demonstrated that milk supplementation with 30% (w/v) of WPI increases the survival rate of both strains when challenged with acid or bile salts, compared to fermented skim milk without the addition of WPI. Moreover, treatment with the probiotic beverages prevented weight loss and intestinal damages in mice receiving 5-FU. All symptoms of mucositis were drastically reduced by the consumption of developed probiotic fermented milks [5].

Conclusion:

This study evidenced the protective effect of selected strains of both lactic and propionic acid bacteria, in the context of induced mucositis. It confirmed that selected strains might be used both as starter and probiotic. It opens new avenues for the development of fermented functional foods for target populations.

Mots clés : Lactobacillus - Propionibacterium - Cancer - Mucositis - Probiotic.

Références :

1. Jiang, C., Wang, H., Xia, C., Dong, Q., et al., A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics to reduce the severity of oral mucositis induced by chemoradiotherapy for patients with nasopharyngeal carcinoma. *Cancer* 2019, 125, 1081–1090.
2. Rochat, T., Bermúdez-Humarán, L., Gratadoux, J.-J., Fourage, C., et al., Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus casei* BL23 producing or not a manganese-dependant catalase on DSS-induced colitis in mice. *Microb. Cell Fact.* 2007, 6, 22.
3. Folligné, B., Deutsch, S.M., Breton, J., Cousin, F.J., et al., Promising immunomodulatory effects of selected strains of dairy propionibacteria as evidenced *in vitro* and *in vivo*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010, 76, 8259–8264.
4. Deutsch, S.-M., Mariadassou, M., Nicolas, P., Parayre, S., et al., Identification of proteins involved in the anti-inflammatory properties of *Propionibacterium freudenreichii* by means of a multi-strain study. *Sci Rep* 2017, 7, 46409.
5. Cordeiro, B.F., Oliveira, E.R., Silva, D., H, S., et al., Whey Protein Isolate-Supplemented Beverage, Fermented by *Lactobacillus casei* BL23 and *Propionibacterium freudenreichii* 138, in the Prevention of Mucositis in Mice. *Front. Microbiol.* 2018, 9.

Microbiote et alimentation (en association avec la STCM)**SP3.3-2****Impact de l'indole, métabolite bactérien dérivé du tryptophane, sur l'activité mitochondriale, l'expression de la cytokine pro-inflammatoire IL-8 et l'intégrité de l'ADN dans un modèle de cellules épithéliales coliques**

Lucie Armand (lucie.armand@agroparistech.fr), Masou Fofana, Antoine Domenger, Mireille Andriamihaja, François Blachier

AgroParisTech, Paris, France

Introduction et objectifs :

L'indole est un des métabolites bactériens issus du tryptophane les plus concentrés dans le contenu luminal intestinal, à des concentrations millimolaires. Les effets biologiques de l'indole sont controversés : bien que l'indole, à des concentrations physiologiques, favorise le renforcement de la barrière intestinale [1], son métabolite majoritaire [2], l'indoxyl sulfate, produit dans le foie et dans le côlon par les cytochromes P450 [3;4], est considéré comme une toxique urémique [5]. L'objectif de ce travail est donc d'évaluer les effets de l'indole sur un modèle de cellules épithéliales colique.

Matériels et méthodes :

Des cellules de la lignée épithéliale colique HT-29 Glc-/+ ont été exposées aux concentrations physiologiques de 1 ou 2.5 mM pendant 48h. La viabilité cellulaire a été évaluée par les tests MTT et LDH, le stress oxydant par le test DCFH et la mesure de l'expression des SOD par RT-qPCR, l'intégrité de l'ADN par le test des comètes et la respiration cellulaire par la consommation d'oxygène ; enfin, nous avons évalué l'expression de l'IL-8.

Résultats, discussion et conclusion :

L'indole s'est révélé non cytotoxique dans les conditions utilisées. Bien que l'indole n'induisse pas de production significative d'espèces réactives de l'oxygène, on observe une induction de SOD1 et SOD2, ce qui pourrait indiquer que l'indole induit un stress oxydant compensé par l'induction d'enzymes métabolisant les anions superoxydes. Le test des comètes montre une augmentation modeste de la quantité de cassures de l'ADN après exposition à 2.5 mM d'indole, alors que l'expression de XPC ou ATM n'est pas modifiée, ce qui indiquerait des dommages à l'ADN insuffisants pour induire les gènes impliqués dans la réparation de l'ADN. La respiration cellulaire n'est pas modifiée après exposition à 2.5 mM d'indole. Enfin, on observe une augmentation de l'expression d'IL8 après exposition à l'indole, ce qui suggère que ce métabolite pourrait participer au phénomène inflammatoire.

L'indole, dans notre étude, présente donc, à des concentrations physiologiques, des effets génotoxiques et proinflammatoires sur les cellules épithéliales coliques. L'augmentation de l'expression des gènes codant pour les 2 isoformes de SOD pourrait correspondre à une adaptation des cellules vis-à-vis de l'indole.

Mots clés : indole - toxicité - épithélium colique.

Références :

1. Bansal, T., Alaniz, R. C., Wood, T. K., & Jayaraman, A. (2010). The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(1), 228–233.
2. Bulus, H., Oguztuzun, S., Güler Simsek, G., Kilic, M., Ada, A. O., Göl, S., ... Iscan, M. (2018). Expression of CYP and GST in human normal and colon tumor tissues. *Biotechnic & Histochemistry*, 1–9.
3. Gillam, E. M., Notley, L. M., Cai, H., De Voss, J. J., & Guengerich, F. P. (2000). Oxidation of indole by cytochrome P450 enzymes. *Biochemistry*, 39(45), 13817–13824.
4. King, L., Parke, D., & Williams, R. (1966). The metabolism of [2- 14 C]indole in the rat. *Biochemical Journal*, 98(1), 266–277.
5. Leong, S., & Sirich, T. (2016). Indoxyl Sulfate—Review of Toxicity and Therapeutic Strategies. *Toxins*, 8(12), 358.

Microbiote et alimentation (en association avec la STCM)**SP3.3-3****Dysbiose intestinale et phénotype pro-allergique : décryptage du lien entre microbiote intestinal et allergie cutanée**

Emilie Plantamura (eplantamura@maat-pharma.com)

MaaT Pharma, Lyon, France

La voie des RLR (RIG-I like Receptors) joue un rôle essentiel dans la détection des virus à ARN, déclenchant une réponse immunitaire antivirale grâce au recrutement de la protéine adaptatrice mitochondriale MAVS (Mitochondrial AntiViral Signaling protein). Nous avons mis en évidence que les souris déficientes pour la protéine MAVS (MAVS KO) présentaient un phénotype proallergénique dans un modèle d'inflammation stérile d'hypersensibilité retardée de contact (HSRC) qui reproduit la dermatite allergique de contact (DAC) chez l'homme. Nous avons caractérisé le système immunitaire des souris MAVS KO en condition d'équilibre et durant la réponse d'HSRC. Nous avons identifié un rôle du microbiote intestinal des souris MAVS KO dans l'exacerbation de réponse d'HSRC et mis en évidence une dysbiose du microbiote bactérien. Nous avons démontré que la dysbiose était responsable du phénotype inflammatoire observé, phénotype transmissible à des souris sauvages par des expériences de cohébergement et de transplantation fécale. Cette dysbiose induit une augmentation de la perméabilité intestinale chez les souris MAVS KO lors de la réponse d'HSRC, aboutissant à une translocation bactérienne dans les organes lymphoïdes et à la modulation des réponses immunitaires à l'origine de l'exacerbation de réponse d'hypersensibilité. Nos résultats permettent d'envisager le développement de nouvelles approches thérapeutiques des pathologies allergiques humaines par la modulation du microbiote intestinal.

Mots clés : Microbiote - Allergie de contact.

Références :

1. Plantamura, 2018, PNAS, 115 (41) 10404-10409

Antimicrobial peptides

SP1.6-O1

Physiological and therapeutic roles of antimicrobial peptides

Sylvie Rebuffat (rebuffat@mnhn.fr)

Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, France

The use of antimicrobial peptides (AMPs) is probably the oldest and most widespread antimicrobial strategy in living organisms. In animals and plants, AMPs are a component of the innate immune system that is a first line of defense to fight against invading pathogens. AMPs turn now to be called host-defense peptides due to their multiple functions, managing the cross-talk between host and microorganisms and maintaining a healthy and dynamic equilibrium across mucosal systems. In turn, bacteria and archaea secrete such defense peptides (bacteriocins, microcins, archaeocins), which are major actors in the microbial war. These ribosomally-synthesized peptides may carry posttranslational modifications, resulting from the activity of dedicated enzymes encoded by the peptide gene clusters. To protect themselves from their own toxic peptide, bacteria either express dedicated immunity proteins encoded in the bacteriocin/microcin gene cluster or expell the toxin. As a result, AMPs exhibit a prodigious diversity in terms of structures and related mechanisms, which reflects the biodiversity of the living world.

The alarming explosion of infections caused by multidrug-resistant (MDR) pathogens is one of the biggest threats for human health worldwide. In the context of combating antimicrobial resistance within the One Health framework, where human, animal and environmental healths have to be considered as a whole, it is now urgent to investigate alternatives to conventional antibiotics in addition to the continuing efforts in discovering novel molecules with uncommon mechanisms of action. As such antimicrobial peptides appear as a promising direction.

Selected by evolution, natural AMPs display potent activity toward competitors without generating significant resistance under ecological conditions. Being thoroughly studied owing to their therapeutic potential, their mechanisms of action appear to involve various targets, from the bacterial envelope and the membrane bilayer to most intimate enzymes inside the cell, or by associating several strategies. Beyond their defense roles, AMPs produced by both the microorganisms and their hosts are also key actors in maintaining balanced and dynamic polymicrobial communities (microbiota) in the ecological niches. These features make AMPs promising molecules to develop into alternative antibiotic strategies for use in the human medicine, agriculture and food industries, for the benefit of the society.

Mots clés : bacteriocin - microcin - mode of action - posttranslational modification - microbiota.

Antimicrobial peptides

SP1.6-1

PARAGEN: a standardized synthetic gene library to produce antimicrobial peptides

Philippe Gabant (pgabant@syngulon.com)

Syngulon, Seraing, Belgique

The continuous emergence of microbial resistance to our antibiotic arsenal drugs is widely becoming recognized as an imminent threat to global human health. Bacteriocins are antimicrobial peptides currently under consideration as real alternatives or complements to common antibiotics. These peptides have been highly studied, novel bacteriocins are regularly reported and several databases on these peptides are currently maintained. Despite this, to our knowledge, a physical collection of bacteriocins that would allow testing and comparison for different applications does not exist. Rapid advances in synthetic biology in combination with cell-free protein synthesis technologies offer great potential for fast protein production. Based on the amino acid sequences of the mature peptide available in the databases, we have built a bacteriocin gene library, called PARAGEN 1.0, containing all the elements required for *in vitro* cell-free peptide synthesis. Using PARAGEN 1.0 and a commercial kit for cell-free protein synthesis we have produced 150 different bacteriocins belonging to the class II (unmodified bacteriocins) group. Of the bacteriocins synthesized, 59% have shown antimicrobial activity against at least one of the indicator strains tested, including Gram-positive and Gram-negative bacteria representing commonly used lab strains, industrially relevant microorganisms, and known pathogens. This bacteriocin collection represents a streamlined pipeline for selection, production, and screening of bacteriocins as well as a reservoir of ready-to-use antimicrobials against virtually any class of relevant bacteria.

Mots clés : synthetic biology - bacteriocins - antimicrobial peptides - microbiome.

Références :

1. Pascal Hols, Laura Ledesma-García, Philippe Gabant, and Johann Mignolet. Mobilization of Microbiota Commensals and Their Bacteriocins for Therapeutics. 2019. Trends in Microbiology. n°1685 p 1.
2. Philippe Gabant and Juan Borrero PARAGEN 1.0: a standardized synthetic gene library for fast cell-free bacteriocin synthesis in Press.

Antimicrobial peptides

SP1.6-2

Antibacterial and anti-biofilm properties of peptoids cationic amphipatic AMP mimics

Christiane Forestier¹ (christiane.forestier@uca.fr), Nicolas Charbonnel¹, Radhe Shyam², Claude Taillefumier², Sophie Faure²

¹UMR CNRS 6023 LMGE, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

²UMR CNRS 6296 ICCF, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Background:

The development of antibiotic resistances by microorganisms has led to a need to find novel antibacterial agents or combinations of agents as the first line of treatment for various infections. Peptoids, oligomers of N-substituted glycines, are attracting due to their advantageous properties as peptidomimetics, including designable well-defined three-dimensional structures and stability toward proteolysis. This study aimed to investigate the anti-biofilm and antimicrobial properties as well as their potential synergy with antibiotics of a set of peptoids mimicking helical antimicrobial peptides (AMPs) using Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Methods:

Antibiofilm activity was determined by measuring the biofilm biomass (viable bacteria) after 3h of co-incubation and after treatment of formed biofilms with the peptoid molecules to be tested. Antibacterial activity was measured by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) by a microtiter broth dilution in Müller-Hinton and mammalian cells culture media. Based on the MIC of each antimicrobial agent, a checkerboard assay was performed to investigate the synergy between them, which was expressed as the fractional inhibitory concentration (FIC).

Results:

Several cationic amphipatic peptoids displayed antibiofilm and antibacterial activity, the latter being enhanced in mammalian culture cells medium compared to MH medium, with low hemolytic activity and cytotoxicity. The combination of a selected peptoid and the antibiotic erythromycin showed synergistic activity against Gram-negative bacteria, and this activity was retained and even enhanced when incubated in mammalian cells culture medium compared to standard bacteriologic media.

Conclusion:

Peptoid-type AMP mimics alone and in combinations with antibiotic are promising strategies to fight biofilm formation and antibiotic resistant bacteria.

Mots clés : AMP mimics - peptoids - biofilm - antibacterial activity.

Antimicrobial peptides

SP1.6-3

New antibiofilm mechanism of action, matrix anti-assembly (MAA), displayed by red pepper peptide

Rafael Gomes Von Borowski^{1,2} (gvb.rafa@gmail.com), Sophie Chat¹, Rafael Schneider^{1,3}, Aline Rigon Zimmer⁴, Simone C. Baggio Gnoatto⁴, Alexandre José Macedo^{3,5}, Emmanuel Giudice¹, Reynald Gillet¹

¹UMR 6290 / RBS, Univ. Rennes1 / CNRS / IGDR, Rennes, France

²LaBDiM & LaFiS, FacFar/UFRGS, Porto Alegre, Brésil

³LaBDiM, FacFar/UFRGS, Porto Alegre, Brésil

⁴LaFiS, FacFar/UFRGS, Porto Alegre, Brésil

⁵LaBDiM, Cbiot/UFRGS, Porto Alegre, Brésil

Introduction and objectives:

It is evident that alternatives are needed to combat drug-resistant organisms and biofilms. A biofilm is a complex matrix of self-assembled extracellular polymeric substances (EPSs) enfolding microorganisms. This virulence factor enables them to overcome a series of environmental stresses such as delayed/suppressed penetration of the antimicrobial agent into the matrix, the presence of metabolically inactive 'persisters', and the increased ability to exchange mobile genetic elements encoding resistance. In this context, natural peptides have contributed chemically and pharmacologically in order to develop antibiofilm alternatives. Specially, we identified capsicumicine, a peptide from *Capsicum baccatum* (red pepper) that acts by a novel mechanism of action, matrix anti-assembly (MAA).

Materials and methods:

In order to study the antibiofilm mechanism of action we proceeded with qRT-PCR and biochemical analysis and, a set of ultrastructural analysis such as transmission/scanning electron microscopy and confocal fluorescence microscopy.

Results, discussion and conclusions:

Our studies have shown that bioinspired peptides are promising antibiofilm prime structures [1,2]. Particularly, red pepper peptides are effective antiadhesive and antibiofilm agents against methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* and, show excellent non-cytotoxic profiles. Furthermore, we characterized a new antibiofilm mechanism of action, extracellular and independent of antibiotic effect. MAA leads to matrix disturbance and, therefore its functioning [3-5]. We are facing a *post-antibiotic* era, where antibiotics are no longer effective against all microbial threats. In the past decades, thousands of articles have been published about biofilms but so far no effective treatment has been developed. Finally, we believe that these results could improve the development of new peptides and peptidomimetics aiming pharmaceutical innovation.

Mots clés : antibiofilm - résistance - peptide - peptidomimétique - capsicum.

Références :

1. Von Borowski, R. G., Macedo, A. J., and Gnoatto, S. C. B. (2017). Peptides as a strategy against biofilm-forming microorganisms: Structure-activity relationship perspectives. *Eur. J. Pharm. Sci.* 114, 114–137. doi: 10.1016/j.ejps.2017.11.008.
2. Gomes Von Borowski, R., et al., Promising Antibiofilm Activity of Peptidomimetics. *Front Microbiol*, 2018. 9: p. 2157.
3. Gomes Von Borowski, R., et al., Red pepper *Capsicum baccatum* : source of antiadhesive and antibiofilm compounds against nosocomial bacteria. 2019. 127: p. 148-157.
4. Von Borowski, R. G., et al. Capsicumicine: a peptide from *Capsicum baccatum* peppers is a powerful antibiofilm agent and displays a new mechanism of action, matrix anti-assembly. Submitted, 2019
5. Von Borowski, Rafael Gomes et al. Peptides for preventing biofilm. European Patent Office n° EP19305205.7, France (2019).

Miscellanées (en association avec le Col.BVH)

SP4.3-O1

Suivi des épisodes bactériémiques dans des établissements hospitaliers des Hauts de France

Christian Cattoen (cattoen-c@ch-valenciennes.fr)

Service de Microbiologie, Centre hospitalier de Valenciennes, Valenciennes, France

Introduction et objectifs :

Cette synthèse de trois études successives menées dans des hôpitaux des Hauts de France vise à comparer les caractéristiques des bactériémies documentées à trois bactéries fréquemment impliquées : *Escherichia coli* producteur de BLSE, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

Matériels et méthodes :

La première étude a été menée dans 17 centres, les deux suivantes dans deux hôpitaux selon la même méthodologie. Une revue des dossiers patients présentant une bactériémie a été effectuée afin de recueillir les données cliniques (âge, sexe, comorbidités, diagnostic, traitement, devenir du patient) et microbiologiques (documentation, sensibilité des souches). Les données ont été colligées et analysées.

Résultats :

L'étude comparative de 599 dossiers dans ces trois contextes de bactériémies fait ressortir les éléments suivants :

1. Concernant les bactériémies à *E. coli* BLSE, les patients étaient plus fréquemment documentés en service de médecine et aux urgences, l'âge moyen était de 75.6 ans, la comorbidité principale était d'origine cardio-vasculaire (42.6%), le site urinaire était documenté avec la même souche dans 57.9% des cas. A J10, 80.4% des patients étaient encore hospitalisés mais le processus infectieux était normalisé dans 76% des situations. La documentation a conduit à une adaptation du traitement dans 65.6% des cas.
2. Concernant les bactériémies à *P. aeruginosa*, les patients étaient plus fréquemment documentés en service de médecine, oncologie et USI, l'âge moyen était de 69 ans, la comorbidité principale était d'origine néoplasique (49.7%), les hémocultures étaient polymicrobiennes dans 25.7% des cas. A J10, 45% des patients étaient encore hospitalisés, 22% des patients étaient décédés. La documentation a conduit à une incrémentation du traitement dans 77.5% des cas.
3. Concernant les bactériémies à *S.aureus*, les patients étaient plus fréquemment documentés en service de médecine et chirurgie, l'âge moyen était de 65 ans, la comorbidité principale était d'origine cardio-vasculaire (49.4%), un dispositif intravasculaire était implanté chez 51% des patients. A J10, 67.7% des patients étaient encore hospitalisés, le processus infectieux était normalisé dans 33.2% des situations, 16.6% des patients étaient décédés. La documentation a conduit à une adaptation du traitement dans 65.6% des cas.

Conclusion :

Ce travail montre les particularités des bactériémies liées à chacune de ces trois bactéries.

Mots clés : Bactériémies.

Miscellanées (en association avec le Col.BVH)

SP4.3-O2

Évaluation de la qualité de l'antibiogramme dans le réseau Collège de Bactériologie Virologie Hygiène des hôpitaux (Col.BVH) : des années d'expérience

Hubert Chardon (hchardon@ch-aix.fr), Nathalie Brieu, Jenny Gallou

Microbiologie, CHIAP, Aix-en-Provence, France

Créé en 1985, COLBVH s'est rapidement préoccupé de la qualité, initialement centrée sur l'identification et actuellement axée sur l'antibiogramme.

Quelques résultats faisant suite aux contrôles les plus récents sont présentés ; seuls les résultats interprétés sont pris en compte.

En 2016 : *Staphylococcus aureus* (*Sa*) multi-résistant testé par 30 laboratoires. Le pourcentage de bons résultats (BR) sur 25 antibiotiques testés par la majorité des laboratoires s'élève à 96 % (résistant teicoplanine : 71% BR, les 29 % restants ont cependant catégorisé « sensibilité diminuée », sensible pristinamycine : 68% BR, 17 % I, 5% R et 10% « sensibilité diminuée »). La résistance à l'oxacilline est toujours bien détectée, mis à part en 2012 chez *Sa* multi-sensible *mecC* positif : 25% BR. Sur *Sa* résistant à l'érythromycine (MLSB inducible) testée en 2016 par 61 laboratoires : 42.6% BR S avec commentaire risque de mutation, 20.9% S sans commentaire, 1.6% I et 4.9 R%.

En 2017, résistance à l'ampicilline : 92.5% BR chez *Enterococcus faecium* (*Ee*) et 97.5% BR chez *E. faecalis* (*Ea*). Résistance à la vancomycine, 95% BR (*Ea vanA*), 97.5% BR (*Ea vanB*) et 80% BR (*Ee vanB*), résistante plus délicate à détecter (CMI bandelette : 2 mg/L en 24H).

En 2014 : détection de céphalosporinase plasmidique chez entérobactéries par 64 centres : 92% BR pour *K. pneumoniae* (*Kp*), 66% BR chez *Proteus mirabilis* (13 centres ont noté à tort la présence de BLSE) et 33% BR chez à *Escherichia coli* (*Ec*) (DHA).

En 2015 : détection de carbapénémase par 76 centres : 92% BR chez *Kp* (OXA-48), 89.5% BR chez *Ec* (OXA-48), 92% BR chez *Ec* (NDM) et 74% BR chez *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) (NDM).

En 2018 : *Kp* hyperproductrice de SHV1 testée par 50 centres, 11 centres identifient une BLSE à tort.

En 2019 : *Pa* sensible à ceftazidime et céfépime (CMI : 8 mg/L) : 60% BR pour ceftazidime 34% BR pour céfépime et grande dispersion des diamètres meropénème (18 à 32mm).

En conclusion, les mauvaises performances, rares, mais les plus intéressantes à analyser, permettent aux participants une remise en cause des pratiques et des méthodes utilisées.

Mots clés : COLBVH - Contrôle de qualité.

Miscellanées (en association avec le Col.BVH)

SP4.3-O3

Réseau méningite du Col.BVH : quels germes ?, quelles pathologies ?, évolution sur 30 ans

Odile Bellon¹ (o.bellon@ch-brignoles.fr), ColBVH College de Bactériologie Virologie Hygiène²

¹Laboratoire, Centre Hospitalier Jean Marcel, Brignoles, France

²Service de bactériologie, Centre hospitalier, Versailles, France

Introduction :

Depuis 1988, un observatoire des méningites bactériennes a été créé. Les biologistes volontaires, appartenant au collège de bactériologie-virologie-hygiène, participent au recueil des méningites bactériennes isolées dans leurs centres.

Matériel et méthodes :

Près de 300 biologistes travaillant dans 262 laboratoires hospitaliers ont, au fil du temps, renseigné le formulaire en ligne sur le site du collège.

Les biologistes doivent renseigner pour les patients, l'âge, le sexe et quelques constantes biologiques, et pour le prélèvement les résultats des examens bactériologiques et biochimiques avec les méthodes de diagnostic et leurs résultats.

Résultats :

Plus de 9140 méningites ont été colligées. Les principaux germes mis en évidence sont : pneumocoque (34%), méningocoque (25%), *Haemophilus* (7.6%), streptocoque B (7.2%), Staphylocoques (5.7%) avec majoritairement *Staphylococcus aureus* (4.3%), *Listeria*, (5%), entérobactéries (5%) avec majoritairement *E.coli* (4.7%), *Mycobacterium tuberculosis* (1.2%).

On retrouve également des germes plus rares : *Fusobacterium*, *Acinetobacter*, *Abiotrophia*, *Pasteurella*, *Capnocytophaga*.

L'analyse des courbes évolutives permet de noter une diminution des méningites tuberculeuse, à cryptocoques et à *haemophilus*, une stabilité pour les méningites à pyocyaniques et à méningocoques, mais une augmentation de celles à pneumocoques et streptocoques de groupe A et B.

L'examen des commentaires transmis permet de mettre en relation certaines pathologies et certains germes. On note une corrélation entre méningites plurimicrobiennes et abcès cérébral, une présence de staphylocoque doré plus importante en neurochirurgie, des germes réputés peu virulents lors de méningites avec présence de matériel de dérivation ventriculaire (*Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium*).

La caractérisation de l'infection en communautaire ou non est faite dans plus de 95% actuellement, les infections associées aux soins varient de 2 à 8% selon les années.

Conclusion :

Il est bien évident que la qualité de ce suivi en temps réel repose sur la rentrée effectivement en temps réel des données par les divers biologistes. Nous remercions chaleureusement tous les participants et espérons que l'observatoire continuera encore de nombreuses années.

Mots clés : Méningite - Epidémiologie - Réseau.

Miscellanées (en association avec le Col.BVH)

SP4.3-1

Identification rapide des hémocultures par spectrométrie de masse (MALDI-TOF) et leur impact sur la consommation d'antibiotiques dans un hôpital général

Mario Vilaró (bacteriohp@hotmail.com), Claudio Abiega

Laboratoire de Microbiologie, Hospital Privado de Córdoba-Argentina, Córdoba, Argentine

Introduction et objectifs :

L'identification directe de flacons d'hémocultures positifs par MALDI-TOF est un outil sensible et spécifique pour le diagnostic des bactériémies. La rapidité dans le rapport des résultats a un impact sur la santé des patients et les coûts hospitaliers (jours d'hospitalisation, diminution de la consommation d'antibiotiques, ajustement du traitement empirique, etc...). L'objectif de ce travail est d'analyser l'évolution de l'antibiothérapie lorsque les résultats de laboratoire sont rapportés en temps réel et leur relation avec la consommation d'antibiotiques.

Matériels et méthodes :

Les hémocultures positives comprises entre les 01.05.2018 et 31.03.2019 ont été identifiées par MALDI-TOF directe. Les résultats ont été immédiatement communiqués au médecin traitant et au service des maladies infectieuses. Le traitement empirique de chaque patient " positif " a été analysé simultanément, et le délai de correction thérapeutique pris en compte. Nous avons comparé la consommation d'antibiotiques entre la méthode directe et si les résultats avaient été réalisés avec la méthode d'identification incluant un passage de culture sur boîte.

Résultats, discussion et conclusion :

Sur un total de 1032 patients présentant des hémocultures positives, l'identification rapide a entraîné des modifications du comportement thérapeutique dans 576 cas (55,8%), soit en changeant d'antibiotique, soit en supprimant le traitement combiné avec divers antibiotiques. Chez 456 patients (44,2%), le résultat n'a pas été utile ou n'a entraîné aucune modification et il fallut attendre le résultat de l'antibiogramme pour ajuster le traitement. Au cours de la période d'étude l'identification directe par MALDI-TOF associée au rapport des résultats en temps réel, la démarche a permis de réduire la consommation d'antibiotiques de 11 976 doses. En conclusion, il a été possible de mesurer que la communication rapide des résultats du laboratoire de bactériologie a un impact important sur la consommation d'antibiotiques hospitaliers et, par conséquent, il en résulte une diminution de la pression de sélection des bactéries multirésistantes.

Mots clés : hémocultures - MALDI-TOF - bactériémies - Identification rapide - consommation d'antibiotiques.

Organs-on-chips, a new paradigm

SP5.3-O1

A bioengineered human Organ-on-Chip reveals the intestinal microenvironment and mechanical forces are critical for *Shigella* infection

Alexandre Grassart¹ (alexandre.grassart@pasteur.fr), Valérie Malardé², Samy Gobaa², Anna Sartori-Rupp², Jordan Kerns³, Katia Karalis³, Benoit Marteyn⁴, Philippe Sansonetti², Nathalie Sauvonnnet¹

¹Pathogénie Microbienne Moléculaire, Institut Pasteur, Paris, France

²Institut Pasteur, Paris, France

³Emulate, Boston, USA

⁴Université de Strasbourg, Strasbourg, France

Intestinal epithelial cells are permanently exposed to mechanical forces and pathogens. Despite an increasing amount of knowledge on the molecular machineries elaborated by pathogens to manipulate the host cell, the role of mechanical forces on their interactions and invasion at the tissue level remains limited. The gut continuously imposes two main physical forces on a colonizing pathogen, shear stress, induced by the intestinal flow, and stretching induced by the underlying muscle layer and resulting in the peristalsis, that may overcome the infectivity of pathogens. Here, we addressed whether flow and peristalsis impact the infectivity of the human pathogen *Shigella* within a 3D colonic epithelium using Intestine-Chip technology. Strikingly, infection is significantly increased and minimal bacterial loads are sufficient to invade enterocytes from the apical side and trigger loss of barrier integrity, thereby shifting the paradigm about early stage *Shigella* invasion. *Shigella* quickly colonizes epithelial crypt-like invaginations and demonstrates the essential role of the microenvironment. Furthermore, by modulating the mechanical forces of the microenvironment, we find that peristalsis impacts *Shigella* invasion. Collectively, our results reveal that *Shigella* leverages the intestinal microenvironment by taking advantage of the micro-architecture and mechanical forces to efficiently invade the intestine. This approach will enable molecular and mechanistic interrogation of human restricted enteric pathogens.

Mots clés : Organ-on-Chip - host-pathogen interactions - peristalsis - shear stress - microengineering.

Organs-on-chips, a new paradigm

SP5.3-1

Biological control of *Aspergillus niger* through bacterial oxalotrophy *in-vitro* and in a Lung-on-a-chip microfluidic system

Fabio Palmieri¹ (fabio.palmieri@unine.ch), Aislinn Estoppey¹, Ilona Palmieri¹, Nourine Noormamode¹, Geoffrey L. House², Jamey D. Young³, Saskia Bindschedler¹, Patrick S. G. Chain², Jennifer Foster Harris², Pilar Junier¹

¹Laboratoire de Microbiologie, Université de Neuchâtel, Neuchâtel, Suisse

²Bioscience Division, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, États-Unis

³School of Engineering, Vanderbilt University, Nashville, États-Unis

Introduction and objectives:

The worldwide emergence of (multi)resistant pathogenic fungi, such as *Aspergillus* spp., is a major threat to human health. Aspergillosis, i.e. *Aspergillus* infection, is one of the fungal-related diseases with increased prevalence in the past few years. Some *Aspergillus* species, including *A. niger*, have been associated to a variety of health issues ranging from mild allergies to severe invasive pulmonary infections. In the latter, the formation of crystals composed of oxalic acid has been reported. Oxalic acid is a known pathogenicity factor in fungal phytopathogens, but a direct link between its production and pathogenicity has not been made in the case of human and animal pathogens. Oxalic acid is commonly produced by soil fungi and usually occurs in the form of the mineral calcium oxalate. In soils the sink to this mineral is the consumption by oxalotrophic bacteria. The aim of this study is to assess the biocontrol potential of oxalotrophic bacteria to control the growth of *A. niger in-vitro* and *ex-vivo*.

Material and methods:

Co-cultures confronting *A. niger* with *Pseudomonas putida* (non-oxalotrophic control) and *Cupriavidus oxalaticus* (oxalotrophic) were performed *in-vitro* in media with differing nutrient composition (including liquid lung cells medium). The same confrontations will be done in a tissue-engineered lung model. Oxalic acid concentration, as well as different lung epithelial cell inflammatory parameters, will be measured, and cell injury will be assessed.

Results, discussion and conclusion:

C. oxalaticus controls fungal growth, but this depends on the media composition. Also, the oxalotrophic bacterium controls oxalic acid production, spore germination and filamentous growth when co-cultured with *A. niger* in liquid lung cells medium. When co-cultured on lung cells, *C. oxalaticus* seems to rescue the latter from the infection of *A. niger*. With this study, new insights into the biocontrol potential of oxalotrophic bacteria on *A. niger* are highlighted. This offers a new venue for an alternative and more sustainable therapeutic approach that reduce the risk of resistance selection.

Mots clés : *Aspergillus* spp. - Oxalic acid - Oxalotrophic bacteria - Fungal infection - Lung-on-a-chip.

Organs-on-chips, a new paradigm

SP5.3-2

Colorectal cancer associated-*E. coli* induce the emergence of chemotherapy-resistant stem cell-like phenotype of host cells

Guillaume Dalmasso¹ (guillaume.dalmasso@uca.fr), Antony Cougnoux¹, Tiphanie Fais^{1,2}, Nicolas Barnich¹, Julien Delmas^{1,2}, Richard Bonnet^{1,2}

¹Inserm U1071, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

²Bactériologie, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

Background and aims:

It has been reported that 50 to 60% of human CRC biopsies are colonized by *E. coli* strains harboring the *pks* genomic island (*E. coli/pks*), compared to ~20% of tissues from control patients. This island encodes a polyketide-non-ribosomal-peptide toxin called colibactin, which induces DNA double-strand breaks, chromosome rearrangements in eukaryotic cells and more importantly an increase in colorectal tumorigenesis in diverse CRC mouse models. Since the gut microbiota has been shown to influence chemotherapy response, we aimed to analyze the impact of *E. coli/pks* infection on the efficacy of chemotherapy in colorectal cancer cells.

Methods:

Human colon adenocarcinoma HT-29 cells were infected with the clinical *E. coli/pks* 11G5 strain or its isogenic mutant unable to produce colibactin (11G5Δ*pks*). Chemotherapy resistance was assessed using a MTT assay. Cancer stem cell (CSC) markers were assessed by Western blot, immunofluorescence and flow cytometry. CSC characteristics were assessed by culturing infected HT-29 cells on low-adherence culture plates and soft agar. AOM/DSS-treated mice, a CRC model, were infected or not with the 11G5 strain or 11G5Δ*pks* mutant, and expression of CSC markers in the colon were analyzed by Western blot.

Results and conclusion:

11G5 infection increased resistance of HT-29 cells to chemotherapeutic drugs 5-fluorouracil, irinotecan and oxaliplatin. This was correlated with the ability of 11G5-infected cells to grow in low adherence culture plates and to form colonies in soft agar. Furthermore, 11G5-infected cells expressed high levels of CD133, a marker of colonic CSC, and of the transcription factors required to generate pluripotent cells from differentiated cells OCT3/4 and NANOG. 11G5 infection also increased levels of OCT3/4 and NANOG in colorectal tumors from AOM/DSS-treated mice. Finally, human CRC biopsies colonized by *E. coli/pks* exhibited higher levels of NANOG compared to CRC biopsies colonized by *E. coli* strains that do not harbor the *pks* island. Our results suggested that *E. coli/pks* might increase the severity of CRC by reprogramming intestinal epithelial cells into chemotherapy-resistant CSC-like phenotype.

Mots clés : Chemotherapy resistance - *E. coli* - Cancer stem cell - Colorectal cancer - Colibactin.

Organs-on-chips, a new paradigm

SP5.3-3

Use of the Enteroid Model for Assessing the Persistence of Infectious Human Noroviruses in the Environment

Marion Desdouits¹ (marion.desdouits@ifremer.fr), David Polo¹, Cécile Le Mennec¹, Sofia Strubbia¹, Gabriel Euler¹, Xi-Lei Zeng², Khalil Ettayebi², Mary K. Estes², Soizick Le Guyader¹

¹Laboratoire Santé Environnement Microbiologie, IFREMER, Nantes, France

²Molecular Virology and Microbiology, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA

Noroviruses (NoV) are the main agents of acute gastroenteritis in humans. They are transmitted from person to person and through environmental exposure (surfaces, water, contaminated food). In coastal areas, shellfish raised in contaminated coastal waters concentrate these viruses without being infected themselves. Oysters are the main food involved in viral food poisoning, with significant health and economic consequences. Current detection methods for NoV are based on quantitative PCR, which provides an estimate of the viral concentration but does not assess the risk of infection. NoV were not cultivable until the recent development of a system using human intestinal stem cells cultured in 3 dimensions as enteroids [1]. This model allows observing the replication of genotype II (GII) NoV strains and was used to evaluate the effectiveness of decontamination treatments [2]. The objective of this study was to make this model work in our laboratory and to apply it to the study of the persistence of infectious noroviruses in the coastal environment.

Enteroids derived from the jejunum of a healthy donor, with a secretory phenotype, were maintained in 3D culture, plated as 2-D monolayers and differentiated into mature intestinal cells to be infected with different strains of NoV GI. The replication of strains belonging to the genotypes GI.4, GI.3 and GI.6 was achieved. The repeated use of two control viral strains (GI.3 and GI.4) for more than one year confirmed the reproducibility of the technique. Finally, the infectivity of norovirus GI.3 and GI.4 was monitored for several weeks in seawater, and showed high stability for both genotypes.

The human enteroids model allows reproducible replication of different genotypes of norovirus GI. Of the many strains tested, only a minority actually showed an ability to replicate in this model, as observed by other teams. However, this technique could be applied to study the parameters modulating viral persistence in the environment and contaminated food.

Mots-clés : Norovirus - enteroids - infectivity - persistence - replication.

Références :

1. Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR, et al. 2016. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. *Science* 353(6306):1387-1393.
2. Costantini V, Morantz EK, Browne H, Ettayebi K, Zeng XL, Atmar RL, et al. 2018. Human Norovirus Replication in Human Intestinal Enteroids as Model to Evaluate Virus Inactivation. *Emerg Infect Dis* (8):1453-1464.

CO₂ : de la production anthropique à la fixation par les micro-organismes*(en association avec l'AFEM/FFBiotech)***SP7.1-O1****Le rôle de la pompe biologique marine dans les flux de CO₂**Ludwig Jardillier (ludwig.jardillier@u-psud.fr)*Unité Écologie, Systématique, Évolution, Université Paris-Sud, Orsay, France*

Les microorganismes sont largement distribués dans l'environnement et sont impliqués dans l'ensemble des cycles biogéochimiques. Les communautés microbiennes sont très complexes, caractérisées par de grandes diversités phylogénétiques et métaboliques. Nous connaissons encore très peu la contribution de chaque groupe microbien aux cycles biogéochimiques. Or, il est crucial d'accéder à ces informations non seulement afin de mieux appréhender le fonctionnement actuel des écosystèmes mais également d'évaluer leur évolution dans un contexte de changements globaux. Aussi, quantifier les activités métaboliques *in situ* des différents groupes phylogénétiques constitue l'un des principaux enjeux en écologie microbienne à l'heure actuelle.

Ainsi, le phytoplancton marin contribuerait jusqu'à 50% de la production primaire totale. Or, nous n'avons toujours pas identifié les principaux groupes participant à cette importante fixation de CO₂. De nombreuses études suggèrent que les diatomées seraient l'un des acteurs clefs, mais des études récentes révèlent que des groupes phytoplanctoniques composés de cellules de plus petites tailles mais plus abondantes joueraient également des rôles significatifs. Ceci est notamment le cas de l'Océan Austral qui compte pour 40% du puit de carbon océanique.

Mots clés : phytoplancton - production primaire - pompe biologique - océan - changements globaux.

CO₂ : de la production anthropique à la fixation par les micro-organismes

(en association avec l'AFEM/FFBiotech)

SP7.1-O2

Ingénierie métabolique et ingénierie des réacteurs pour la production de molécules à partir du CO₂

Stéphane Guillouet (stephane.guillouet@insa-toulouse.fr)

LISBP, INSA Toulouse, Toulouse, France

Une croissance durable incluant l'utilisation plus efficace des ressources naturelles et plus économiquement compétitive est une des priorités des prochaines années au niveau national et européen. Dans ce contexte, changement climatique et approvisionnement en énergie durable sont des défis majeurs. Un des objectifs ambitieux est la réduction des émissions gaz à effet de serre tels que le dioxyde de Carbone (CO₂) et/ou sa réutilisation dans des filières de production. Innovation et technologie durable sont donc indispensables pour atteindre cette économie sobre en carbone, dite « décarbonée ». Une réutilisation du CO₂ dans une filière de production de molécules organiques pour des applications en énergie, chimie ou alimentaire peut être envisagée par la mise en oeuvre de microorganismes. Les bactéries lithoautotrophes sont capables de croître et dans certaines conditions de produire des molécules d'intérêt à partir des substrats gazeux CO₂ et H₂. Parmi celles-ci la bactérie *Cupriavidus necator* peut pousser sur mélange gazeux CO₂, H₂ et Air et naturellement accumuler des polyhydroxyalcanoates, polymères ayant des propriétés plastiques intéressantes. Le développement des outils génétiques sur cette bactérie ont permis ces dernières années d'obtenir des souches productrices de molécules à usage énergétique et/ou de la chimie.

Nous présenterons ici les avancées réalisées au laboratoire sur l'ingénierie des souches de *C. necator* et l'ingénierie associée sur les bioréacteurs pour la production de différentes molécules d'intérêt. Les performances atteintes apportent la preuve de concept qu'il est possible de produire de molécules d'intérêt à partir de CO₂ et permet d'envisager à l'avenir le développement de bioprocédés à partir de CO₂.

Mots clés : Dioxide de carbone - *Cupriavidus* - Fermentation - Génie métabolique.

CO₂ : de la production anthropique à la fixation par les micro-organismes

(en association avec l'AFEM/FFBiotech)

SP7.1-O3

Produce methane and biomolecules of interest from carbon dioxide

Etienne Paul (paul@insa-toulouse.fr), Mathieu Sperandio, Yan Rafrafi, Xavier Lefebvre, Evrard Mengelle, Simon Dubos, Claire Dumas

TBI, Université de Toulouse, CNRS, INRA, Toulouse, France

While lot of researches are pursuing the goal to valorize organic carbon, i.e. plant biomass, an alternative may be to use or re-use carbon dioxide in the future. Indeed, rather than relying on photosynthesis to capture CO₂, why not explore the direct uptake of CO₂ by micro-organisms?

Many species of microorganisms (bacteria, archae) have abilities to grow through the transformation of carbon dioxide into organic molecules. These microbial metabolisms have allowed the fixation of CO₂ in the early stages of life, and could be reused in what is now called Anthropocene.

Biological methanation consists in producing methane by hydrogenation of CO₂ from microbial populations, hydrogenophilic methanogenic archaea. There is a symbiosis between bacteria and archaea, the former producing acetic acid from H₂ and CO₂ and the latter producing methane from this acetic acid and CO₂ remaining. (Lecker et al., 2017)

The identified bottlenecks of the process are on the one hand, the regular nutrient requirements necessary for the growth and activity of the microorganisms and on the other hand the low hydrogen transfer rates (dissolution of hydrogen in the water to allow the bacteria to consume it) that strongly impact the overall process yields. (Angelidaki et al., 2018)

The scientific work performed in LISBP since 2016 allows the identification of several key success factors in the implementation of a biological methanation process: biodiversity, pH, nutrients, process's tolerance to on / off cycles.

The experiments have also demonstrated the relationship between productivity and CH₄ content in the gas produced: the higher the productivity, the lower is the CH₄ content in the gas produced. Novel contactor systems and optimized reactor architectures must be defined to overcome this limitation. (Berger et al., 2017)

The major outcome of the research program enabled the partners to acquire biological methanation tools (pilot installation designed movable for future on-site implementations) and process management expertise, to test novel process configurations and lead to the design of an intensive solution for CH₄ production.

Mots clés : Biological methanation - CO₂ utilization - Microbial consortia - Gas/ Liquid mass transfer.

Références :

1. Angelidaki, I., Treu, L., Tsapekos, P., Luo, G., Campanaro, S., Wenzel, H., Kougias, P.G., 2018. Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives. *Biotechnology Advances* 36, 452–466. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.011>.
2. Angelidaki, I., Treu, L., Tsapekos, P., Luo, G., Campanaro, S., Wenzel, H., Kougias, P.G., 2018. Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives. *Biotechnology Advances* 36, 452–466. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.011> Berger, S., Couturier, C., Métivier, S., Dumas, C., Lefebvre, X., Sperandio, M., Hebrard, G., Guerré.
3. Lecker, B., Illi, L., Lemmer, A., Oechsner, H., 2017. Biological hydrogen methanation – A review. *Bioresource Technology* 245, 1220–1228. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.176>.

CO₂ : de la production anthropique à la fixation par les micro-organismes

(en association avec l'AFEM/FFBiotech)

SP7.1-1

Des bactéries induisant la précipitation du carbonate de calcium au service de la consolidation des structures côtières

Julia Vincent¹ (julia.vincent1@univ-lr.fr), René Sabot², Isabelle Lanneluc¹, Philippe Refait², Marc Jeannin², Sophie Sablé¹

¹LIENSs UMR 7266 CNRS, Faculté des Sciences et Techniques, La Rochelle, France

²LaSIE UMR 7356 CNRS, Faculté des Sciences et Techniques, La Rochelle, France

Introduction et objectifs :

Dans une volonté de protection des zones côtières et des ouvrages du littoral, un procédé innovant de formation d'un éco-matériau par électrochimie a été développé afin de lutter efficacement contre l'érosion. Ce processus favorise la précipitation de dépôts calcomagnésiens sur une structure métallique placée sous polarisation cathodique. Ces phases minérales servent alors de liant entre sédiments, coquillages, galets, et conduisent à des structures solides très résistantes renforçant les ouvrages maritimes. La polarisation cathodique induisant un environnement très alcalin et le milieu étant riche en calcium, carbonate et magnésium, va-t-on favoriser une colonisation microbienne spécifique pouvant participer à la formation du dépôt calcomagnésien? Certaines bactéries sont connues pour réaliser la biominéralisation par des voies métaboliques impliquant notamment l'uréase et l'anhydrase carbonique qui favorisent une précipitation minérale par alcalinisation locale de leur environnement. Ce phénomène est actuellement étudié dans la réparation des matériaux cimentaires de construction et la stabilisation des sols.

Notre objectif est de concevoir des éco-matériaux imitant les structures rocheuses naturelles et d'en accélérer leur cinétique de croissance en couplant les mécanismes de biominéralisation aux processus électrochimiques.

Résultats, discussion et conclusion :

Nous avons mis en évidence, en condition aérobie, 14 souches bactériennes marines qui ont la capacité de biominéraliser. Celles-ci ont été isolées à partir de dépôts calcomagnésiens formés par polarisation cathodique en milieu naturel, écosystème encore non exploré à ce jour au niveau de leur flore microbienne. L'analyse par microspectroscopie Raman de leurs produits minéralisés a montré leur capacité commune à produire du carbonate de calcium (CaCO₃) de type calcite. Chaque souche a été caractérisée au niveau des voies métaboliques impliquées dans la biominéralisation et identifiée par séquençage de l'ADNr16S.

Ces résultats ont montré qu'une communauté de bactéries hétérotrophes, favorisant la précipitation de CaCO₃, a colonisé les dépôts calcomagnésiens formés par polarisation cathodique. De plus, l'environnement atypique créé par la protection cathodique ne semble pas empêcher la colonisation microbienne par des flores spécifiques. Un montage expérimental constitué de colonnes sableusesensemencées par ces bactéries marines a également été mis au point afin d'évaluer leur potentiel de cimentation via le CaCO₃ formé.

Mots clés : Bactéries marines - Biominéralisation - Polarisation cathodique - Dépôts calco-magnésiens.

CO₂ : de la production anthropique à la fixation par les micro-organismes*(en association avec l'AFEM/FFBiotech)***SP7.1-2****Les exométabolites de microorganismes photosynthétiques produits par bioconversion du CO₂**

Dominique Grizeau¹ (dominique.grizeau@univ-nantes.fr), Jian Jin², Wenli Kang², Lan-Anh Bui², Catherine Dupré²

¹GEPEA UMR 6144 CNRS, Polytech Nantes, Saint-Nazaire, France

²GEPEA UMR 6144 CNRS, Université Nantes, Saint-Nazaire, France

Introduction et objectifs :

La culture de microorganismes photosynthétiques donne la possibilité de convertir du carbone inorganique en métabolites d'intérêt industriel. Toutefois un des principaux facteurs limitant la production de biomasse en photo-autotrophie est le transfert de photons dans les cultures denses. Cette limitation est en partie levée via l'utilisation de photobioréacteurs en couches minces. Une autre solution est de privilégier l'exploitation d'espèces excréant des métabolites en visant la séparation de la production de biomasse de celle de la molécule extracellulaire. L'intérêt pour l'application de ce type de bioprocédé aux microalgues et cyanobactéries est relativement récent. Les exométabolites d'intérêt industriels incluent des polysaccharides, hydrocarbures ou pigments naturellement excrétés par certaines espèces. L'objectif est de présenter deux travaux récents sur la production d'exo-métabolites en photoautotrophie.

Matériels et méthodes :

Les souches sont une cyanobactérie et une microalgue. Elles sont cultivées sur milieux synthétiques en photobioréacteurs en mode batch ou continu. Les concentrations en exométabolites sont déterminées par dosages colorimétriques et chromatographiques, GC-FID et GC-MS.

Résultats, discussion et conclusion :

Une production d'azote ammoniacal récupéré par stripping gazeux a été obtenue à partir d'une souche de cyanobactérie diazotrophe. Les conditions d'incubation en photobioréacteurs permettent de dissocier la production de biomasse de celle de l'azote, l'effluent gazeux alimentant une autre culture de microalgues. Une production extracellulaire d'hydrocarbures a été optimisée. Naturellement la production de ces métabolites est couplée à celle de la biomasse, sans dépendre d'une limitation azotée, comme l'accumulation de triglycérides. Des procédés de bio-extraction des hydrocarbures sans perte de viabilité de la biomasse sont actuellement explorés en vue d'une exploitation en photobioréacteurs à recyclage de biomasse.

Les avantages et les contraintes associés à la production d'exo-métabolites sont présentés en relation avec les procédés de cultures cellulaires et de récupération des molécules d'intérêt.

Mots clés : exométabolites - microalgues - photobioréacteurs - recyclage de biomasse - stripping gazeux.

Micro-organismes en interaction avec les plantes**SP6.2-O1****The metabolic cost for virulence in the plant pathogens *Xylella fastidiosa* and *Ralstonia solanacearum***

Stephane Genin¹ (stephane.genin@inra.fr), Léo Gerlin¹, Rémi Peyraud², Ludovic Cottret¹, Sophie Cesbron³, Géraldine Taghouti³, Marie-Agnès Jacques³, Caroline Baroukh¹

¹LIPM (INRA-CNRS), Castanet-Tolosan, France

²iMEAN, Toulouse, France

³INRA, Angers, France

Both *X. fastidiosa* and *R. solanacearum* are important threats to plant health worldwide, causing wilting disease on a wide range of agricultural crops and trees. During the last years, *X. fastidiosa* caused a critical epidemic affecting olive trees in Italy and is now an emerging disease in Southern Europe.

Beyond the necessity to collect resources during infection, pathogens face a resource allocation dilemma: they have to use nutritional resources to proliferate inside the host, and in the other hand, they need to mobilize matter and energy for the production of essential virulence factors. We performed an analysis of the metabolic capabilities of *X. fastidiosa* and *R. solanacearum* through the reconstruction of genome-scale metabolic models.

Modeling studies using the metabolic models, combined with experimental work, provided evidence of resource allocation trade-off mechanism in the plant pathogen *R. solanacearum* and demonstrate that such a trade-off constrains antagonistically bacterial proliferation and virulence in *R. solanacearum*. Our study also revealed that fastidious growth of *X. fastidiosa* can be explained by a combination of metabolic specificities as the absence of highly efficient reactions or a global inefficiency upon virulence factor production.

Micro-organismes en interaction avec les plantes

SP6.2-1

Caractérisation de bactéries isolées de nodules racinaires du trèfle bitumineux *Bituminaria bituminosa* L.

Omar Zennouhi¹ (omar.zennouhi@gmail.com), Abderarak Rfaki², Mohamed El Mderssa¹, [Jamal Ibijbijen](#)¹, Laila Nassiri¹

¹ Université Moulay Ismail, Département de Biologie, Meknés, Maroc

² UATRS, CNRST, Rabat, Maroc

Introduction et objectifs :

Au Maroc, la dégradation des terres de parcours est de plus en plus accentuée, entraînant une perte de biomasse et une altération de la biodiversité des espèces végétales. Aussi, le présent travail consiste en la caractérisation de bactéries solubilisatrices de phosphate indisponible, isolées de nodules de *Bituminaria bituminosa*. Cette légumineuse arbustive et multi-usages est choisie pour la réhabilitation des écosystèmes sylvopastoraux au Moyen Atlas marocain ; les bactéries ainsi isolées serviraient comme biofertilisant aidant l'installation de la plante sur ces terres dégradées.

Matériel et méthodes :

Au total, cent-vingt isolats ont été sélectionnés sur la base de leur capacité à solubiliser le phosphate indisponible dans le milieu NBRIP (National Botanical Research Institut's phosphate) sur la base d'un indice de solubilisation supérieur à 2 ; le P-solubilisé a été quantifié par la méthode de Murphy et Riley (1962) [1]. En outre, la production de l'acide- β -indolacétique (AIA) et des sidérophores par les isolats bactériens a été investie.

Résultats, discussion et conclusion :

Vingt-quatre isolats possèdent un haut potentiel de solubilisation du phosphate inorganique insoluble. En milieu solide, l'isolat le plus performant est S29 avec un indice de solubilisation « IS » égal à 5.24 ; en milieu liquide par contre, c'est l'isolat S28 est le meilleur quant à la quantité de P-solubilisé, soit 227.27 μ g/ml. Par ailleurs, tous les isolats retenus sont capables de produire l'AIA et des sidérophores. Ainsi, ces isolats dotés à la fois d'une capacité à solubiliser le phosphate et d'une aptitude à promouvoir la croissance des plantes, serait un inoculant potentiel pour assister l'installation de *B.bituminosa* en vue de restaurer les terrains sylvopastoraux dégradés.

Mots clés : *Bituminaria bituminosa* - Caractérisation bactérienne - biofertilisant.

Références :

1. Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27, 31-36.

Micro-organismes en interaction avec les plantes

SP6.2-2

Diversité et mobilité des éléments conjugatifs au sein d'une population de *Streptomyces* issue d'un micro-habitat rhizosphérique

Caroline Choufa¹ (caroline.choufa@univ-lorraine.fr), Abdoul Razak Tidjani¹, Michiel Vos², Cyril Bontemps¹, Pierre Leblond¹

¹UMR_A INRA-UL 1128/DynAMic, Université de Lorraine, INRA, Vandœuvre-lès-Nancy, France

²European Centre Env and Human health, Université d'Exeter, Exeter, Royaume-Uni

Introduction et objectifs :

Les *Streptomyces* sont des bactéries ubiquistes du sol et de la rhizosphère où elles peuvent stimuler la croissance et favoriser la santé de la plante. Nos études de génomique comparative montrent que les souches d'une population rhizosphérique de *Streptomyces* (isolats quasi-clonaux et isolés à micro-échelle) présentent un génome variable (génome accessoire) important formant de nombreux îlots génomiques et points chauds d'insertion/délétions (indels). Une proportion importante de ces indels est associée à des éléments intégratifs et conjugatifs spécifiques des actinomycètes (AICE). Le transfert de ces éléments s'accompagne fréquemment de la mobilisation de marqueurs chromosomiques.

Les objectifs de cette étude sont de i) caractériser les AICE présents au sein d'une population de *Streptomyces*, ii) de cartographier les transferts pouvant s'opérer entre les différentes souches et iii) d'estimer l'intensité de ces flux et leur impact sur la diversification génétique de la population.

Matériels et méthodes :

Nous disposons de la séquence génomique complète de 11 *Streptomyces* issus d'une population. L'identification et la distribution des AICE a été réalisée *in silico*. Le potentiel de transfert d'AICE entre souches est réalisé par des expériences de conjugaison sur boîte de Petri permettant la visualisation de « pocks » qui correspondent à un retard de croissance de la souche réceptrice lors de l'acquisition d'un AICE.

Résultats, discussion et conclusion :

L'analyse génomique a permis d'identifier 25 AICE différents au sein de la population. Chaque souche en a en moyenne 5 et aucun n'est présent chez toutes les souches indiquant une prévalence et une dynamique importantes des AICE au sein de notre population. Sur les 121 couples de conjugaison possibles, le transfert d'AICE a pu être révélé pour 17 d'entre eux et parfois à haute fréquence (100%). L'influence de la rhizosphère sur ces transferts sera également estimée en présence de plantes ou de métabolites végétaux. L'analyse du génome de transconjugants (en cours) permettra d'estimer l'impact du transfert d'AICE sur le transfert concomitant de marqueurs chromosomiques.

Ce projet apportera une meilleure compréhension de la dynamique du génome des *Streptomyces* dans un contexte écologique et notamment le rôle de la plante sur les mécanismes impliqués.

Mots clés : *Streptomyces* - éléments intégratifs et conjugatifs - rhizosphère - population bactérienne - évolution rapide.

Micro-organismes en interaction avec les plantes

SP6.2-3

Deciphering bacterial interactions in forest soil micro-habitats and their impact on tree development

Milena Gonzalo^{1,2} (milena.gonzalo@univ-lorraine.fr), Aurélie Deveau¹, Bertrand Aigle²

¹UMR 1136 UL-INRA IAM, Université de Lorraine, INRA, Champenoux, France

²UMR 1128 UL-INRA Dynamique des génomes, Université de Lorraine, INRA, Vandœuvre-lès-Nancy, France

Introduction and objectives:

The rhizosphere and the ectomycorrhizosphere are soil compartments that are substantially colonized by fungi and bacteria [1]. These microorganisms are constantly interacting with each other and with plant roots [2]. While our understanding of the molecular mechanisms of biotic associations improved, little is known on how microorganisms interact and the consequences of these interactions on the microbial communities and plant development. Therefore, we would like to study bacterial interactions on a molecular level with the aim to better understand their impact on plants. We hypothesize that in a grain of soil, bacteria are likely to share the same abiotic and biotic conditions and to have been interacting prior their isolation.

Materials and methods:

Soil grains were collected either in close contact of oak roots (with and without visible ectomycorrhizal fungi) and from bulk soil. Cultivable bacteria (75 isolates) were then characterized based on the 16S rRNA sequence and global microbial community was defined using a DNA metabarcoding approach. We also determined the functional characteristics of the cultivable bacterial collection through several bioactivity assays such as carbon, nitrogen and phosphorous acquisition, iron sequestration, and auxin and antimicrobials production. Based on these traits, a subset of the bacterial collection was selected to analyze single, pairwise and tripartite interactions, in presence and absence of *Populus tremula* x *P. alba* 717-1B4 (Poplar) to follow molecular interactions.

Results, discussion and conclusions:

Pairwise bacterial interactions showed there are few bacteria interacting, which most of them are inhibitory and most inhibitions are weak. Pairwise bacterium-poplar interaction showed that the presence of bacteria only affects root architecture. Simultaneously, poplar changes bacterial colonies size which might involve bacterial motility, dispersal and/or growth. Further experiments aim to characterize the signaling molecules exchanged through the interactions and the genes encoding these compounds combining different approaches (e.g. mass spectrometry, RNA sequencing).

Mots clés : bacterial interactions - rhizosphere - ectomycorrhizosphere - Streptomyces.

Références :

1. Martin F, Uroz S, Barker DG. 2017. Ancestral alliances: Plant mutualistic symbioses with fungi and bacteria. *Science*. 356.
2. Durán P, Thiergart T, Garrido-Oter R et al. 2018. Microbial interkingdom interactions in roots promote *Arabidopsis* survival. *Cell*. 175:973–983.e14.

Micro-organismes en interaction avec les plantes

SP6.2-4

La communauté microbienne associée aux graines de pois (*Pisum sativum*) de différentes origines géographiques

Valentine Chartrel¹ (valentine.chartrel@inra.fr), Pascal Bonnarme¹, Sophie Huchette², Pierre Lanos², Eric Dugat-Bony¹, Françoise Irlinger¹

¹GMPA, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, Thiverval Grignon, France

²DRMP, ROQUETTE Frères, Lestrem, France

Introduction et objectifs :

Le pois est raffiné par les industriels pour produire des protéines, de l'amidon et des fibres équilibrées. Afin d'assurer la sécurité alimentaire, les fabricants souhaitent contrôler les microorganismes dans leur process et dans les produits finis. Aujourd'hui, les industriels s'interrogent sur les consortiums des graines pour comprendre l'écologie des systèmes de production. Les graines abritent un microbiote complexe, modulé par des facteurs biotiques et abiotiques. Le but de cette étude est donc de caractériser les communautés microbiennes associées aux graines de pois de différentes origines, reflétant ces variations. Les résultats ont permis d'établir un profil microbien des graines de pois et d'analyser si l'origine géographique a une influence sur cette structure.

Matériels et méthodes :

Les graines de pois ont été récoltées dans six coopératives, en France, au Canada et en Suède. L'ADN a été extrait de la surface des graines après trempage pendant 96 heures à 4°C. La caractérisation de la structure de la communauté microbienne a été évaluée par séquençage à haut débit des amplicons à l'aide de deux marqueurs moléculaires : la région ITS2 pour les eucaryotes et les régions V3-V4 du gène 16S rRNA pour les procaryotes. Des analyses de données ont été effectuées à l'aide de FROGS donnant des informations sur la diversité microbienne présente dans chaque échantillon (α -diversité). La comparaison des profils phylogénétiques entre les différents échantillons (β -diversité) a été réalisée afin d'évaluer l'impact de l'origine sur la structure du microbiote des semences.

Résultats, discussion et conclusion :

Au total, 825 110 séquences procaryotes et 110 703 séquences eucaryotes ont été analysées. Concernant la diversité bactérienne, le pois était dominé par des Actinobactéries et des Protéobactéries avec *Cellulosimicrobium sp.* comme espèce abondante. Une coopérative française était dominée par des Gammaprotéobactéries. La richesse fongique était plus faible et les graines étaient dominées par *Ascomyceta*. L'analyse de β -diversité montrait que la structure microbienne des graines variait selon l'origine géographique. L'espèce dominante révélait l'existence d'une structure microbienne centrale du pois. La différence observée à partir d'échantillons provenant d'une coopérative française suggère cependant que des facteurs externes favoriseraient l'émergence de populations à croissance rapide appartenant aux Protéobactéries.

Mots clés : Graine de pois - Alpha-diversité - Beta-diversité - Procaryotes - Eucaryotes.

Bactéries sporulées pathogènes et d'intérêt technologique

SP2.4-O1

Le groupe *Bacillus cereus* : du biocontrôle aux agents pathogènes humains

Christophe Nguyen-the (christophe.nguyen-the@inra.fr)

UMR408 SQPOV, INRA, Avignon, France

Le groupe *Bacillus cereus* inclut des espèces pathogènes de l'homme comme *Bacillus cereus* et une espèce pathogène d'insectes *Bacillus thuringiensis*, largement utilisée comme bio-insecticide en agriculture. Ces deux espèces ont été définies historiquement sur leurs propriétés phénotypiques, mais forment en réalité une même entité génétique. La virulence contre les insectes, caractéristique de *B. thuringiensis*, est portée par un plasmide. La distinction d'espèces phénotypiques ne correspondant pas à la structure génétique des populations n'est pas exceptionnelle en bactériologie, mais elle recouvre ici une dualité bactérie pathogène/bactérie alliée de l'homme avec une séparation restée longtemps étanche entre ces deux visions de la même espèce. *B. cereus* est un pathogène transmis par les aliments, pour une large part d'aliments d'origine végétale, tandis que sous sa forme *B. thuringiensis* il est appliquée volontairement aux cultures pour les protéger. Ainsi la question du risque pour la santé du consommateur des denrées traitées durant leur production au champ par *B. thuringiensis* est particulièrement pertinente. Elle a tout d'abord été abordée lors de recherches sur la situation phylogénétique de deux espèces, sur la distribution et l'expression des facteurs de virulence contribuant aux gastroentérites humaines, sur la présence de *B. thuringiensis* dans les aliments et son implication dans des toxi-infections alimentaires. Plus récemment, l'attention des autorités sanitaires en Europe s'est portée sur *B. thuringiensis*. Une toxi-infection attribuée à *B. cereus* a finalement été identifiée comme causée par *B. thuringiensis* et un lot d'aliment retiré du marché car dépassant la seuil d'alerte pour *B. cereus* s'est révélé être contaminé par *B. thuringiensis*. Les agences sanitaires en France (Anses) et en Europe (EFSA) ont été sollicitées et ont rendu leurs avis en 2013 et 2016, concluant à un ensemble de connaissances disponibles insuffisant pour conclure quant au risque posé par l'utilisation de *B. thuringiensis* pour la protection des cultures alimentaires. Les éléments constituant le risque de toxi-infection par *B. thuringiensis* seront présentés, ainsi que les questions de recherche qu'il pose pour mieux l'apprécier et le contrôler.

Mots clés : *Bacillus cereus* - *Bacillus thuringiensis* - Toxi-infection alimentaire - Biocontrôle - Risque.

Bactéries sporulées pathogènes et d'intérêt technologique

SP2.4-1

Characterization of *Bacillus thuringiensis* isolates associated to Foodborne Outbreaks in France from 2007 to 2017

Mathilde Bonis¹ (mathilde.bonis@anses.fr), Arnaud Felten², Sylvie Pairaud¹, Angélie Dijoux¹, Ludovic Mallet², Nicolas Radomski², Michel-Yves Mistou², Olivier Firmesse¹, Jacques-Antoine Hennekinne¹, Sabine Herbin¹

¹Unité SBCL, LSAI, ANSES, Maisons-Alfort, France

²Mission GAMeR, LSAI, ANSES, Maisons-Alfort, France

The Gram-positive bacterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) is well known for its pesticidal activity, through the release of toxic crystals made of Cry/Cyt proteins. This property has made of it the most used bacterial pesticide, in particular for the fight against Lepidoptera and Coleoptera on vegetable crops. In spite of its long-standing use, recent works have highlighted its putative involvement in human illnesses such as food-borne outbreaks (FBO), as well as bacteria belonging to the same *Bacillus cereus sensu lato* (Bc) group. Hence, as recommended by the European Food Safety Agency¹, we characterized a collection of Bc strains isolated from 250 outbreaks occurred in France between 2007 and 2017, with the aim to evaluate the rate of Bt isolates and to characterize them. Our study revealed the presence of Bt isolates in the context of 49 outbreaks over 250 (20%). More than 50% of these Bt were isolated in presence of raw vegetables and particularly in presence of tomatoes (48 %), strengthening the hypothesis of an agricultural origin. Moreover, based on complementary approaches (from phenotypic characterization to WGS tools), the analysis highlighted that most of FBO-Bt were genetically close to pesticidal strains from subspecies *aizawai* and *kurstaki*, with which they share virulence markers, such as the enterotoxins Nhe, Hbl and CytK2. In addition, no other putative pathogen could be detected with a numeration rate higher than the Bt one for 26 FBO, making of Bt a putative causative agent. In conclusion, this study suggested elements in favor of the possible involvement of commercial Bt products in FBO in France. This encourages to follow up the investigations on such products, in particular to clarify their putative pathogenicity for non-targeted organisms and to provide some tools for their traceability in food chain.

Mots clés : *Bacillus thuringiensis* - foodborne outbreak - biopesticide.

Références :

1. EFSA. 2016. 'Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs', EFSA Journal: 1-93.

Bactéries sporulées pathogènes et d'intérêt technologique**SP2.4-2****Galactosylation of the Secondary Cell Wall Polysaccharide of *Bacillus anthracis* and Its Contribution to Anthrax Pathogenesis.**

Alice Chateau^{1,2} (alice.chateau@inra.fr), Dominique Missiakas², Olaf Schneewind²

¹UMR408 SQPOV, Avignon Université - INRA, Avignon, France

²Microbiology department, University of Chicago, Chicago, États-Unis

Bacillus anthracis, the causative agent of anthrax disease, elaborates a secondary cell wall polysaccharide (SCWP) that is essential for bacterial growth and cell division. *B. anthracis* SCWP is comprised of trisaccharide repeats with the structure, [\rightarrow 4)- β -ManNAc-(1 \rightarrow 4)- β -GlcNAc(O3- α -Gal)-(1 \rightarrow 6)- α -GlcNAc(O3- α -Gal, O4- β -Gal)-(1 \rightarrow)] [1]. We identified the enzymes required for incorporation of Galactose in the SCWP. The expression of *galE1*, encoding a UDP-glucose 4-epimerase necessary for the synthesis of UDP-galactose, is required for *B. anthracis* SCWP galactosylation. BAS5280 a plasma membrane associated protein is responsible for the β 1,4 galactosylation of the SCWP. Sequence analysis revealed a DxD motif, and mutagenesis showed the importance of this motif in the activity of BAS5280. We demonstrate *B. anthracis* utilizes a membrane associated three component glycosylation system (a charging enzyme, a putative flippase, and a glycosyltransferase) to decorate SCWP with α -Gal, suggesting that α -galactosylation of SCWP takes place on the surface of *B. anthracis*. The absence of SCWP galactosylation diminishes the capsulation of *B. anthracis* with poly-d- γ -glutamic acid (PDGA) and causes a reduction in bacterial virulence. These data suggest that SCWP galactosylation is required for the physiologic assembly of the *B. anthracis* cell wall envelope and for the pathogenesis of anthrax disease.

Mots clés : *Bacillus anthracis* - secondary cell wall polysaccharide - GalE1 - capsule - galactosylation.

Références :

1. Choudhury B, Leoff C, Saile E, Wilkins P, Quinn CP, Kannenberg EL, Carlson RW. 2006. The structure of the major cell wall polysaccharide of *Bacillus anthracis* is species-specific. *J Biol Chem* 281:27932-27941.

Bactéries sporulées pathogènes et d'intérêt technologique

SP2.4-3

Dual strategy for mapping the *Bacillus cereus* thiol proteome

Fella Hamitouche (fella.hamitouche@gmail.com), Philippe Schmitt, Catherine Duport, Luc Dedieu

UMR408 SQPOV, INRA, Avignon Université, Avignon, France

Bacillus cereus is a foodborne pathogen able to grow under various oxygenation conditions, such as those encountered in foods and the human intestine. Under anaerobiosis, *B. cereus* growth is coupled with a decrease in extracellular redox potential [1]. We hypothesized that this redox potential decrease is linked to the redox state of the thiol proteome, i.e. the set of proteins with reversibly modified thiols [2]. The analysis of thiol proteome is a challenge. Here, we present a dual strategy for the differential trapping of *B. cereus* thiols.

Cells were collected at early, mid- and late exponential growth phase from regulated batch cultures and then, treated with TCA to quench thiol-disulfide exchange reactions. Cysteines were labelled using two strategies and detected by shotgun proteomics [3]. In the first one, thiols were alkylated with iodoacetamide, then reversible thiol modifications were reduced with DTT, and alkylated with N-Ethylmaleimide. In the second strategy, the order of alkylating agents has been reversed.

At the protein level, our results identified nearly 1000 proteins in each strategy. We analyzed the modified cysteines detected during each growth phase. In early exponential growth phase, the first and the second methods detected 167 and 366 unique cysteine containing peptides corresponding to 121 and 256 proteins, respectively. In mid-exponential growth phase, the first labelling revealed 161 unique cysteine peptides representing 121 modified proteins while the second labelling detected 260 cysteine peptides corresponding to 170 proteins. In late exponential growth phase, the two strategies identified around 200 unique cysteine peptides corresponding to 150 proteins.

Our results suggest that during the growth of *Bacillus cereus* the redox state of the thiol proteome decreases according to the extracellular redox potential.

We have developed a dual cysteine labeling approach to determine the redox state of *B. cereus* protein thiols during anoxic growth. Applicability and robustness of this technique were demonstrated despite the low number of Cys residues in *B. cereus* proteome. This work is the first to specifically target the thiol proteome of *B. cereus*. In addition, we used a novel model of the broadly applied differential cysteine labeling approach.

Mots clés : *B. cereus* - Redox - thiol- proteome - cysteine residus.

Références :

1. Madeira JP, Alpha-Bazin, B, et al. 2015. Time dynamics of the *Bacillus cereus* exoproteome are shaped by cellular oxidation. *Frontiers in Microbiology* 6.
2. Chiappetta G, Ndiaye S, et al. 2010. Proteome screens for cys residues oxidation: the redoxome. *Methods in Enzymology*, Vol 473: Thiol Redox Transitions in Cell Signaling, Pt A: Chemistry and Biochemistry of Low Molecular Weight and Protein Thiols. E. Cadenas and L. Packer. 473: 199-216.
3. Armengaud J. 2013 *Microbiology and proteomics, getting the best of both worlds!* *Environ. Microbiol.* 15, 12-23.

Histoire de la Microbiologie

SP8-O1

Qui a tué Napoléon ? *Helicobacter pylori* ?

Christophe Burucoa (christophe.burucoa@chu-poitiers.fr)

CHU, Poitiers, France

Résumé non parvenu.

Histoire de la Microbiologie

SP8-O2

Henry Toussaint précurseur de Pasteur dans sa lutte contre la maladie du charbon

Alain Le Coustumier (alecoustumier@ch-tarbes-vic.fr)

CHIC de Bigorre, Tarbes, France

Résumé non parvenu.

Histoire de la Microbiologie

SP8-O3

Des premières cultures sur pomme de terre au Maldi-TOF : une histoire du diagnostic bactériologique

Jean Freney (freney.jean@gmail.com)

Professeuse émérite, Université Claude Bernard Lyon I, Lyon, France

Il y a tout juste 200 ans, Bartolomeo Bizzio (1791-1862) fut le premier à cultiver une bactérie, *Serratia marcescens*, et en découvrir la vie en colonie lors de l'épisode de la « polenta sanglante » qui frappa la commune de Legnaro en Vénétie. Des contributions importantes ont ensuite été apportées dans la seconde partie du siècle à la mise au point de milieux solides permettant l'isolement des bactéries pathogènes (pomme de terre, tranches de tomates, ...) ainsi que les apports majeurs de l'équipe de Robert Koch (utilisation de l'agar, mise au point de la boîte de Petri, ...). L'amélioration des techniques de coloration et des méthodes de culture ont ainsi permis la caractérisation de la plupart des agents responsables des grandes infections bactériennes (tuberculose, peste, choléra, typhoïde, ...) avant 1900. Durant la majeure partie du XXe siècle, les méthodes utilisées au sein du laboratoire de bactériologie clinique étaient héritées de celles développées par les « pères fondateurs » de la microbiologie comme Louis Pasteur, Robert Koch et leurs élèves. Elles consistaient à isoler des agents pathogènes sur des milieux de culture, puis à les caractériser par des méthodes biochimiques ou immunologiques et enfin à déterminer leur sensibilité aux antibiotiques par le « classique » antibiogramme. Ces diagnostics nécessitaient souvent plusieurs jours pour pouvoir être réalisés. De ce fait, les techniques de microbiologie médicale sont longtemps apparues comme « manuelles » et peu adaptables à l'automatisation contrairement à celles d'autres disciplines comme l'hématologie ou la biochimie.

Cependant, au cours des deux dernières décennies, la bactériologie médicale s'est orientée dans plusieurs directions : miniaturisation des tests, utilisation des méthodes moléculaires (amplification génique, séquençage, ...), spectrométrie de masse de type MALDI-TOF et enfin développement de l'automatisation.

Les laboratoires de bactériologie d'aujourd'hui semblent déjà très différents de ceux des années 1980-1990, mais qu'en sera-t-il dans dix ou vingt ans ? Il est toujours extrêmement délicat de prévoir l'avenir dans le domaine de la biologie et, en particulier, de la microbiologie. Néanmoins, il est probable que l'on se dirige vers une automatisation complète du diagnostic bactériologique dans lequel la robotique, l'analyse automatisée d'imagerie des géloses avec détection précoce de la culture et l'intelligence artificielle auront une place prépondérante.

Modelling clone diffusion and evolution from genomic and epidemiological data

SP1.7-O1

When evolutionary theory matters for predictions, and when it doesn't

Christophe Fraser¹ (christophe.fraser@bdi.ox.ac.uk), Francois Blanquart², Marc Lipsitch³, Sonja Lehtinen⁴

¹Big Data Institute, University of Oxford, Oxford, UK

²College de France, Paris, France

³Harvard School of Public Health, Boston, USA

⁴ETH Zurich, Zurich, Switzerland

Evolutionary models explain the observed distribution of strains, including antibiotic sensitive and resistant strains, as the outcome of competition in the face of different selection pressures. The use of validated evolutionary models should lead to more robust and credible predictions of the long-term future of resistance, and of interventions to limit its spread.

Many models predict that resistant bacterial strains are on a trajectory to win this competition, and that the selection pressure (antibiotic consumption rate) is only important in terms of determining the pace of this selective sweep. These predictions are challenged by observations of long-term dynamic co-existence of sensitive and resistant strains. As a result, new models are required.

Here, in the context of *Streptococcus pneumoniae*, we present several new models that address this fundamental mismatch between theory and observation. These new models include better representation of host population structure and frequency dependent competition between strains. In short, they consider antibiotic selection as one of several strong and interacting selective forces that shape the bacterial populations.

These models make new predictions on the frequency of multidrug resistance, that we also test.

These new models predict that, for short term predictions, it is perfectly acceptable to use linear regression linking antibiotic consumption and resistance. Longer-term predictions are more complex, and are mostly driven by the rate of genomic innovation.

Generalisations to other bacterial pathogens are also considered.

Mots clés : Evolution - Modelling - Strain structure - Predictions - Antibiotic consumption.

Références :

1. Lehtinen S, Blanquart F, Croucher NJ, Turner P, Lipsitch M, Fraser C. Evolution of antibiotic resistance is linked to any genetic mechanism affecting bacterial duration of carriage. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2017 Jan 31;114(5):1075–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1617849114>.
2. Lehtinen S, Blanquart F, Lipsitch M, Fraser C, with the Maela Pneumococcal Collaboration. On the evolutionary ecology of multidrug resistance in bacteria. PLoS Pathog [Internet]. 2019 May;15(5):e1007763. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1007763>.
3. Blanquart F, Lehtinen S, Lipsitch M, Fraser C. The evolution of antibiotic resistance in a structured host population. J R Soc Interface [Internet]. 2018 Jun;15(143). Available from: <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2018.0040>.
4. Cobey S, Baskerville EB, Colijn C, Hanage W, Fraser C, Lipsitch M. Host population structure and treatment frequency maintain balancing selection on drug resistance. J R Soc Interface [Internet]. 2017 Aug;14(133). Available from: <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2017.0295>.

Modelling clone diffusion and evolution from genomic and epidemiological data

SP1.7-1

***In vivo* evolutionary trajectory of a carbapenemase producing *K. pneumoniae* strain in stool, urine, blood and the lung**

Emanuela Ursino¹ (pglaser@pasteur.fr), Liliana Mihaila², Adriana Chiarelli¹, Nicolas Cabanel¹, Rafael Patino Navarrete¹, Isabelle Rosinski-Chupin¹, Thierry Naas³, Philippe Glaser¹

¹Unité EERA, Institut Pasteur, Paris, France

²Service de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France

³Unité EERA, APHP - Université Paris Sud, Le Kremlin Bicêtre, France

Carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* are frequently multidrug resistant bacteria causing life threatening infections. An emerging ST231 lineage has recently been reported. Strains from this lineage are resistant to most antibiotics and carry the *bla*OXA-232 carbapenemase gene on a multicopy plasmid. Here we have further characterized this lineage by phylogenetic analysis and studied within patient evolution of a representative strain of the lineage. Evolution of strain LAC was followed during 3.5-month infection / colonization of a patient following a liver transplantation. 55 bacterial samples from urine, stool, blood and the lung were analysed by WGS and phenotyped in relation with antibiotic susceptibility and host adaptation (growth in human serum, capsule production, biofilm production).

Phylogenetic analysis of 42 ST231 strains allows to identify conserved and specific feature of the OXA232 lineage. Based on the complete genome sequence of the first isolate we predicted a virulent phenotype with three different siderophores. This isolate was highly resistant to b-lactams, harbouring in addition to *bla*OXA-232, *bla*TEM-1, described for the first time on a multicopy plasmid, three copies of *bla*CTX-M-15 and mutations in the porin genes *ompK35* and *ompK36*.

Most remarkable was the within host diversification and adaptation. In total, we identified 15 SNPs, two IS insertions, three deletions, plasmid loss and the duplication of a region carrying the *bla*CTX-M15 ESBL gene. A large proportion of the samples contained mixed populations revealing the heterogeneity of the colonization, likely contributing to host adaptation. We observed considerable phenotypic changes. Seven different mutations led to colistin resistance and, surprisingly for four isolates we were unable to identify the causative mutation. Three different mechanisms led to an increased susceptibility to b-lactams probably to alleviate the fitness cost induced by a high expression of *bla*OXA-232 and by the mutation in *ompK36*. We observed specific adaptations for the different sites of isolation such as growth in human serum for blood samples, hyperproduction of the capsule in lung samples and biofilm production in the urine.

Study of within host evolution is a powerful approach to address host adaptation with very different evolutionary trajectories compared to evolution reported in experimental evolution studies.

Mots clés : Antibiotics - Evolution - Virulence - Infection.

Modelling clone diffusion and evolution from genomic and epidemiological data

SP1.7-2

Quantifying the drivers of antimicrobial resistance in a hospital network

Julie Shapiro¹ (julie.teresa.shapiro@gmail.com), Gilles Leboucher², Anne-Florence Myard-Dury³, Pascale Girardo⁴, Anatole Luzatti⁴, Mélissa Mary⁴, Jean-François Sauzon⁴, Bénédicte Lafay⁵, Olivier Dauwalder⁴, Gérard Lina¹, Christian Chidiac⁶, Sandrine Couray-Targe³, François Vandenesch^{1,4}, Jean-Pierre Flandrois⁵, Jean-Philippe Rasigade^{1,4}

¹CIRI, Inserm, Lyon, France

²Département de Pharmacie, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

³Pôle de Santé Publique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁴Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁵University of Lyon, LBBE, Lyon, France

⁶Service Maladies Infectieuses/Tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Introduction and objectives:

Antimicrobial resistance is increasing worldwide, especially in healthcare settings. The prevalence of multidrug-resistant organisms (MDROs) in hospital wards depends on local antibiotic selection pressure and MDRO introduction from other wards or the community. Understanding the relative contribution of these factors is essential for designing effective antimicrobial stewardship and infection control strategies. We used ecological modelling to compare the impacts of local selection and inter-ward introduction on the prevalence of MDROs and their non-MDR counterparts.

Materials and methods:

We analysed 23,299 infection episodes from a 357-ward hospital network in Lyon, France, from October 2016 to October 2017, along with per-ward antibiotic consumption volumes and ward connectivity, estimated from inter-ward patient transfer data. We considered MDR and non-MDR variants of the high-priority ESKAPE pathogens *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter cloacae* complex, as well as *Escherichia coli* (total 17 bacterial groups in 7 species, based on resistance to carbapenems, third-generation cephalosporins, vancomycin or methicillin as appropriate for each species). For each group, the influence of selection pressure and inter-ward connectivity on ward-level pathogen prevalence was modelled using a metapopulation model with Poisson regression controlling for sampling bias.

Results and discussion:

Across the 7 bacterial taxa, the influence of both antibiotic consumption and connectivity generally increased with increasing resistance. Antibiotic consumption had the greatest effect on resistant variants of *K. pneumoniae* and *E. cloacae*. Inter-ward connectivity had a greater effect than antibiotic consumption on both susceptible and resistant *P. aeruginosa* and *E. faecium*. Strikingly, piperacillin-tazobactam consumption had a larger effect on the prevalence of both cephalosporin- and carbapenem-resistant infections than either cephalosporins or carbapenems. Based on these findings, the optimal balance between antimicrobial stewardship and infection control interventions is expected to vary between bacterial taxa and resistance profiles. Ecological modelling of MDRO prevalence, by highlighting pathogen specificities, can help the development of integrated, tailored strategies against resistance.

Mots clés : antibiotic resistance - antibiotic stewardship - metapopulation - bacterial ecology.

Approche multiplexe syndromique : quelle interprétation ?

SP4.4-O1

Salmonella, Shigella, entre sous et sur détection

Sophie Lefèvre (sophie.lefevre@pasteur.fr), Maria Pardos de la Gandara, François-Xavier Weill

CNR *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris, France

Des kits de PCR multiplex pour le diagnostic des gastro-entérites sont de plus en plus largement utilisés par les laboratoires de biologie médicale. L'objectif de cette session est de discuter les performances de ces kits spécifiquement pour la détection des *Salmonella* et des *Shigella*. Nous présentons ici une analyse critique des principales publications ainsi que les premiers résultats d'une étude en cours au sein du CNR *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* (CNR-ESS) sur le système BD MAX™ par comparaison avec la coproculture.

Nous montrons également les résultats d'une enquête nationale effectuée en 2018 auprès de notre réseau de laboratoires participants (658 invités), révélant l'impact de l'utilisation d'un kit de PCR multiplex sur la réalisation de la coproculture.

Afin d'améliorer la détection des *Salmonella* et des *Shigella* et leur isolement en culture nous proposons des recommandations de bonnes pratiques. L'isolement des souches de *Salmonella* et de *Shigella* reste une nécessité pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques dans un contexte d'émergence de résistances mais aussi pour participer à la surveillance épidémiologique nationale en transmettant les souches au CNR-ESS.

Mots clés : PCR multiplex - Salmonella - Shigella - coproculture.

Références :

1. Anderson NW, Buchan BW, Ledebor NA. Comparison of BD MAX EBP to routine culture methods for detection of Campylobacter, EHEC O157, Salmonella, and Shigella isolates in preserved stool specimens. J Clin Microbiol. 2014; 52:4:1222-1224.
2. Harrington SM et al. Multicenter evaluation of the BD MAX EBP PCR assay for rapid detection of Salmonella, Shigella, Campylobacter and stx1 and stx2 genes. J Clin Microbiol. 2015; 53:1639-1647.
3. Hapuarachchi CT et al. Stool PCR may not be a substitute for enrichment culture for the detection of Salmonella. J Med Microbiol. 2019; 68:395-397.

Approche multiplexe syndromique : quelle interprétation ?**SP4.4-O2****Méningites et encéphalites virales : nouvelles approches diagnostiques**

Marc Eloit (marc.eloit@pasteur.fr)

Institut Pasteur, Paris, France

Résumé non parvenu.

Approche multiplexe syndromique : quelle interprétation ?

SP4.4-1

Évaluation des performances du kit Novodiag Bacterial GE+ dans le diagnostic des infections bactériennes intestinales

Charly Roy¹ (charly.roy@chu-bordeaux.fr), Philippe Lehours², David Robert³, Delphine Boraud³, Alice Buissonnière², Lucie Bruhl², Astrid Ducournau², Francis Mégraud², Emilie Bessède²

¹CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

²CNR Campylobacters-Hélicobacters, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

³LABM Exalab, Le Haillan, France

Introduction :

Le diagnostic bactériologique des infections bactériennes intestinale repose historiquement sur la culture sur milieux gélosées. La culture manque cependant de sensibilité et certains entéro-pathogènes tels les pathovars de *Escherichia coli* échappent au diagnostic en routine. Notre objectif était d'évaluer les performances analytiques du kit Novodiag Bacterial GE+, pour la détection de bactéries entéro-pathogènes dans le cadre de diarrhées aiguës communautaires.

Matériels et méthodes :

252 selles ont été incluses (198 rétrospectives et 54 prospectives) dans cette étude. Les résultats ont été comparés à la coproculture en première intention. En cas de culture négative, les performances ont été évaluée par rapport aux résultats obtenus sur BD Max Enteric Bacterial Panel (selles rétrospectives) ou bien par d'autres formats de PCR temps réel (maison ou commerciaux).

Résultats :

Sur les 252 échantillons, 207 étaient positifs et 45 étaient négatifs. En prospectif (janvier-mars 2019), 6 selles étaient positives en culture (prévalance de 11,1%) et 18 en kit Novodiag Bacterial GE+ (prévalance de 33,3%). Tous entéro-pathogènes confondus, le kit Novodiag Bacterial GE+ présentait une sensibilité de 95,65% et une sensibilité de 99,03%. Seules 3 discordances ont été répertoriées : un EHEC dépisté en BDMax mais négatif en Novodiag, en culture et en PCR maison ; un *Campylobacter coli* retrouvé en Novodiag mais négatif en PCR RidaGene Bacterial Stool Panel (rbiopharm), en culture et en PCR *Campylobacter* maison ; et un *Campylobacter jejuni* positif en PCR RidaGene et BDMax mais non retrouvé en Novodiag. Globalement pour *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, EHEC et ETEC les sensibilités allaient de 96,6 à 100%, les spécificités de 99 à 100%, la VPP de 94,1 à 100% et la VPN de 95,7 à 100%.

Conclusion :

Les performances analytiques du kit Novodiag Bacterial GE+ sont excellentes. Il peut être utilisé comme un outil de routine dans le diagnostic rapide des gastro-entérites bactériennes. Malgré la dilution en tube eNAT de l'échantillon primaire, la détection des Salmonelles et des EHEC était parfaite. Le kit présente l'avantage de ne détecter que les Yersines pathogènes. Les performances pour les Campylobacters sont très satisfaisantes.

Mots clés : Novodiag - Selles - Entéro-pathogènes - Bactéries - Campylobacters.

Approche multiplexe syndromique : quelle interprétation ?

SP4.4-2

Impact de la PCR Multiplex automatisée gastro-intestinale en pédiatrie

Jeanne Truong¹ (jeanne.truong@aphp.fr), Enora Leroux², Morgane Michel³, Julien Boize⁴, Patricia Mariani-Kurkdjian⁵, Aurélie Cointe⁵, Marie Desmarest⁴, Luigi Titomanlio⁴, Albert Faye⁶, Stéphane Bonacorsi⁵

¹ Microbiologie/Pédiatrie générale, CHU Robert Debré AP-HP, Paris, France

² Unité de Recherche Clinique, CHU Robert Debré AP-HP, Paris, France

³ Unité de Recherche Clinique-Eco, URC-Eco AP-HP, Paris, France

⁴ Urgences pédiatriques, CHU Robert Debré AP-HP, Paris, France

⁵ Microbiologie, CHU Robert Debré AP-HP, Paris, France

⁶ Pédiatrie générale, CHU Robert Debré AP-HP, Paris, France

Introduction et objectifs :

La PCR (polymerase chain reaction) Multiplex FilmArray panel Gastro-Intestinal (GI) permet de détecter 22 pathogènes (13 bactéries, 5 virus et 4 parasites) différents en 1h. L'objectif était d'évaluer son impact sur la prise en charge de l'enfant avec diarrhée aiguë.

Matériels et méthodes :

Cette étude prospective monocentrique a inclus les enfants ayant eu une coproculture aux urgences du 28/05 au 29/10/2018. L'indication de la coproculture était posée selon les recommandations locales. Une PCR panel GI était réalisée pour chaque patient. Un questionnaire renseignait la prise en charge initiale de l'enfant. Après transmission des résultats de la PCR, le biologiste interrogeait le clinicien sur son intention de modifier ou non la prise en charge du patient avant les résultats de la coproculture et si oui, de quelle façon.

Résultats, discussion et conclusion :

176 cas ont été inclus. Les principales indications à l'analyse de selles étaient une diarrhée aiguë glairo-sanglante et/ou diarrhée au retour de voyage en zone inter-tropicale (74% des cas).

La PCR panel GI était positive dans 70% des cas. Les pathogènes majoritairement détectés étaient bactériens: *Escherichia coli* entéro-agrégatif (22%), *Escherichia coli* entéro-pathogène (20%), *Shigella/Escherichia coli* entéro-invasif (15%) et *Campylobacter* (12%).

Le résultat de la PCR panel GI a entraîné une modification de prise en charge pour 60 patients (34%) (28 instaurations, 4 modifications et 1 arrêt d'antibiothérapie; 2 hospitalisations; 2 isollements spécifiques *Clostridium difficile*, 36 rappels des parents et 10 modifications de prescriptions d'examen complémentaires). L'antibiotique majoritairement prescrit suite aux résultats de la PCR panel GI était l'azithromycine (n=22) pour des infections à *Shigella/Escherichia coli* entéro-invasif (n=11), *Campylobacter* (n=6) ou *Escherichia coli* producteur de Shigatoxine (n=5).

Une analyse d'impact budgétaire est en cours.

La PCR Multiplex panel GI présente donc un impact significatif en termes d'antibiothérapie des diarrhées aiguës de l'enfant pour lesquelles une coproculture est prescrite.

Mots clés : PCR multiplex - PCR multiplex panel gastro-intestinal - pédiatrie - diarrhées infectieuses - coproculture.

***Pseudomonas aeruginosa* can transfer antibiotic resistance genes to other pathogens through conjugative mechanism**

Gauthier Dangla-Pélissier (gdangla@imm.cnrs.fr)

IMM - LISM - UMR7255, CNRS, Marseille, France

Introduction:

Pseudomonas aeruginosa is worldwide the third responsible of nosocomial infections for an average of 5000 deaths per year in France. It is also the main evolving bacteria in term of antibiotic resistance acquisition. Among its acquisition, the Integrative and Conjugative Element (ICE) PAPI-1 (*Pseudomonas aeruginosa* Pathogenicity Island 1) encodes for 115 genes involved in pathogenicity, antibiotic resistance and Deoxyribonucleic Acid (DNA) mobility. This ICE can be transferred through a type IV Secretion System (T4SS) to other Gram-negative bacteria conferring new virulence phenotypes to recipients.

Materials and methods:

The T4SS biosynthesis regulatory locus was identified performing random mutagenesis screening by *mariner* transposons insertion. The T4SS enhanced colonies were identified using report-fusion quantification and sequenced to find the transposon insertion locus. Using directed mutagenesis three regulators were identified confirmed by gel shift assays on the T4SS promoter region and β -galactosidase assays. Thus, the transcription factor regulon was identified using *Pseudomonas*-dedicated microarray to compare transcriptomes of wild-type strain and T4SS induced strains. This study was complemented doing antibiograms, competitions against other prokaryotes or eukaryotes, cytotoxicity assays and PAPI-1 Gram-negative bacteria transferences assays.

Results:

During my PhD, we deciphered for the first time the ICE PAPI-1 transference regulation in *P. aeruginosa* PA14. The mechanism occurs as follow:

- The conjugative T4SS biosynthesis is inhibited by compaction of promoter region,
- PAPI-1 encodes for both an uncompacting protein (NdpA2) and a transcription factor (TprA) respectively enabling and enhancing the biosynthesis of the T4SS a 70-time fold and PAPI-1 transference 120-time fold. This proposed mechanism was confirmed by gel shift assay, directed mutagenesis and β -galactosidase assays,
- The transcription factor also directly activates genes involved in virulence, antibiotic resistance and DNA mobility of *P. aeruginosa* shaping its antibiotic resistance and virulence,
- Once activated the ICE PAPI-1 can be transferred to other pathogenic Gram-negative bacteria.

In conclusion, we showed that in *P. aeruginosa*, the ICE PAPI-1 virulence and resistance genes transference is regulated by a three partners mechanism. We also found that inter-species transfer is possible among other Gram-negative bacteria. Taken together my results reveal the PAPI-1 contribution to the global bacteria resistance increase threat.

Mots clés : Horizontal transfer - ICE - Pathogenicity - antibiotic resistance - *Pseudomonas aeruginosa*.

Références :

1. Dangla-Pélissier, Gauthier, et al. «Horizontal transference of antibiotic resistances genes encoded within the pathogenicity island PAPI-1 is regulated by a three-partner synergy» *Nucleic Acid Research* (submitted).
2. Hong, Toan Phuoc, et al. «Conjugative type IVb pilus recognizes lipopolysaccharide of recipient cells to initiate PAPI-1 pathogenicity island transfer in *Pseudomonas aeruginosa*.» *BMC microbiology* 17.1 (2017): 31.
3. Carter, Michelle Qiu, Jianshun Chen, and Stephen Lory. «The *Pseudomonas aeruginosa* pathogenicity island PAPI-1 is transferred via a novel type IV pilus.» *Journal of bacteriology* 192.13 (2010): 3249-3258.
4. Harrison, Ewan M., et al. «Pathogenicity islands PAPI-1 and PAPI-2 contribute individually and synergistically to the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* strain PA14.» *Infection and immunity* 78.4 (2010): 1437-1446.

L'epicPCR, une approche innovante pour caractériser le spectre d'hôtes de l'ICE SXT, vecteur de résistance aux antibiotiques, dans des environnements aquatiques

Véronica Roman¹ (veronica.roman@univ-lorraine.fr), Xavier Bellanger¹, Jesse Vanttinen², Marko Virta², Christophe Merlin¹

¹LCPME UMR7564, Université de Lorraine - CNRS, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

²Department of Microbiology, University of Helsinki, Helsinki, Finlande

Introduction et objectifs :

SXT est un élément intégratif et conjugatif notamment impliqué dans la dissémination de gènes d'antibiorésistance chez des pathogènes du genre *Vibrio*. La dissémination de SXT est liée à la consommation de certains antibiotiques qui peuvent avoir un rôle sélectif, mais aussi stimulateur du transfert lorsqu'ils génèrent un stress génotoxique. L'objectif de ce travail est d'étudier la dissémination de SXT dans des environnements aquatiques sous pression anthropiques, (i) en étudiant son abondance dans différents écosystèmes, et (ii) en caractérisant le spectre d'hôtes de l'élément en lien avec les polluants et caractéristiques d'un environnement donné.

Matériels et méthodes :

L'abondance de SXT a été déterminée par qPCR à l'aide d'un nouveau jeu d'amorces élaboré spécifiquement pour cette étude. Le spectre d'hôtes de SXT a été caractérisé par epicPCR[1] (Emulsion, Paired Isolation and Concatenation PCR), une technique innovante qui consiste à isoler les bactéries d'un échantillon environnemental dans des billes de polyacrylamide, puis à lier un fragment d'ADN propre à SXT avec celui d'un marqueur phylogénétique (ADNr 16S) lors d'une PCR fusion. Les produits de cette PCR fusion issues de cellules porteuses de SXT sont ensuite séquencés par NGS afin de les assigner taxonomiquement.

Résultats, discussion et conclusion :

L'analyse de plusieurs écosystèmes aquatiques montre que SXT forme une famille d'éléments relativement abondants, avec 10^{-5} copies/ADNr 16S en effluents de station d'épuration, et plus généralement 10^{-4} à 10^{-6} copies/ADNr 16S dans d'autres environnements aquatiques (rivières, étangs, bassins piscicoles). L'epicPCR a permis de démontrer que, contrairement à ce qui était pensé jusqu'à présent, les hôtes de SXT ne se limitent pas aux bactéries des genres *Vibrio* ou *Proteus* mais sont également retrouvés chez des protéobactéries propres aux environnements étudiés. Cela montre également que l'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques chez les pathogènes du genre *Vibrio* pourrait suivre une voie de dissémination complexe impliquant des bactéries autochtones.

Mots clés : SXT - Élément intégratif conjugatif - EpicPCR - Antibiorésistance.

Références :

1. Spencer SJ, Tamminen MV, Preheim SP, Guo MT, Briggs AW, Brito IL, et al. Massively parallel sequencing of single cells by epicPCR links functional genes with phylogenetic markers. ISME J. févr 2016;10(2):42736.

IFITMs mediate viral evasion in acute and chronic hepatitis C virus infection

Gaëtan Ligat^{1,2} (gaetan.ligat@inserm.fr), F. Wensch^{1,2}, L. Heydmann^{1,2}, C. Schuster^{1,2}, M.B. Zeisel^{1,2,3}, P. Pessaux^{1,2,4}, F. Habersetzer^{1,2,4}, B.J. King^{5,6}, A.W. Tarr^{5,6}, J.K. Ball^{5,6}, M. Winkler⁷, S. Pöhlmann^{7,8}, Z.Y. Keck⁹, S.K.H. Fong⁹, T.F. Baumert^{1,2,4}

¹Inserm, U1110, Strasbourg, France

²Université de Strasbourg, Strasbourg, France

³Université de Lyon, Inserm U1052, CNRS, UMR 5286, CRCL, Lyon, France

⁴Pôle Hépatite-digestif, Institut Hospitalo-Universitaire, Strasbourg, France

⁵The University of Nottingham, School of Life Sciences, Nottingham, Royaume-Uni

⁶Nottingham University Hospitals, NIHR Nottingham BRC, Nottingham, Royaume-Uni

⁷German Primate Center-Leibniz Institute, Infection Biology Unit, Göttingen, Allemagne

⁸Faculty of Biology and Psychology, Göttingen, Allemagne

⁹Stanford University School of Medicine, Department of Pathology, Stanford, États-Unis

An effective hepatitis C virus (HCV) vaccine is urgently needed for global eradication of HCV infection and liver disease. While the role of adaptive immune responses for HCV infection has been studied in great detail, the role of innate immune mechanisms for viral escape and protection against HCV infection is only partially understood. Interferon-induced transmembrane proteins (IFITMs) are innate effector proteins restricting host cell entry of enveloped viruses, including HCV. Here, we show that IFITMs promote viral escape from the neutralizing antibody response in clinical cohorts of HCV-infected patients. Using pseudoparticles bearing HCV envelope proteins from acutely infected patients, we show that HCV variants isolated pre-seroconversion are more sensitive to the antiviral activity of IFITMs than variants from patients isolated during chronic infection post-seroconversion. Furthermore, HCV variants escaping neutralizing antibody responses during liver transplantation exhibited a significantly higher resistance to IFITMs than variants that were eliminated post-transplantation. Gain-of-function and mechanistic studies revealed that IFITMs markedly enhance the antiviral activity of neutralizing antibodies and suggest a cooperative effect of human monoclonal antibodies and IFITMs for antibody-mediated neutralization driving the selection pressure in viral evasion. Perturbation studies with the IFITM antagonist amphotericin B revealed that modulation of membrane properties by IFITM proteins is responsible for the IFITM-mediated blockade of viral entry and enhancement of antibody-mediated neutralization. In conclusion, our results identify IFITM proteins as a previously unknown driver of viral immune escape and antibody-mediated HCV neutralization in acute and chronic HCV infection. These findings are of clinical relevance for the design of urgently needed HCV B cell vaccines and might help to increase the efficacy of future vaccine candidates.

Mots clés : HCV - Cell entry - Escape - Neutralizing antibody - Vaccine.

Antimicrobial resistance of Enterobacteriaceae in poultry in Lebanon

Myriam Mikhayel^{1,2} (myriam.mikhayel@gmail.com), Benoît Doublet¹, Dolla Karam Sarkis²

²Infectiologie et santé publique, INRA Centre Val-de-Loire, Nouzilly, France

¹Laboratoire de microbiologie, Université Saint Joseph de Beyrouth, Beyrouth, Liban

Introduction:

Poultry farms contribute to the contamination of the environment with resistant bacteria, mainly Enterobacteriaceae which can be transmitted to Humans in contact or through contaminated food products. In Lebanon, antibiotics are administered uncontrollably to animals to treat infectious diseases but also for prophylactic reasons and as a dietary supplements and this to improve the productivity of farms. This study was realized to decipher the spread of resistant Enterobacteriaceae in poultry farms in Lebanon.

Methods and materials:

Rectal swabs were collected from 280 broilers in 56 Lebanese farms (5 swabs from each farm). A survey has been completed by the veterinarian in each farm about the antibiotic usage. Three-hundred and forty-one strains were isolated on MacConkey agar containing different antibiotics (Cefotaxime, Cefepime and Ertapenem). All isolates were identified using Biomérieux API® 20E strips. Antimicrobial susceptibility testing was performed by the disk diffusion method according to the recommendations of the CA-SFM (Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie). The production of Extended-Spectrum b-lactamases (ESBL) was assessed using the double-disk synergy test.

Results, discussion and conclusion:

Among the 341 isolated strains, 285 *Escherichia coli* (83.6%), 22 *Enterobacter cloacae* (6.4%), 20 *Klebsiella pneumoniae* (5.9%), 6 *Klebsiella ornithinolytica* (1.7%), 5 *Proteus mirabilis* (1.5%) and 3 *Klebsiella oxytoca* (0.9%), were detected. Based on the double-disk synergy test, a total of 70.7% of the strains were ESBL producers. Furthermore, 18 strains were resistant to carbapenem. This study estimated the prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* from broilers in Lebanon. Unfortunately, no national plan has been set up yet to fight the alarming threat of antimicrobial resistance in food-producing animals. In the next steps, we will characterize the strain collection by whole genome sequencing and molecular analysis (resistance genes, genetic supports, genomic analysis...).

Mots clés : Antimicrobial resistance - Poultry - Antibiotics - Enterobacteriaceae.

Références :

1. A. Singer, H. Shaw, V. Rhodes and A. Hart (2016). Front Microbiol 7:1728.
2. Larsson DGJ. (2014). Antibiotics in the environment. Ups J Med Sci. 119(2):10812

Confirmation du rôle de *Legionella pneumophila* dans une fasciite nécrosante fatale par la technologie de séquençage MinION

Marine Ibranosyan¹ (marine.ibranosyan@chu-lyon.fr), Christophe Ginevra^{1,2}, Camille Allam^{1,2}, Marie Darien³, Olivier Harou⁴, Laetitia Beraud¹, Florence Ader^{1,2}, Ghislaine Descours^{1,2}, Pierre-Emmanuel Bonnot⁵, Sophie Jarraud^{1,2}

¹ CNR des Légionelles, Hospices Civils de Lyon, GHN, Lyon, France

² Equipe Pathogénèse des Légionelles, CIRI, Villeurbanne, France

³ Service d'Anesthésie-Réanimation, Hospices Civils de Lyon, GHS, Pierre-Bénite, France

⁴ Service d'Anatomo-pathologie, Hospices Civils de Lyon, GHS, Pierre-Bénite, France

⁵ Service de Chirurgie Digestive, Hospices Civils de Lyon, GHS, Pierre-Bénite, France

Les infections cutanées à *Legionella* sont rares. Nous rapportons ici un cas de fasciite nécrosante à *Legionella pneumophila* sérotype 8 (Lp8) localisée au niveau de la thrombose veineuse profonde (TVP) d'un cathéter d'hémodialyse chez un patient immunodéprimé.

Un homme de 66 ans est hospitalisé en état de choc hémodynamique et insuffisance rénale aiguë ; il est eupnéique mais ne présente aucun signe infectieux. Le patient est rapidement hémodialysé après pose d'un cathéter de Sheldon dans la veine fémorale. Un scanner thoraco-abdominopelvien objective des opacités alvéolaires bilatérales et des masses rétropéritonéales pour lesquelles l'anatomo-cytopathologie conclut à un lymphome B diffus à grandes cellules. A J10, le patient devient fébrile et une TVP de son cathéter est diagnostiquée. La culture conventionnelle du cathéter retiré et les hémocultures restent stériles. La chimiothérapie est alors initiée à J16. A J28, le patient présente une toux avec des crépitations en base gauche. Un érythème persistant autour du point d'insertion du cathéter s'étend alors rapidement au flanc droit. Une chirurgie agressive de débridement diagnostique une fasciite nécrosante confirmée par l'histologie. Le patient décède d'une défaillance multiviscérale à J32. La culture conventionnelle des biopsies reste stérile. Pour documenter la pneumonie, une PCR *Legionella* réalisée sur le LBA de J31 revient fortement positive ; la culture spécifique isole des Lp8. Une PCR *L. pneumophila* est alors réalisée sur les tissus cutanés excisés, qui est également fortement positive. L'analyse d'un abcès prélevé au bloc par séquençage 16S MinION (Oxford Nanopore Technologies) identifie *Legionellaceae* pour 99,6% des 561 458 reads identifiés, sans autre germe pathogène associé et confirme le rôle exclusif de *Legionella* dans cette fasciite nécrosante. Pour objectiver le début de l'infection, des PCR *Legionella* réalisées rétrospectivement sur des sérums prélevés à J16, J19 et J24 montrent des charges bactériennes croissantes.

Les fasciites nécrosantes à *Legionella* sont des entités rarement décrites. Deux hypothèses physiopathologiques peuvent être envisagées ici : une inoculation de *Legionella* au niveau du cathéter suivie d'une dissémination hématogène et d'une pneumopathie secondaire, ou plus probablement, une pneumonie à *Legionella* non diagnostiquée à l'admission suivie d'une dissémination hématogène et d'une multiplication au site de TVP du cathéter.

Mots clés : Legionella - fasciite nécrosante - PCR - MinION - catheter.

Prévalence et impact de l'insertion de l'IS1548 en amont du gène *murB* de *Streptococcus agalactiae*

Sarah Khazaal^{1,2} (sarah.khazaal@etu.univ-tours.fr), Aurélia Hiron¹, Dani Osman², Rim Al Safadi², Philippe Gilot¹

¹ISP, Bactéries et risque maternofoetal, Université de Tours, INRA, Tours, France

²Biotechnologie appliquée (LBA3B), Université libanaise, Tripoli, Liban

Introduction et objectifs :

L'IS1548, un élément mobile de la famille ISAs1 est considérée comme un marqueur des souches de complexe clonal (CC) 19 associées aux méningites et aux endocardites néonatales. L'IS1548 peut inactiver ou augmenter l'expression de gènes en s'intégrant respectivement dans (e.g. *hylB* ou *cpsD*) ou en amont (e.g. *lmb*) du cadre de lecture ouvert [1]. Nous avons récemment identifié une nouvelle cible de l'IS1548 dans la région intergénique *folK-murB* [2]. Dans ce travail, nous avons étudié la prévalence de cette insertion et étudié son impact sur l'expression de *murB*.

Matériel et méthodes :

La présence de l'IS1548 a été recherchée par BlastN dans les génomes séquencés de 911 souches de *S. agalactiae*. Les souches positives ont été analysées par *Multi Locus Sequence Typing*. La région en amont de *murB* a été analysée *in silico* chez des souches avec ou sans intégration de l'IS1548, afin d'identifier des promoteurs potentiels (BPROM). La capacité de ces promoteurs à initier la transcription de *murB* a été testée par RT-PCR. L'impact de l'insertion de l'IS1548 a été quantifié suite à des fusions transcriptionnelles réalisées entre le gène de la β -galactosidase et une région de 550 pb en amont de *murB*, provenant soit d'une souche avec ou sans IS1548 dans la région intergénique *folK-murB*.

Résultats, discussion et conclusion :

L'IS1548 s'intègre dans le génome de souches appartenant à 22 lignées (sequence type) et 10 CC. Elle cible cependant la région intergénique *folK-murB*, uniquement chez les souches de CC 19. Un promoteur de l'IS1548 capable d'initier la transcription de *murB* a été identifié. L'intégration de l'IS1548 empêche la co-transcription des gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des folates (*fol*) avec *murB*, un gène impliqué dans la synthèse du peptidoglycane. L'insertion de l'IS1548 a donc un effet double et divergent sur l'expression de *murB*. Son impact global est néanmoins faible et différent de ceux déjà décrits dans la littérature.

Mots clés : peptidoglycane - biosynthèse des folates - élément génétique mobile - famille ISAS1.

Références :

1. Flécharde M, Gilot P. 2014. Physiological impact of transposable elements encoding DDE transposases in the environmental adaptation of *Streptococcus agalactiae*. *Microbiology*, 160, 1298-1315.
2. Flécharde M, Gilot P, Héry-Arnaud G, Mereghetti L, Rosenau A. 2013. Analysis and identification of IS1548 insertion targets in *Streptococcus agalactiae*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 340, 65-72

Développement d'un modèle porcin d'infection intra-osseuse à *Staphylococcus aureus* suite à la pose chirurgicale d'implants en titane

Mickaël Riou¹ (mickael.riou@inra.fr), Aurélien Voisin², Nathalie Kasal-Hoc¹, Céline Barc¹, Christelle Rossignol³, Jérémy Pezant¹, Anne Pinard¹, Noémie Perrot¹, Hans Adriaensen⁴, François Lecomte⁴, Gilles Gomot⁴, Alexis Pléau¹, Alain Deslis¹, Jérôme Breton-Cazaux⁵, José De Laval⁵, Anne-Lyse Lainé⁶, Sandrine Mélo⁷, Claire Chevaleyre⁷, Marie-Pierre Foulc²

¹ UE-1277 PFIE, INRA, Nouzilly, France

² Rescoll, Pessac, France

³ UMR-1282 ISP, IMI, INRA-Université de Tours, Nouzilly, France

⁴ UMR-0085 PRC, CIRE, INRA, CNRS, HARAS Nationaux, IFCE, U-Tours, Nouzilly, France

⁵ Laboratoire de Touraine, Tours, France

⁶ UMR-0085 PRC, PPE, INRA, CNRS, HARAS Nationaux, IFCE, U-Tours, Nouzilly, France

⁷ UMR-1282 ISP, 3IMO, INRA-Université de Tours, Nouzilly, France

Les infections relatives à la pose d'implant en chirurgie humaine sont des affections cliniques sérieuses engendrant un taux de mortalité élevé. Le traitement de ces infections requiert de façon quasi systématique l'association d'un traitement antibiotique de longue durée et d'un traitement chirurgical concomitant, le remplacement de l'implant. Cependant, les protocoles de traitement antibiotique standards présentent une faible efficacité pour ce genre d'infection et l'intervention chirurgicale est souvent complexe. Ces pratiques représentent un risque élevé pour le patient et un coût non négligeable pour la société. Il est nécessaire de trouver des solutions alternatives, comme par exemple, d'utiliser un traitement de surface sur titane permettant de délivrer des antibiotiques localement seulement en cas d'infection. Pour répondre à cet objectif, il est donc indispensable de développer un modèle animal de pose chirurgicale d'implants en titane avec infection osseuse. L'objectif de cette étude est de développer un modèle chirurgical de pose d'implants au niveau du tibia chez le porc associé à une infection intra-osseuse à *Staphylococcus aureus* concomitante. Nous avons défini la taille et la forme des implants en titane (cylindres de 4 et 8 mm de longueur pour 4 mm de diamètre) à utiliser. L'intervention chirurgicale d'ostéotomie partielle double et bilatérale du tibia porcin a été validée. En parallèle et afin d'induire une infection locale osseuse, nous avons testé deux souches de *S. aureus* : ATCC 25923 et SAHOS (isolat clinique osseux humain fourni par le CNR de Lyon) à deux concentrations différentes (10² CFU et 10⁶ CFU). Les résultats cliniques et mes analyses bactériologiques ont permis de sélectionner la souche de *S. aureus* SAHOS pour induire une infection osseuse locale aux deux concentrations testées que la souche ATCC. Dans les deux cas, une inflammation et une infection de la zone osseuse d'implantation sont observées dès 7 jours post-infection, grâce au suivi clinique et à l'imagerie médicale (IRM) de la zone d'implantation et confirmé par l'augmentation des cytokines inflammatoires (CRP, IL-6 et TNF α). Ce modèle porcin est donc validé et ouvre la possibilité de tester l'efficacité thérapeutique d'implants biomédicaux contre les infections intra-osseuses postopératoires aiguës ou chroniques, en vue d'une utilisation humaine.

Mots clés : Modèle porcin - *S. aureus* - infection osseuse - implants - inflammation.

Transfert génétique des B-lactamases à spectre étendu «BLSE» chez des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées au centre de lutte contre le cancer Batna-Algérie

Amina Messala¹ (amina.messala@yahoo.fr), Achraf Bouali², Ahmed Kassah-laouar¹

¹Microbiologie, Université de Médecine, Batna, Algérie

²Microbiologie, Centre de lutte contre le cancer, Batna, Algérie

Introduction et objectifs :

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste à fort potentiel épidémique fréquemment impliqué dans des infections sévères. L'augmentation et la dissémination de la résistance aux céphalosporines de troisième génération par production de BLSE, notamment chez *Klebsiella pneumoniae*, représente un problème majeur de santé publique particulièrement chez l'immunodéprimé. Les objectifs de notre travail sont :

- Réaliser un transfert génétique expérimentale des gènes de BLSE par conjugaison bactérienne chez des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées chez l'immunodéprimé.
- Comparer les profil de résistance aux antibiotiques entre les souches donatrices et celles réceptrices du gène transféré.

Matériels et méthodes :

20 souches non répétitives de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux céphalosporines de troisième génération, isolées durant une période de 03 mois, allant du 01/03/2019 au 31/05/2019, ont fait l'objet de notre étude.

La transférabilité des déterminants de résistance a été testée par des expériences de conjugaison en utilisant *Escherichia coli* J53 comme souche réceptrice. Enfin, la comparaison des profils de résistance aux antibiotiques entre les souches donatrices et celles réceptrices du gène transféré a été réalisé.

Résultats, discussion et conclusion :

Notre expérience de conjugaison bactérienne a permis de transféré le plasmide qui porte le gène codant pour la BLSE avec une fréquence de transfert de 70%. Des résistances co-transférées ont été essentiellement observées aux aminosides, aux quinolones et au triméthoprime-sulfaméthoxazole. Les souches isolées dans notre établissement représentent alors un véritable disséminateur de résistances aux antibiotiques. De ce fait les résistances co-tansférées constituent un outil de surveillance épidémiologique des bactéries multi-résistantes, en particulier celle productrices de BLSE.

Mots clés : *Klebsiella pneumoniae* - BLSE - Transfert génétique - Conjugaison bactérienne.

ARN régulateurs et adaptation aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus* : exemple de l'ARN 6S et de la sensibilité à la rifampicine

Marick Esberard^{1, 2, 3} (marick.esberard@i2bc.paris-saclay.fr), Wenfeng Liu^{1, 2, 3}, Claire Morvan^{1, 2, 3}, Marc Hallier⁴, Brice Felden⁴, Philippe Bouloc^{1, 2, 3}

¹I2BC, CEA, CNRS, Gif-sur-Yvette, France

²Université Paris-Sud, Gif-sur-Yvette, France

³Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France

⁴U1230 Inserm, Université de Rennes 1, Rennes, France

Staphylococcus aureus est un pathogène opportuniste peuplant nos microbiotes, essentiellement au niveau cutané. Cette cohabitation se déroule sans encombre la plupart du temps puisque 30 à 50% de la population sont porteurs sains. Cependant, *S. aureus* peut être responsable d'une large gamme d'infections, des plus bénignes (staphylococcies cutanées) aux plus graves (formes viscérales ou ostéo-articulaires). Les ARN régulateurs (ARNrég) sont des éléments permettant aux bactéries de s'adapter à de nombreux stress : il en existe une centaine chez *S. aureus* mais peu ont été caractérisés [1]. Grâce à des expériences de compétition de croissance d'une banque de mutants de *S. aureus* [2], nous avons mis en évidence la disparition progressive d'un mutant d'ARNrég en présence de concentrations sublétales de rifampicine, un inhibiteur de l'ARN polymérase. Ce mutant, Δ ssrS, n'exprime pas l'ARN 6S. Chez *Escherichia coli*, l'ARN 6S inhibe la transcription σ^{70} -dépendante en se liant à l'ARN polymérase. Nous avons confirmé sur milieu de culture solide que la délétion Δ ssrS confère une sensibilité accrue à la rifampicine. Des expériences en cours adressent la fonction et le mécanisme d'action de l'ARN 6S chez *S. aureus*. Nos résultats préliminaires suggèrent que l'absence de l'ARN 6S pourrait affecter la disponibilité du facteur σ^A avec pour conséquence un accroissement de la sensibilité à la rifampicine.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* - ARN 6S - rifampicine - résistance aux antibiotiques - ARN polymérase.

Références :

1. Liu W, Rochat T, Toffano-Nioche C, Le Lam TN, Bouloc P, Morvan C. Assessment of Bona Fide sRNAs in *Staphylococcus aureus*. *Front Microbiol.* 2018;9:228.
2. Le Lam TN, Morvan C, Liu W, Bohn C, Jaszczyszyn Y, Bouloc P. Finding sRNA-associated phenotypes by competition assays: An example with *Staphylococcus aureus*. *Methods.* 2017;117:21–7.



Société Française
de Microbiologie

MICROBES

15^e congrès national de la SFM

RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS

Mercredi 2 octobre

Bioprocédés (en association avec la FFBiotech)

SP7.2-O1

Réponse physiologique de *Corynebacterium glutamicum* dans un environnement fluctuant en oxygène. Application à la production d'acides organiques

Stéphane Delaunay (stephane.delaunay@univ-lorraine.fr), Karim Kabore, Amani Briki, Fabrice Blanchard, Michel Fick, Emmanuel Guedon, Frantz Fournier, Eric Olmos

Lab. Réactions et Génie des Procédés, Université de Lorraine - CNRS, Vandoeuvre, France

La bactérie *Corynebacterium glutamicum* constitue une plateforme biotechnologique permettant la production de diverses molécules d'intérêt telles que des acides aminés ou des acides organiques, par exemple. L'amélioration de la production de ces molécules nécessite, généralement, une approche de type Génie Métabolique afin d'orienter le métabolisme de la bactérie vers la synthèse de la molécule recherchée. Cette approche ne peut cependant pas être totalement découplée d'une compréhension de l'impact du procédé dans lequel la bactérie sera mise en œuvre. L'impact des variations en oxygène, un des paramètres clé affectant la physiologie, notamment en raison de l'hétérogénéité de sa concentration au sein des bioréacteurs, a fait l'objet de cette étude. Les acides acétique, lactique et succinique sont produits par *C. glutamicum* lorsque celle-ci est placée en anaérobiose, sans croissance associée. Il a cependant pu être montré que la microaérobiose et plus précisément le niveau d'oxygénation, caractérisé par le coefficient de transfert de masse, kLa , pouvait permettre d'orienter le métabolisme de *C. glutamicum* vers la synthèse de l'un ou l'autre de ces acides organiques. Ainsi, la synthèse d'acide succinique est-elle favorisée pour les valeurs de kLa les plus faibles. Dans le cadre d'un procédé en 3 phases (phase de croissance en aérobiose, phase de transition puis phase de production en anaérobiose), il a également pu être montré que la dynamique de l'évolution de la concentration en oxygène avait un très fort impact sur les capacités de production de succinate par *C. glutamicum*. En effet, une transition lente vers l'anaérobiose, avec contrôle de la concentration en oxygène dissous, permet la production de 165 mM et de plus de 800 mM de succinate, respectivement en mode discontinu et semi-continu, avec une souche non modifiée génétiquement de *C. glutamicum*. Enfin, dans une hypothèse de montée en échelle de ce procédé, la robustesse de *C. glutamicum* vis-à-vis d'une hétérogénéité de la concentration en oxygène a été étudiée. Il a ainsi pu être montré que cette hétérogénéité n'avait que peu d'impact sur la capacité de *C. glutamicum* à synthétiser des acides organiques.

Mots clés : acide succinique - acide lactique - micro-aérobiose - hétérogénéité - scale-down.

Références :

1. Kaboré A. K., Olmos E., Fick M., Blanchard F., Guedon E, Delaunay S., Aerobiosis–anaerobiosis transition has a significant impact on organic acid production by *Corynebacterium glutamicum*, *Process Biochemistry*, 2017, 52, 10-21.
2. Kaboré A. K., Delaunay S., Blanchard F., Guedon E., Fick M., Olmos E., Study and modeling of fluctuating dissolved oxygen concentration impact on *Corynebacterium glutamicum* growth in a scale-down bioreactor. *Process Biochemistry*, 2019, 77, 8-17.

Bioprocédés (en association avec la FFBiotech)

SP7.2-O2

Analyse des dynamiques de distribution de sous-populations microbiennes au sein de cultures pures de bactéries génétiquement modifiées : Cas de la production hétérologue d'isopropanol par *Cupriavidus necator*

Catherine Boy (c_boy@insa-toulouse.fr), Sandrine Alfenore, Nathalie Gorret, Stéphane Guillouet

Toulouse Biotechnology Institute (TBI), Université de Toulouse, CNRS, INRA, INSA, Toulouse, France

Assurer l'homogénéité phénotypique lors de production de molécules d'intérêt par des organismes génétiquement modifiés est devenu un enjeu majeur pour la biologie synthétique et l'optimisation des bioprocédés associés.

Cupriavidus necator H16 est une bactérie chemolithoautotrophe synthétisant et stockant d'importantes quantités de poly(3-HydroxyButyricAcid)(pHB). Le métabolisme versatile de *C.necator* lui permet d'être génétiquement modifiée pour devenir une plateforme de bioproduction de composés chimiques d'intérêt économique.

De nombreux systèmes d'expression hétérologue sont basés sur des plasmides, vecteurs de production de molécules recombinantes. Cependant, plusieurs cas d'instabilité plasmidique ont été rapportés et leurs causes sont encore mal comprises.

Les outils déjà développés pour étudier les hétérogénéités de populations à l'échelle de la cellule unique, comme le single-cell RT-PCR, RNA-seq ou FISH (Fluorescence *in situ* Hybridization) ne sont pour la plupart pas adaptés aux contraintes d'un suivi dynamique de la stabilité plasmidique chez les bactéries. Notre démarche vise à suivre la stabilité plasmidique en cours de fermentation avec autant d'efficacité et de justesse que possible. Il est donc nécessaire de développer une méthode rapide et fiable pour suivre l'expression des gènes codés sur le plasmide recombinant. La technique développée ici est basée sur l'expression d'une protéine rapportrice (enhanced Green Fluorescent Protein : eGFP) codée sur le plasmide et détectable par cytométrie en flux ; une méthode d'analyse pertinente pour suivre les variabilités à l'échelle de la cellule unique. Le suivi de l'intensité de fluorescence à l'échelle de la cellule unique par cytométrie en flux permet de quantifier dynamiquement les distributions des sous-populations.

L'influence de la force de promoteur contrôlant l'expression constitutive de l'eGFP a été étudiée. Ainsi, la construction induisant la charge métabolique la plus faible sur la cellule hôte a été choisie pour minimiser l'influence de l'expression de l'eGFP sur la physiologie de *C.necator*. Plusieurs constructions plasmidiques basées sur différents systèmes de stabilisation ségrégationnelle (Post-Segregation Killing, résistance aux antibiotiques) ont été évaluées dans des conditions de production intensives de biomasse en bioréacteur. De plus, pour tester la robustesse du système, la perte plasmidique en cours de fermentation a été induite par augmentation de température, et suivie par cytométrie en flux.

Mots clés : *Cupriavidus necator* - Stabilité plasmidique - Protéine rapportrice eGFP - Cytométrie en flux - Isopropanol.

Références :

1. Müller et al., 2010, Fems Microbiology Reviews, 554-587
2. Delvigne et al., 2014, Biotechnology Journal, 61-72
3. Grousseau et al., 2013, Applied Microbiology and Biotechnology, 4277-4290
4. Gruber et al., 2014, Journal of Biotechnology, 74-82

Bioprocédés (en association avec la FFBiotech)

SP7.2-O3

Engineering the synthesis of anticancer alkaloids in yeast cell factories

Vincent Courdavault (vincent.courdavault@univ-tours.fr), Inês Carqueijeiro

EA 2106 Biomolécules et Biotechnologies, Université de Tours, Tours, France

Introduction and objectives: Plant natural products constitute an incommensurable source of pharmaceutically valuable compounds such as the anticancer monoterpene indole alkaloids (MIAs) produced in the Madagascar periwinkle. Ensuring a continuous supply of these compounds is essential to guarantee an efficient illness treatments but remains challenging since many of them are still extracted from endangered natural resources. Given massive climate changes and biodiversity erosion, deploying alternative supplying approaches complementary to plant harnessing now appears inescapable. As such, the metabolic engineering of plants natural product synthesis in yeast cell factories stands for a promising strategy to produce the compounds of interest through de novo synthesis or bioconversion of abundant natural precursors. However, it requires a complete knowledge of the plant biosynthetic pathway to be achieved.

Material and methods: Over the last years, by combining RNA-seq performed in the Madagascar periwinkle, analysis of gene expression networks and functional genomics approaches, we progressively elucidated the whole MIA biosynthetic pathway leading to the production of strictosidine, the first MIA and subsequently to vindoline and catharanthine, the direct precursors of the anticancer agents [1, 2]. The progressive implementation of the corresponding genes in yeast was then achieved using a combination of genomic integrations and autoreplicative plasmids allowing constitutive and/or inducible gene expression.

Results and discussion: Using these technical approaches, we first created a yeast strain synthesizing strictosidine from glucose through the transfer of 14 plant genes [3]. Furthermore, bioconversion of the highly abundant tabersonine into vindoline was also achieved at high efficiency as a definitive proof-of-concept. Besides this production of well-known MIAs, combination in yeast of biosynthetic modules physically separated in planta allows the production of new-to-nature MIAs [4, 5]. This opens the door to a tailor-made production of MIAs that will be facilitated by the continuous extension of the plant biosynthetic gene toolbox.

Mots clés : metabolic engineering - yeast - alkaloids - *Catharanthus roseus*.

Références :

1. Tatsis EC, Carqueijeiro I, Dugé de Bernonville T, Franke J, Dang TT, Oudin A, Lanoue A, Lafontaine F, Stavrinos AK, Clastre M, Courdavault V, O'Connor SE. 2017. A three enzyme system to generate the Strychnos alkaloid scaffold from a central biosynthetic intermediate. *Nat Commun.* 8:316.
2. Caputi L, Franke J, Farrow SC, Chung K, Payne RME, Nguyen TD, Dang TT, Soares Teto Carqueijeiro I, Koudounas K, Dugé de Bernonville T, Ameyaw B, Jones DM, Vieira IJC, Courdavault V, O'Connor SE. 2018. Missing enzymes in the biosynthesis of the anticancer drug vinblastine in Madagascar periwinkle. *Science.* 360:1235-1239.
3. Brown S, Clastre M, Courdavault V, O'Connor SE. 2015. De novo production of the plant-derived alkaloid strictosidine in yeast. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 112:3205-3210.
4. Carqueijeiro I, Dugé de Bernonville T, Lanoue A, Dang TT, Teijaro CN, Paetz C, Billet K, Mosquera A, Oudin A, Besseau S, Papon N, Glévarec G, Atehortúa L, Clastre M, Giglioli-Guivarc'h N, Schneider B, St-Pierre B, Andrade RB, O'Connor SE, Courdavault V. 2018. A BAHD acyltransferase catalyzing 19-O-acetylation of tabersonine derivatives in roots.
5. Carqueijeiro I, Brown S, Chung K, Dang TT, Walia M, Besseau S, Dugé de Bernonville T, Oudin A, Lanoue A, Billet K, Munsch T, Koudounas K, Melin C, Godon C, Razafimandimby B, de Craene JO, Glévarec G, Marc J, Giglioli-Guivarc'h N, Clastre M, St-Pierre B, Papon N, Andrade RB, O'Connor SE, Courdavault V. 2018. Two Tabersonine 6,7-Epoxydases Initia.

Bioprocédés (en association avec la FFBiotech)

SP7.2-1

Bactéries de l'espèce *Burkholderia lata* dans l'industrie pharmaceutique, apports de la génomique

Arnaud Carlotti (arnaud.carlotti@orange.fr)

Eurofins IDmyk, Eurofins, Limonest, France

Les bactéries du complexe *Burkholderia cepacia* représentent une menace sérieuse pour les productions pharmaceutiques et donc les patients. L'espèce *Burkholderia lata* est fréquemment rencontrée comme contaminant dans ces environnements de production. Nous avons caractérisé 5 isolats de cette espèce par séquençage complet de leurs génomes. Les cartographies complètes des près de 8,5 Mb de séquences, pour chaque isolat, ont été comparées et nous ont permis d'identifier plus de 8000 gènes dont les fonctions et rôles biologiques ont été analysés par rapport au contexte industriel pharmaceutique. L'intérêt pour la détection, le diagnostic, le traçage, les aptitudes de colonisation et de virulence des souches sont illustrés ainsi que les multiples résistances aux agents antibactériens et l'aptitude à former des biofilms. Ces facteurs expliquent les risques liés aux bactéries de cette espèce dans nos productions.

Mots clés : *Burkholderia cepacia* complex - séquençage génomique - industrie pharmaceutique - contamination - Analyse fonctionnelle.

Animaux domestiques, animaux sentinelles ou vecteurs de zoonose ?**SP4.5-O1****Devez-vous avoir peur de votre chat ?**

Muriel Vayssier-Taussat (muriel.vayssier@inra.fr)

Département Santé Animale, INRA, Nouzilly, France

La maladie des griffes du chat a été décrite en 1950 (Debré) comme une lésion érythémateuse cutanée au point d'inoculation suivie d'une adénopathie loco-régionale persistant plusieurs semaines à plusieurs mois. Depuis, de nombreuses formes atypiques ont été décrites avec de nombreux autres symptômes très variés (formes oculaires, neurologiques (méningites, encéphalites, atteintes cérébelleuses, myélites, parésie faciale, coma), osseuses (ostéolyse, articulaires, hépatiques...). L'agent causal de la maladie n'a été identifié qu'en 1992. Il s'agit d'une bactérie appartenant au genre *Bartonella* : *Bartonella henselae*. Durant ces vingt dernières années, un nombre croissant de bactéries appartenant au genre *Bartonella* a été identifié comme étant à l'origine d'une multitude de maladies humaines et animales. À ce jour, une trentaine d'espèces de *Bartonella* ont été recensées. *B. quintana* et *B. bacilliformis* ont l'Homme pour seul hôte mammifère connu. Toutes les autres espèces infectent des animaux (carnivores, rongeurs et/ou ruminants, sauvages ou domestiques) mais peuvent être accidentellement transmises à l'Homme chez lequel elles provoquent des maladies dont les symptômes varient selon les espèces de bartonelles et l'état immunitaire de la personne infectée. Ces microorganismes utilisent une stratégie unique pour coloniser leurs hôtes : il est maintenant admis que chaque espèce de *Bartonella* est adaptée à un ou quelques hôtes réservoirs au sein desquels la bactérie établit une bactériémie intra-érythrocytaire pouvant persister plusieurs mois. La transmission de ces bactéries d'hôte à hôte est assurée par des vecteurs arthropodes hématophages ou bien par contact direct avec un animal infecté. Le rôle du chat dans la transmission des Bartonelles à l'Homme est primordial, nous aborderons les cycles de transmission entre le chat et l'Homme, le rôle des vecteurs dans cette transmission et les mécanismes moléculaires qui expliquent les passages accidentels du chat vers l'homme.

Mots clés : zoonose - maladies vectorielles.

Animaux domestiques, animaux sentinelles ou vecteurs de zoonose ?

SP4.5-O2

Les infections bactériennes du tractus urinaire chez l'homme et le chien

Rachel Lavoué (r.lavoue@envt.fr)

Médecine Interne, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Toulouse, France

Les infections bactériennes du tractus urinaires (ITU) sont fréquentes chez l'homme et le chien, avec 150 millions d'êtres humains affectés chaque année dans le monde et 14% des chiens présentés chez le vétérinaire pour cette raison.

Bien qu'une communauté de germes existe entre les deux espèces et que de mêmes clones bactériens aient été mis en évidence chez les membres humains et animaux d'un même foyer, le niveau de preuve en faveur d'une transmission croisée reste faible [1]. Le chien peut cependant être considéré comme un animal sentinelle et/ou un éventuel réservoir de germes multirésistants, notamment au vue des similitudes physiopathogéniques des infections urinaires humaines et canines. Les femmes et chiens femelles sont ainsi surreprésentées au sein des ITU symptomatiques et les infections ascendantes par des germes de la flore digestive sont largement majoritaires. De nombreuses situations cliniques similaires à celles décrites en médecine humaine sont associées à des bactériuries significatives mais asymptomatiques chez le chien, pouvant être à l'origine d'une dissémination des germes difficile à estimer. Chez les deux espèces, l'espèce bactérienne la plus souvent à l'origine d'ITU est *Escherichia coli*. Les genres *Staphylococcus* et *Enterococcus* sont également largement représentés chez l'homme et le chien. Tandis que *Klebsiella pneumoniae* est fréquemment retrouvé chez l'homme, *Proteus mirabilis* semble plus fréquent chez le chien [2, 3, Données personnelles]. Le pourcentage d'*Escherichia coli* multirésistantes retrouvées dans les urines de chien en France est estimé par l'ANSES à 6% en 2017, mais semble très variable en fonction de la présence d'affections prédisposantes et de critères géographiques (4 à 55%), à l'instar de l'homme [4, 5].

Le chien, deuxième animal de compagnie le plus fréquent en France, partage de façon étroite le mode de vie de ses propriétaires. Une meilleure compréhension, description et surveillance des infections bactériennes urinaires canines peut ainsi bénéficier à la santé publique face à l'inquiétude accrue d'antibiorésistance et dans un contexte « One Health ».

Mots clés : Infection du tractus urinaire - *Escherichia coli* - chien - homme - résistance.

Références :

1. Johnson, J.R. and C. Clabots, Sharing of virulent *Escherichia coli* clones among household members of a woman with acute cystitis. *Clin Infect Dis*, 2006. 43(10): p. e101-8.
2. Flores-Mireles, A.L., et al., Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*, 2015. 13(5): p. 269-84.
3. Marques, C., et al., European multicenter study on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animal urinary tract infections. *BMC Vet Res*, 2016. 12(1): p. 213.
4. Windahl, U., et al., Characterisation of bacterial growth and antimicrobial susceptibility patterns in canine urinary tract infections. *BMC Vet Res*, 2014. 10(217): p. 217.
5. Chang, S.K., et al., Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from canine urinary tract infections. *J Vet Med Sci*, 2015. 77(1): p. 59-65.

Animaux domestiques, animaux sentinelles ou vecteurs de zoonose ?**SP4.5-1****Resistance and virulence profiles in clinical *E. coli* collected from dogs in France**

Marisa Haenni¹ (marisa.haenni@anses.fr), Antoine Drapeau¹, Stéphanie Beurlet², Véronique Bachy³, Henri-Jean Boulouis⁴, Raphaëlle Pin⁵, Jean-Yves Madec¹, Charlotte Valat¹

¹ Université de Lyon - ANSES, Lyon, France

² Vebio, Paris, France

³ Orbio, Lyon, France

⁴ Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

⁵ Laboratoire Vétérinaire Départemental, Biot, France

Introduction:

Dogs are common members of households, where transmission of pathogens resistant to Extended-Spectrum Cephalosporins (ESCs) or carbapenems have been shown. In the US, a recent population study identified dog-related STs (ST372) and human-related STs (ST73, ST127, ST131) as a cause of urinary tract infections (UTIs) in dogs. Here, we characterized the population structure, resistance and virulence profiles of *E. coli* from French diseased dogs.

Materials and methods:

Non-duplicate *E. coli* (n=618) were collected from four veterinary laboratories in France between January and November 2017. Dogs suffered from UTIs in 62.5% of the cases. Antimicrobial susceptibility was determined by disc diffusion. Resistance genes were detected by PCR/sequencing and virulence genes related to ExPEC (*papA*, *sfaS*, *focG*, *afa-dra*, *iutA*, *kpsMTIII*, *fyuA*) and to other pathovars (*cnf1*, *hlyD*, *iss*, *ibeA*, *iroN*, *eae*) were detected by PCR. Population structure was assessed by phylogrouping and MLST typing.

Results:

Most isolates (79.6%) belonged to phylogroup B2, with ST372 (n=106) and ST73 (n=101) frequently identified. ST131 was found in 10 isolates. ESC resistance was identified in 34 isolates (5.5%) that produced CMY-2 (n=19), CTX-M-type (n=14) and OXA-48 (n=1) enzymes. Multidrug resistance (resistance to ≥ 3 antibiotic families) was detected in 8.9% of the B2 and 43.7% of the non-B2 isolates. Nearly half (45.9%) of the B2 isolates met the ExPEC status (≥ 2 ExPEC virulence genes). *PapA*, *kpsMIII*, *fyuA*, *sfaS*, *focG*, *hlyD* and *ibeA* were specifically associated to B2 isolates (p value Fisher's Exact Test $\leq 1.2E-6$), with *fyuA* being the most frequently (81.7%) identified virulence gene.

Discussion:

This study highlights the predominance of the B2 phylogroup among *E. coli* causing diseases in dogs. There was a clear discrepancy in the distribution of resistance (non-B2 isolates) and virulence (B2 isolates), contrary to the situation in humans dominated by the highly virulent and resistant ST131 clone. Nonetheless, human-related STs, such as ST73, were frequent in dogs, raising cross-transmission issues. Of note, resistance distribution was similar in dogs from France and the US despite different antibiotic usages.

Mots clés : Dog - resistance - virulence - UTIs - sequence type.

Animaux domestiques, animaux sentinelles ou vecteurs de zoonose ?**SP4.5-2****Similitudes des mécanismes de récurrence des infections urinaires chez l'homme et l'animal : l'exemple d'un cas clinique chez le chien**

Nicolas Jousserand¹ (n.jousserand@envt.fr), Benoît Fontenel², Henri-Jean Boulouis³, Morgane Canonne-Guibert⁴, Éric Oswald¹, Rachel Lavoué¹

¹IRSD, Toulouse, France

²Laboratoire d'analyse, Clinique Pasteur, Toulouse, France

³BioPôle, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

⁴Médecine interne, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

Introduction et objectifs :

Escherichia coli (*E. coli*) est le principal agent responsable d'infection du tractus urinaire (ITU) chez le chien, le chat et l'homme (1). L'existence d'une communauté bactérienne partagée entre ces espèces est vraisemblable (2). L'objectif est de caractériser les souches de *E. coli* identifiées chez les carnivores domestiques atteints d'ITU clinique et asymptomatique.

Matériels et méthodes :

Les *E. coli* provenant d'urines de chiens et chats consultés dans 2 Ecoles Vétérinaires françaises entre 2017 et 2019 sont répartis en ITU clinique et asymptomatique. Les antibiogrammes, le phylogroupe et la présence de gènes de virulence (*papG*, *sfa*, *uclD*, *iroN*, *fyuA*, *iutA*, *sat*, *hlyA*, *pks*) sont déterminés. L'association entre caractéristiques et symptomatologie est analysée par régression logistique binomiale et comparée avec l'Homme.

Résultats, discussion et conclusion :

Quatre-vingt-cinq *E. coli* issus de chiens (66%) et de chats (34%) ont été inclus. Le phylogroupe B2 est prédominant chez le chien (66%) et le chat (75%) comme précédemment décrit chez l'Homme (3). On retrouve plus de B1 chez les carnivores (10% et 16%) que chez l'Homme. On retrouve moins le gène *iutA* codant l'aérobactine (28% et 23%) que chez l'Homme (3), disparité possiblement liée au pH urinaire. Le répertoire des gènes de virulence n'a pas permis de distinguer les souches isolées d'ITU cliniques et asymptomatiques ; cela reste à confirmer avec un plus grand nombre de souches. Onze souches sont multirésistantes aux antibiotiques.

Malgré certaines différences dans la structure de la population des *E. coli* isolés des urines, nous confirmons le caractère potentiellement zoonotique.

Mots clés : *Escherichia coli* - infection urinaire - zoonose - facteur de virulence.

Références :

1. Marques C, Gama LT, Belas A, Bergström K, Beurlet S, Briend-Marchal A, et al. European multicenter study on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animal urinary tract infections. *BMC Vet Res.* 2016;12(1):213.
2. Johnson JR, Kaster N, Kuskowski MA, Ling GV. Identification of urovirulence traits in *Escherichia coli* by comparison of urinary and rectal *E. coli* isolates from dogs with urinary tract infection. *J Clin Microbiol.* 2003;41(1):33745.
3. Johnson JR, Kaster N, Kuskowski MA, Ling GV. Identification of urovirulence traits in *Escherichia coli* by comparison of urinary and rectal *E. coli* isolates from dogs with urinary tract infection. *J Clin Microbiol.* 2003;41(1):33745.

Animaux domestiques, animaux sentinelles ou vecteurs de zoonose ?**SP4.5-3****Parlons de zoonoses : le jeu Krobs**

Gilbert Greub (gilbert.greub@chuv.ch)

Université de Lausanne, Lausanne, Suisse

Les microbes se transmettent de diverses manières: par exemple au contact d'animaux (*Coxiella burnetii*, *Pasteurella multocida*, *Bartonella henselae*, *Chlamydia psitacci*), à la suite de piqûres de tiques (*Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, virus TBE, ...) ou de moustiques vecteurs (virus Chikungunya, ...), par l'ingestion d'aliments souillés (*Campylobacter*, *Salmonella*, *Listeria*, *Teania solium*), ... Et ces microbes sont autant d'agents de zoonoses, liées à l'exposition directe ou indirecte à des animaux ou à des produits dérivés. Ces microbes potentiellement dangereux pour la santé sont trop souvent méconnus du grand public et du personnel de santé, car ils causent des maladies rares ou difficiles à détecter. De plus, leurs modalités de transmission et les mesures préventives sont moins connues que celles d'autres microbes, tels que le virus de la grippe ou le VIH. Or, nos modes de vie actuels nous exposent à plus de risques zoonotiques.

Ainsi l'idée est née de créer un jeu original, éducatif et amusant pour permettre de combler partiellement ce manque d'information. Krobs, c'est un jeu de cartes qui vous confrontent aux « Mi-Krobs » mais aussi un site internet (www.krobs.ch) avec de nombreuses informations. Le trait d'union entre le jeu et le site: des codes QR imprimés au dos de chaque carte.

Ce jeu n'est pas seulement une activité ludique, mais également une opportunité de parler prévention avec le grand public et d'enseigner aux étudiants une série de concepts clefs en microbiologie médicale. Ainsi, 273 étudiants en médecine ont eu l'opportunité de tester ce jeu et ceux ayant participé à au moins 2 séances éducatives de jeu Krobs ont mieux progressé en terme de connaissances liées au jeu que ceux n'y ayant pas participé ou que de manière ponctuelle pour une seule période de 45 minutes. Ce jeu est aujourd'hui utilisé également pour l'enseignement à l'université en biologie, ainsi qu'à l'école supérieure de santé pour le personnel technique des laboratoires et le personnel infirmier.

Mots clés : jeu - zoonose - tiques - moustiques - alimentaire.

Microbiote et écosystème : impact de la pollution et du réchauffement climatique

(en association avec l'ARET)

SP3.4-O1

Les microorganismes du sol : acteurs et marqueurs du réchauffement climatique

Thomas Lerch (thomas.lerch@u-pec.fr)

IEES Paris, UPEC, Créteil, France

Depuis quelques années, le sol est au centre des études sur les changements climatiques. La décomposition de la matière organique du sol (MOS) par les microorganismes est un processus primordial non seulement parce qu'il assure le bon fonctionnement des écosystèmes continentaux mais aussi parce qu'il participe à la régulation des flux de C à l'échelle planétaire. Il est connu que l'augmentation de la température accélère la respiration microbienne selon la loi d'Arrhenius et donc favorise les émissions de CO₂ dans l'atmosphère. Cependant beaucoup de questions demeurent encore sur les effets interactifs avec d'autres facteurs abiotiques tels que l'humidité, la texture des sols, la qualité et la quantité de la MOS [1,2,3]. Les connaissances actuelles sont encore plus réduites en ce qui concerne la sensibilité des communautés microbiennes à ces changements climatiques, notamment en terme d'abondance, de diversité et d'activités métaboliques [4,5]. Nous présenterons ici une étude menée sur un site expérimental de longue durée (Uppsala, Suède) où différents types de fertilisation ont été appliqués sur un sol agricole depuis 1956. Des échantillons ont été incubés en conditions contrôlées à différentes températures pendant plusieurs mois durant lesquels nous avons mesuré le dégagement de CO₂. A la fin de l'expérience, l'ADN des sols a été extrait et les communautés microbiennes (bactéries et champignons) ont été caractérisées par qPCR et empreintes génétiques. L'ensemble des données suggèrent que la réponse des microorganismes du sol à la température varie non seulement selon les taxa, mais aussi selon les types de fertilisations appliqués. Il semble donc nécessaire de mieux prendre en compte l'usage des sols et en, particulier les pratiques culturales dans les prochaines études afin d'améliorer les modèles prédictifs actuels.

Mots clés : communautés microbiennes - sol - CO₂ - température.

Références :

1. Davidson, E.A., Janssens, I.A., 2006. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440, 165–173.
2. Cleveland, C.C., Nemergut, D.R., Schmidt, S.K., Townsend, A.R., 2007. Increases in soil respiration following labile carbon additions linked to rapid shifts in soil microbial community composition. *Biogeochemistry* 82, 229–240.
3. Karhu, K., Auffret, M.D., Dungait, J.A.J., Hopkins, D.W., Prosser, J.I., Singh, B.K., Subke, J.-A., Wookey, P.A., Agren, G.I., Sebastia, M.-T., Gouriveau, F., Bergkvist, G., Meir, P., Nottingham, A.T., Salinas, N., Hartley, I.P., 2014. Temperature sensitivity of soil respiration rates enhanced by microbial community response. *Nature* 513, 81–84.
4. Pietikäinen, J., Pettersson, M., Baath, E., 2005. Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. *FEMS Microbiology Ecology* 52, 49–58.
5. Meier, C.L., Rapp, J., Bowers, R.M., Silman, M., Fierer, N., 2010. Fungal growth on a common wood substrate across a tropical elevation gradient. Temperature sensitivity, community composition, and potential for above-ground decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 1–8.

Microbiote et écosystème : impact de la pollution et du réchauffement climatique

(en association avec L'ARET)

SP3.4-O2

Amorçage microbien de l'immunité végétale et animal : des symbiotes comme signaux du développement

Marc-André Selosse (ma.selosse@wanadoo.fr)

ISYEB, UMR 7205, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, France

In symbiosis, the evolution of each partner is partly driven by the other ones (co-evolution). The evolution of symbiosis is often viewed as a progressive evolution, based on the emergence of new adaptive properties that enhance the fitness or diversify the niche. In many cases, such evolution enhances the interdependence between partners, because new functions are only achieved in symbiosis. The present paper focuses on the emergence of interdependence in development, and emphasizes that it can arise even without emergence of any new property, nor any progressive evolution. I propose two examples where such a neutral evolution may have acted, i.e. on development of immunity, in plants and animals, and in nervous system in animals.

First, microbiotas are acting both in plant and animals as developmental signals for immunity maturation: the existence of the so-called 'priming effect' was revealed by observation of germ-free (axenic) animals and non-mycorrhizal plants. Second, the behaviour and functioning of axenic animal, and its reversibility by colonization by microbes in young age, shown how the gut-brain axis plays a role in development, from pregnancy on. Since no evidence supports that microbial signals are more relevant than endogenous ones, a neutral evolution can account for this dependency: any hypothetic endogenous signal can be lost because microbial colonization, reliably occurring at germination for plant (resp. birth for animals), can substitute for it and trigger post-germination (resp. post-partum) developmental stages.

Beyond this intriguing parallel between plants and animals, I suggest a theoretical framework for interdependency in development. When two initially independent partners permanently interact, redundant properties become unstable: a mutation in one of the partner can be complemented by the presence of the other. Independency is then lost without any gain of function, nor any positive selection. This can thus been viewed as a neutral evolution. Moreover, the accumulation of such ratchet steps over times makes the reversion to independency more and more unlikely. Neutral evolution drives the emergence of many reciprocal dependencies among symbionts, within different functions. This interdependency strongly questions the poorly inoculated environment and food offered to our children nowadays.

Mots clés : developpment - axeny - immunity - nervous system - interdependency.

Références :

1. Selosse MA, Bessis A & Pozo MJ, 2014, Trends in Microbiology 22: 607-613.

Microbiote et écosystème : impact de la pollution et du réchauffement climatique

(en association avec L'ARET)

SP3.4-O3

“Je t'aime moi non plus” ou les relations complexes qu'entretiennent les microorganismes du sol avec les pesticides et vice-versa

Fabrice Martin-Laurent (fabrice.martin@inra.fr)

UMR Agroécologie, INRA, Dijon, France

Les pesticides sont encore fréquemment employés en agriculture conventionnelle pour contrôler le développement de différentes pestes au sein des cultures. Toutefois, leur utilisation est placée au cœur d'un vif débat sociétal car leurs méfaits sur la santé de l'environnement et de l'Homme sont souvent rapportés. En effet, quasiment tous les compartiments de l'écosystème sont contaminés par des résidus de pesticides qui finissent par s'accumuler le long de la chaîne trophique et *in fine*, contaminer l'Homme, avec des conséquences sur la santé qui sont suspectées et débattues. Une grande partie des pesticides appliqués sur les cultures atteignent la surface du sol puis diffuse dans le sol où de nombreux organismes vivent. Parmi eux, les microorganismes très nombreux, divers et actifs soutiennent de nombreux services écosystémiques des sols mais restent encore méconnus.

Toutefois, l'étude des effets des pesticides sur les microorganismes montre qu'ils entretiennent des relations complexes du type “je t'aime moi non plus”. En effet, les pesticides peuvent être perçus par les microorganismes comme une source nutritive permettant leur croissance ou comme un toxique modifiant leur activité et pouvant causer leur déclin. Cette dualité est retrouvée dans la réglementation où le dossier de l'homologation demandé aux firmes requière l'évaluation de la dissipation des pesticides dans les sols (reposant pour partie sur la biodégradation microbienne supportant le service de biofiltration) et d'autre part, l'estimation de l'effet des pesticides sur la minéralisation du C. Elle est également présente dans le secteur académique où des chercheurs du domaine de l'écotoxicologie microbienne étudient l'adaptation à la biodégradation des pesticides ou l'impact écotoxicologique des pesticides sur les microorganismes. Dans la société, très souvent seul le volet écotoxicologique des pesticides sur la qualité des sols et la production végétale est abordé car le volet adaptation à la biodégradation microbienne reste méconnu.

L'objectif de cette conférence sera donc de faire un état des lieux des connaissances scientifiques sur l'effet des pesticides sur les microorganismes du sol, de la réglementation actuelle et des perspectives d'évolution envisagées et d'approches d'ingénierie écologique pouvant être employée pour mitiger et évaluer l'effet des pesticides sur les microorganismes du sol.

Mots clés : pesticides - microorganismes - sol - écotoxicologie.

Impacts of heavy metals and low antibiotic concentration on bacterial resistance

SP1.8-O1

Quand les antibiotiques stimulent la dissémination de gènes de résistance : petites doses et effets dramatiques

Christophe Merlin¹ (christophe.merlin@univ-lorraine.fr), Xavier Bellanger¹, Hélène Guilloteau¹,
Véronica Roman¹, Cédric Pradalier²

¹LCPME, UMR7564, Université de Lorraine-CNRS, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

²UMI 2958 GT-CNRS, Georgia Tech-Lorraine, Metz, France

Les éléments génétiques mobiles (EGM) jouent un rôle prépondérant dans la dissémination de gènes d'antibiorésistance au sein du monde bactérien, mais leur transfert dans l'environnement dépend probablement de conditions permissives, au même titre que n'importe quelle fonction biologique. Au-delà de leurs propriétés sélectives, certains antibiotiques semblent moduler l'expression des fonctions de mobilité d'EGM lorsqu'ils se retrouvent en concentrations sub-inhibitrices. Question est posée de savoir si de tels effets stimulateurs sont possibles lorsque les antibiotiques se retrouvent dilués après rejet dans l'environnement. Démontrer un effet stimulateur reste assez difficile car au préalable il faut savoir (i) identifier l'antibiotique modulateur, et (ii) déterminer ses concentrations actives sur un EGM donné. Pour contourner ces difficultés, avons développé une approche basée sur l'utilisation de « rapporteurs bactériens » possédant une fusion transcriptionnelle entre le promoteur d'un gène de mobilité d'EGM et des gènes *lux*, de manière à ce qu'une bioluminescence soit émise lorsque le promoteur du gène de mobilité devient actif. Ces rapporteurs bactériens sont exposés à des gradients de concentrations en antibiotiques, obtenus par diffusion en gélose à la manière d'un antibiogramme. L'émission de lumière est enregistrée à l'aide d'une caméra CCD à haute sensibilité afin de révéler l'activité des promoteurs et des profils d'induction sont finalement extraits à l'aide d'un logiciel de traitement d'image automatisé. Des profils d'induction de luminescence ont été recueillis pour 80 promoteurs isolés de différents EGM (pB10, Tn916, SXT, SGI1, SCCmec) exposés à 50 antibiotiques. Pour Tn916, nous avons identifié plusieurs antibiotiques modulateurs pour lesquels l'induction du transfert a été vérifiée (jusqu'à x1000) [1]. De manière surprenante, il n'existe pas nécessairement de lien évident entre les antibiotiques inducteurs et la nature de la résistance codée par l'EGM, et les profils d'induction d'un même promoteur d'EGM évoluent d'une espèce à l'autre, sans compter sur des effets synergiques également identifiables par cette approche. Pris globalement, ces observations compliquent notre perception de la relation entre la présence de contaminants antibiotiques et la dissémination des gènes de résistance.

Mots clés : Antibiorésistance - Eléments Génétiques Mobiles - Induction du transfert de gènes - antibiotique en doses sub-CMI.

Références :

1. Scornec H, Bellanger X, Guilloteau H, Groshenry G, Merlin C. (2017) Inducibility of Tn916 conjugative transfer in *Enterococcus faecalis* by subinhibitory concentrations of ribosome-targeting antibiotics. *J Antimicrob Chemother.* 72(10):2722–2728

Impacts of heavy metals and low antibiotic concentration on bacterial resistance

SP1.8-O2

Adaptation des communautés bactériennes à une exposition aux métaux traces dans l'environnement : conséquences potentielles sur l'antibiorésistance

Sylvie Nazaret¹ (Sylvie.Nazaret@univ-lyon1.fr), Thierry Berthe^{2, 3}

¹UMR CNRS 5557, Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France

²UMR 6143, Université Rouen Normandie, Mont Saint Aignan, France

³UMR METIS 7619, Sorbonne Université, Paris, France

Ces recherches concernent la relation entre (i) la contamination de l'environnement (contaminants organiques et métalliques), (ii) la diversité microbienne et les supports génétiques de résistance à ces contaminants (résistome). L'objectif est de proposer, parmi ces deux paramètres (diversité spécifique ou résistome), un proxy pour estimer l'effet de la contamination du milieu sur le biota (à différentes échelles de temps et/ou d'espace) et d'évaluer les conséquences potentielles associées à l'acquisition de gènes de résistance aux métaux traces sur l'antibiorésistance.

La diversité spécifique des communautés microbiennes d'archives sédimentaires, sédiments de surface, ou des biofilms aquatiques a été étudiée après séquençage de l'ADNr 16S, ou des ADNc obtenus à partir de l'ARNr 16S pour les communautés métaboliquement actives. Les supports génétiques ciblés (étude de leurs diversités et/ou quantification par qPCR) au sein du (méta)génomme des communautés microbiennes sont: i) les intégrons cliniques, vecteurs majeurs dans l'acquisition de la multi-résistance aux antibiotiques, b) les intégrons environnementaux impliqués dans l'adaptation des communautés microbiennes aux contaminants chimiques, et c) des gènes spécifiques conférant une résistance à un contaminant donné (métaux traces). Les approches d'écologie moléculaire développées ont permis d'étudier la diversité des gènes d'intérêt par séquençage haut débit et/ou d'évaluer leur abondance par qPCR. Au sein du résistome les gènes codant pour les pompes à efflux, notamment celles de la famille RND (Resistance Nodulation Division) chez les bactéries à Gram négatif, jouent un rôle important dans l'adaptation au stress métallique (pompes HME-RND) ou dans l'émergence du phénotype « multidrug resistance » (pompes HAE1-RND). Afin de mieux comprendre le rôle de ces pompes dans l'adaptation au stress métallique et les conséquences sur l'antibiorésistance environnementale, nous avons comparé leur distribution en fonction de l'écologie des bactéries. Ainsi nous avons i) redéfini les familles HME et HAE-1 sur la base d'une phylogénie construite à partir de 920 génomes représentatifs de la diversité connue des bactéries Gram négatif ii) cherché des relations entre la distribution des pompes et la taxonomie, l'habitat et la pathogénicité des bactéries, et iii) confirmé les rôles écologiques présumés de ces pompes par quantification (qPCR) des gènes dans des échantillons environnementaux différemment contaminés.

Mots clés : résistome - intégrons - métaux traces.

Impacts of heavy metals and low antibiotic concentration on bacterial resistance

SP1.8-1

Gentamicin pollution at sub-inhibitory concentrations induces a response in the environmental resistome

Concepcion Sanchez-Cid^{1,2} (concepcion.sanchezcidtorres@promega.com), Timothy M. Vogel¹

¹ Université de Lyon, Ecully, France

² Promega France, Charbonnières-les-Bains, France

Background and objective:

Sub-inhibitory concentrations of antibiotics are often released to the environment as a consequence of anthropogenic activities. These concentrations could induce a response in the environmental resistome, thereby contributing to the evolution of antibiotic resistance in the environment. This might in turn have consequences for human health. However, the scope of this phenomenon remains unclear. In this study, we evaluated the genetic and transcriptional response of environmental bacteria to pollution with gentamicin, an aminoglycoside used in both human therapy and food production. We hypothesized that gentamicin pollution at sub-inhibitory concentrations would induce a non-selective adaptive response in environmental bacteria, whereas higher concentrations of antibiotics would have a lethal or inhibitory effect and therefore selective effect.

Materials and methods:

River water microcosms were contaminated with gentamicin at both inhibitory and sub-inhibitory concentrations. DNA was extracted at 0, 24 and 48 hours, and RNA was extracted at 0, 4, 8, 24 and 48 hours. The V3-V4 hypervariable region of the 16S rRNA gene and cDNA were sequenced to identify the total and active communities in non-contaminated and gentamicin-polluted environments. Furthermore, prevalent ARG and genes related to mobile gene elements (MGE) were identified using metagenomics. Finally, these results obtained from water microcosms were compared to water bacteria enriched in R2A culture medium to obtain a functional validation of the bacterial genera and ARG involved in gentamicin response at sub-inhibitory concentrations.

Results and discussion:

Several genera showed an increased abundance over time at sub-inhibitory concentrations of gentamicin in enriched media as well as in total and active communities from the water microcosms. Furthermore, several ARG and genes involved in the SOS response, DNA replication and metal response increased their abundance under gentamicin pollution at sub-inhibitory concentrations. This approach led to the identification of bacteria and genes involved in the environmental response to gentamicin pollution at sub-inhibitory concentrations. Thus, sub-inhibitory concentrations of antibiotics appear to promote antibiotic resistance development in the environment.

Mots clés : sub-inhibitory - resistome - environment - antibiotic pollution - metagenomics.

Impacts of heavy metals and low antibiotic concentration on bacterial resistance

SP1.8-2

Étude de l'évolution des patrons de résistance d'*Escherichia coli* suite à des stress induits par des concentrations subinhibitrices de gentamicine.

Léna Simon^{1,2} (lena.simonbousquet@gmail.com), Caroline Rose¹, Michael Finnegan¹, François Gatchitch¹, Martijn Callens¹, Marie-Pierre Dubois¹, Stéphanie Bedhomme¹

¹CEFE, CNRS, Montpellier, France

²Faculté des Sciences, Université de Montpellier, Montpellier, France

Introduction et objectifs :

Les bactéries présentant une résistance aux antibiotiques sont un problème majeur de santé publique et leur émergence est favorisée par l'usage d'antibiotiques en thérapeutique. Cependant il est important de considérer l'impact des concentrations sub-inhibitrices d'antibiotique sur la sélection de la résistance. Dans cette optique, nous avons examiné la résistance acquise après une exposition prolongée à des concentrations subinhibitrices de gentamicine et sa spécificité chez *Escherichia coli*.

Matériels et méthodes :

La souche *E. coli* DH10B a été évoluée expérimentalement pendant 1000 générations en présence de trois concentrations subinhibitrices (0.05, 0.1 et 0.2 CMI) de gentamicine. Nous avons étudié le phénotype des populations évoluées en mesurant leur croissance par spectrophotométrie à différentes concentrations de gentamicine ou d'un autre type de stress, le sel. La CMI des souches évoluées a été mesurée pour la gentamicine, la kanamycine et le chloramphénicol. Les mécanismes d'antibiorésistance sont recherchés par des approches mécanistiques et génomiques.

Résultats, discussion et conclusion :

Nous avons trouvé que l'exposition à une concentration sub-inhibitrice de gentamicine multiplie par 4 la CMI initiale pour cet antibiotique, et les souches résistantes à la gentamicine présentent une résistance équivalente à la kanamycine. La condition d'évolution impacte le niveau de résistance pour la gentamicine : plus la concentration à laquelle la souche est exposée durant l'évolution est élevée, plus sa résistance est conséquente. Par ailleurs, plus la concentration en gentamicine lors de l'évolution est élevée, plus la croissance en l'absence d'antibiotique est faible, ce qui suggère que l'acquisition de la résistance a un coût en terme de valeur sélective pour les souches évoluées. Les tests de résistance croisée à d'autres antibiotiques et l'utilisation d'inhibiteurs de pompes à efflux suggère que le mécanisme de résistance évolué est spécifique des aminoglycosides. Ce résultat est à confirmer par les données génomiques.

Mots clés : antibiorésistance - aminoglycosides - évolution expérimentale - adaptation - stress.

Physiopathologie des infections par les virus émergents (en association avec l'ASM)**SP4.6-O1****Identification de la protéine FHL1 comme un facteur essentiel à l'infection et la pathogénèse de CHIKV**

Laurent Meertens¹ (laurent.meertens@inserm.fr), Mohamed Lamine Hafirassou, Therese Couderc, Lucie Bonnet-Madin, Vasiliya Kril, Beate M. Kümmerer, Athena Labeau, Alexis Brugier, Etienne Simon-Loriere, Julien Burlaud-Gaillard, Cécile Doyen, Laura Pezzi, Thibaud Goupil, Sophia Rafasse, Pierre-Olivier Vidalain, Anne Bertrand Legout, Lucie Gueneau, Raul Juntas-Morales, Rabah Ben Yaou, Gisèle Bonne, Xavier de Lamballerie, Monsef Benkirane, Philippe Roingear, Constance Delaugerre, Marc Lecuit, Ali Amara

¹ *Biologie cellulaire des infections virales, INSERM-U944, UMR7212, Hôpital St Louis, Paris, France*

Le virus chikungunya (CHIKV) est un *Togaviridae* du genre Alphavirus, transmis à l'homme par des moustiques du genre *Aedes* infectés. Ce virus est l'agent étiologique de la maladie arbovirale chikungunya qui se caractérise par une forte fièvre, un état grippal et des arthralgies sévères invalidantes pouvant persister plusieurs mois. Depuis 10 ans, ce virus originaire d'Afrique est responsable d'épidémies en Asie du sud-est, dans les caraïbes, des pays d'Amérique latine, ainsi que dans l'Océan Indien, notamment sur l'île de la Réunion. En absence de vaccin et de traitements antiviraux efficaces, ce virus représente un problème majeur de santé publique. Malgré de nombreuses études, les facteurs cellulaires essentiels au cycle infectieux de CHIKV restent peu connus, entravant le développement de nouvelles thérapies antivirales. En utilisant une approche de crible génétique CRISPR-Cas9 dans des cellules haploïdes HAP1, nous avons identifié la protéine FHL1 comme un facteur cellulaire crucial pour la permissivité et la pathogénèse de CHIKV chez l'homme et la souris. L'ablation de l'expression de FHL1 confère une résistance à l'infection par CHIKV et le virus O'nyong-nyong, mais n'affecte pas l'infection par les autres alphavirus. Réciproquement, l'expression ectopique de FHL1 dans des cellules faiblement permissives et ne l'exprimant pas, augmente l'infection par CHIKV. Nos résultats mettent en évidence que l'interaction directe entre FHL1 et le domaine HVD de la protéine non structurale nsP3 est essentiel au rôle proviral que joue FHL1 lors de la réplication virale. Nos résultats montrent aussi que des patients atteints de la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifus, qui résulte d'une mutation dans le gène *FHL1* responsable de la dégradation de la protéine, sont résistants à l'infection par CHIKV. Enfin, dans un modèle de souris KO pour le gène *Fhl1*, nous avons démontré que contrairement aux souris qui expriment FHL1, ces souris ne développaient pas de maladie et qu'aucune réplication virale n'était détectable dans les tissus musculaires et les articulations. En conclusion, nous montrons que FHL1 est un facteur cellulaire essentiel pour la réplication et la pathogénèse de CHIKV, et identifions l'interaction entre FHL1 et nsP3 comme une cible thérapeutique prometteuse pour le développement de thérapies antivirales.

Références :

1. Meertens L, et al. (In Press) FHL1 is a major host factor for chikungunya virus infection. *Nature*

Physiopathologie des infections par les virus émergents (*en association avec l'ASM*)**SP4.6-O2****Zika virus enhances monocyte adhesion and transmigration favoring viral dissemination to neural cells**

Nilda Vanesa Ayala Nunez¹ (vanesa.ayala@irim.cnrs.fr), Gautier Follain², François Delalande³, Aurélie Hirschler³, Emma Partiot¹, Gillian L. Hale⁴, Brigid C. Bollweg⁵, Judith Roels⁶, Maxime Chazal⁷, Florian Bakoa⁷, Margot Carocci⁸, Sandrine Bourdoulous⁹, Orestis Faklaris¹⁰, Sherif R. Zaki⁴, Anita Eckly⁸, Béatrice Uring-Lambert¹¹, Frédéric Doussau¹², Sarah Cianferani³, Christine Carapito³, Frank M.J. Jacobs⁶, Nolwenn Jouvenet⁷, Jacky G. Goetz², Raphael Gaudin¹

¹IRIM-CNRS, Montpellier, France

²INSERM U1109 and FMTS, Strasbourg, France

³LSMBO, IPHC, Strasbourg, France

⁴NCEZID, CDC, Atlanta, États-Unis

⁵NCEZID, CDC, Montpellier, France

⁶University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas

⁷Institut Pasteur, Paris, France

⁸EFS Grand Est, Strasbourg, France

⁹Institut Cochin, Paris, France

¹⁰MRI Core Facility, Montpellier, France

¹¹Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

¹²INCI, Strasbourg, France

Introduction and objectives:

Zika virus (ZIKV) invades and persists in the central nervous system (CNS), causing severe neurological diseases. However, the virus journey, from the bloodstream to tissues through a mature endothelium, remains unclear. Here, we aimed to unravel how ZIKV crosses the blood-brain barrier (BBB) to reach the CNS.

Materials and methods:

We showed that ZIKV-infected monocytes represent suitable carriers for viral dissemination to the CNS using human primary monocytes, cerebral organoids derived from embryonic stem cells, organotypic mouse cerebellar slices, a xenotypic human-zebrafish model, and human fetus brain samples.

Results, discussion and conclusions:

We found that ZIKV-exposed monocytes exhibit higher expression of adhesion molecules, and higher abilities to attach onto the vessel wall and transmigrate across endothelia. This phenotype is associated to enhanced monocyte-mediated ZIKV dissemination to neural cells. Together, our data show that ZIKV manipulates the monocyte adhesive properties and enhances monocyte transmigration and viral dissemination to neural cells. Monocytes transmigration may represent an important mechanism required for viral tissue invasion and persistence that could be specifically targeted for therapeutic intervention.

Mots clés : Zika virus - blood-brain barrier - transmigration - Trojan horse - dissemination.

Physiopathologie des infections par les virus émergents (*en association avec l'ASM*)**SP4.6-O3****Comment le virus ZIKA induit des microcéphalies**

Laurent Nguyen (languyen@uliege.be)

GIGA-Stem cells, Université de Liège, Liège, Belgique

Il existe un lien de causalité entre l'infection par le virus Zika (ZIKV) pendant la grossesse et la microcéphalie congénitale. Toutefois, le mécanisme de la microcéphalie associée à l'infection par ZIKV n'est pas connu. Afin d'élucider ce mécanisme, nous avons combiné l'analyse d'échantillons cérébraux de fœtus humains infectés par ZIKV et de cellules souches neurales humaines en culture avec l'étude d'embryons murins *in vivo*. Après l'inoculation intracérébrale ou intraplacentaire de ZIKV dans les embryons de souris, nous démontrons que ce virus induit du stress du réticulum endoplasmique dans les cerveaux embryonnaires murins. Cela perturbe la réponse physiologique de repliement des protéines (unfolded protein response) qui contrôle la neurogénèse dans les progéniteurs corticaux. Ainsi, les progéniteurs infectés par le ZIKV génèrent moins de neurones de projection et ceux qui s'installent dans la partie mature du cortex cérébral sont éliminés en grande partie par apoptose. De plus, nous démontrons que l'administration d'inhibiteurs pharmacologiques de l'UPR prévient la microcéphalie dans les embryons de souris infectés par le ZIKV. Ces défauts sont spécifiques au ZIKV car ils n'ont pas été observés lors de l'injection intraplacentaire par d'autres flavivirus chez les souris.

Mots clés : ZIKA - Cortex cérébral - souris - UPR - ER stress.

Physiopathologie des infections par les virus émergents (*en association avec l'ASM*)**SP4.6-O4****Le virus Usutu : une nouvelle menace ?**

Yannick Simonin (yannick.simonin@umontpellier.fr)

Université de Montpellier, Montpellier, France

Le virus Usutu est un virus émergent. Très proche du virus West Nile ou encore de celui de l'encéphalite japonaise, cet arbovirus, transmis par des moustiques, s'est propagé au cours des vingt dernières années sur une grande partie du continent européen, notamment en France, provoquant des mortalités importantes dans les populations aviaires. L'infection humaine est probablement le plus souvent asymptomatique, néanmoins plusieurs cas de complications neurologiques telles que des encéphalites ou des méningo-encéphalites ont été décrits récemment. L'histoire récente de flambées épidémiques d'autres arboviroses invite ainsi la communauté scientifique à la vigilance d'autant plus que les connaissances concernant la physiopathologie de ce virus émergent sont, pour l'heure, très sommaires.

Physiopathologie des infections par les virus émergents (*en association avec l'ASM*)**SP4.6-1****Ebola, géographie d'un virus. Enjeux socio-spatiaux en Afrique Centrale : Perspectives pour l'Afrique de l'Ouest**

Dr Jean Paul Ilunga Mulaja¹ (equinterdc@gmail.com), Infirmière Nadège Esangowale Yangala²

¹Réglementation sanitaire internationale, Equilibre international, Kabinda, RDCongo

²Prévention et contrôle de l'infection, OMS, GOMA, RDCongo

L'épidémie qui a sévit en Afrique de l'Ouest depuis plus d'un an a fait, à la date du 2015, près de 25 791 cas et 10 689 morts. Au regard des travaux que nous avons menés, dans le cadre d'une recherche, sur les facteurs anthropiques d'émergence et de diffusion de la Fièvre hémorragique à virus Ebola – FHVE –, nous souhaitons ici éclairer les processus qui participent à faire de ces épidémies des crises sanitaires aiguës, bien que ces dernières soient avant tout des crises sociales.

Nous avons souligné dans notre recherche que les rapports Nord-Sud mondialisés sont particulièrement mis en exergue lors de ces crises, illustrant comment la lutte contre l'épidémie et la gestion de la crise peuvent induire des ruptures de communication qui participent à la contestation des plus démunis et à la reconfiguration durable des territoires après la crise.

On souhaite dans ce texte mettre en avant les enseignements tirés des épidémies passées, trop peu pris en compte par les acteurs de la lutte contre l'épidémie actuelle, pour souligner les récurrences des processus sociaux à l'œuvre dans toute épidémie de FHVE, quel qu'en soit son contexte.

Mots clés : Ebola - mondialisation - crise sanitaire - crise sociale - inégalités.

Références :

1. WHO, 2015, Ebola Situation Report, 21 January 2015.
2. NIANG, C.I., BOIRO, H., NDIONE, M-S., 2015, Note de synthèse ; Quelques résultats et recommandations préliminaires de la recherche socio-anthropologique sur l'épidémie de la MVE dans la préfecture de Dubreka.
3. JEFFS B., RODDY P. & al., 2007, « The Médecins Sans Frontières Intervention in the Marburg Hemorrhagic Fever Epidemic, Uige, Angola, 2005, I. Lessons Learned in the Hospital », *Journal of Infectious Diseases*, 196 (suppl. 2), (p.154-61).

Phages et phagothérapie : renaissance d'une discipline (*en association avec le GREPI*)**SP4.7-O1****Molecular basis of an old trick: the phage-antibiotic synergism**

Mireille Ansaldi¹ (ansaldi@imm.cnrs.fr), Irina Papukashvili^{1,2}

¹Laboratoire de Chimie Bactérienne, CNRS Aix-Marseille Université, Marseille, France

²Faculty of Exact and Natural Sciences, Tbilisi State University, Tbilisi, Géorgie

Although first observed in the 1970, the synergy between phage and antibiotics has been poorly studied for decades. Now that antibioresistance has become a major threat and that phage therapy comes back to the front scene in countries where it has not been used since the end of the Second World War, more studies are undergone encompassing various aspects of the question. In this work, we tested several classes of antibiotics and phages, both used at sub-lethal concentrations, and observed that synergy can occur with different classes of antibiotics and different phages, without following a clear pattern that would allow prediction of the synergistic effect. Among those tested, only ampicillin acts synergistically with all tested phages. As sub-lethal concentrations of antibiotics can induce increased mutagenesis, we measured mutagenesis rates in the presence of both phages and antibiotics. Interestingly, under synergistic conditions the mutagenesis was reduced in the surviving population. We propose a mechanism to explain synergy in the presence of beta-lactams in line with their effect at low concentration.

Mots clés : bacteriophage - antibiotics - synergy - adaptation - mutagenesis.

Phages et phagothérapie : renaissance d'une discipline (en association avec le GREPI)**SP4.7-O2****La phagothérapie pulmonaire : de l'expérimental à la clinique**

Laurent Debarbieux (laurent.debarbieux@pasteur.fr)

Groupe Interactions Bactériophages Bactéries chez l'Animal, Département de Microbiologie, Institut Pasteur, Paris, France

Les infections bactériennes des voies respiratoires sont une cause majeure de mortalité qui est actuellement exacerbée par le problème de l'antibiorésistance. La phagothérapie, l'utilisation de bactériophages, virus infectant les bactéries, est un traitement qui peut apporter une solution, indépendamment du niveau de résistance des bactéries aux antibiotiques.

Au cours des 15 dernières années notre équipe a apporté les évidences expérimentales afin de permettre une meilleure appréhension et compréhension de la phagothérapie pulmonaire. Nous avons débuté nos études en isolant et caractérisant plusieurs bactériophages virulents ciblant les pathogènes *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. L'utilisation de ces bactériophages dans des modèles in vitro et in vivo a permis de confirmer à la fois leur innocuité et leur efficacité. Récemment, nous avons révélé que la réponse immunitaire et les bactériophages agissent en synergie au cours d'un traitement de pneumonie aigüe chez l'animal. Nous avons aussi montré que l'efficacité des bactériophages est aussi importante que celle obtenue par un traitement antibiotique de référence, avec une rapidité accrue et pour une intervention moindre.

Le traitement compassionnel par bactériophages d'une jeune patiente transplantée pulmonaire atteinte de mucoviscidose et dont l'infection à *Mycobacterium abscessus* était intraitable par des antibiotiques, démontre le bénéfice qu'un tel traitement peut apporter aux patients. Le challenge pour les prochaines années sera de sortir la phagothérapie du traitement de dernier recours pour qu'elle soit déployée plus rapidement au bénéfice des patients.

Phages et phagothérapie : renaissance d'une discipline (en association avec le GREPI)**SP4.7-1****Étude pharmacocinétique / pharmacodynamique de la phagothérapie chez l'animal : vers la généralisation d'une pratique confidentielle**

Raphaëlle Delattre^{1, 2, 3} (raphaelle.delattre1@pasteur.fr), Baptiste Gaborieau⁴, Thu-Thuy Nguyen², Jérémie Guedj², Jean-Damien Ricard^{2, 4}, Laurent Debarbieux¹

¹Groupe IBBA, Unité BMGE, Institut Pasteur, Paris, France

²IAME, Inserm, Paris, France

³Anesthésie-réanimation, Hôpital Beaujon, Clichy, France

⁴Service de réanimation, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France

La phagothérapie est une réponse possible à l'émergence de bactéries multi-résistantes. Bien que connue depuis un siècle, elle n'est néanmoins réservée qu'aux situations compassionnelles. Le déploiement de cette thérapeutique à de larges cohortes de patients est freiné par des réserves concernant l'efficacité et la sécurité d'administration des bactériophages chez l'Homme.

Au laboratoire, nous travaillons depuis une décennie sur des bactériophages isolés à partir de souches cliniques d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas aeruginosa*. Dans un modèle d'infection pulmonaire chez la souris nous avons pu attester de l'efficacité de la phagothérapie par l'utilisation de souches bioluminescentes. Des travaux ont ensuite été menés pour attester de la sécurité d'utilisation des bactériophages, en comparant d'une part le relargage d'endotoxines par les bactéries *in vitro* au décours d'un traitement par antibiotiques et par bactériophages, et d'autre part en quantifiant *in vivo* la réponse inflammatoire secondaire à un traitement par bactériophages.

Aujourd'hui, nous nous intéressons aux paramètres pharmacocinétiques / pharmacodynamiques (PK/PD) de la phagothérapie. Nous menons des études de pharmacocinétique chez l'animal sain de différents bactériophages de *P. aeruginosa* et *E.coli* qui sont administrés par voie intraveineuse ou intratrachéale. Les bactériophages sont comptabilisés au cours du temps dans différents compartiments de l'organisme. Ensuite, chez l'animal atteint de pneumonie traité par bactériophages nous étudions la répartition des bactéries, par acquisition de la bioluminescence, et des bactériophages dans les organes à différents temps. Nous confrontons enfin les modèles mathématiques établis *in vitro* de l'interaction bactériophage-bactérie aux données obtenues dans les poumons de souris.

L'enjeu de cette recherche est de pouvoir fournir un modèle PK/PD aux cliniciens qui permettra de décider d'une posologie et voie d'administration pour une infection donnée avec une efficacité optimale.

Mots clés : phagothérapie - pneumonie - modèle animal - PK/PD.

Phages et phagothérapie : renaissance d'une discipline (en association avec le GREPI)**SP4.7-2****Therapeutic innovation in bone and joint infections: Evaluation of the activity of Lysin CF-301 on clinical strains belonging to *Staphylococcus epidermidis* species**

Aubin Souche^{1,2} (aubin.souche@chu-lyon.fr), Camille Kolenda^{1,2}, Céline Dupieux-Chabert^{1,2}, Alan Diot¹, Raymond Schuch³, Tristant Ferry^{1,4,5}, Frédéric Laurent^{1,2,5}, Jérôme Josse¹

¹Equipe Pathogénie des Staphylocoques, CIRI, Lyon, France

²Institut des Agents Infectieux, HCL, Lyon, France

³ContraFect Corporation, New York, États-Unis

⁴Service des Maladies Infectieuses, HCL, Lyon, France

⁵CRIOAC, HCL, Lyon, France

Background:

Staphylococcus epidermidis (SE) is one of the main pathogens responsible for bone and joint infections (BJI) and is more prevalent in case of prosthetic material infections. Although not highly virulent, SE can be involved in chronic infections because of its ability to form biofilm, which protects bacteria from antibiotics and host immune cells and plays a key role in therapeutic failures. Moreover, the prevalence of antimicrobial resistance in SE strains is worrisome. In this context, the development of additional or alternative therapies for antibiotics targeting the biofilm is a priority.

Methods:

The objective of this study was to evaluate, *in vitro*, the activity of phage lysin CF-301 on biofilms formed by a panel (n=19) of SE clinical strains responsible for BJI. We determined the remaining viable inoculum inside biofilm (plating counting) and the biomass (crystal violet staining) after 24h of exposition to different concentrations of CF-301. The effect of CF-301 was compared to that of antibiotics currently used to treat BJI at different concentrations (rifampin, vancomycin, daptomycin) and we assessed if synergistic effects could be observed when combining CF-301 with these antibiotics.

Results:

Our results demonstrate that CF-301 had a significant anti-biomass effect against SE biofilms from the concentration of 0.5 mg/L of CF-301, with a decrease in biomass of up to 90% with the concentration of 150 mg/L. A bactericidal effect on biofilm was also highlighted from the concentration of 50 mg/L, however this effect was heterogeneous among the tested strains. Synergistic effects for the association with rifampin and daptomycin were observed using low CF301 concentrations (5mg/L).

Conclusion:

CF-301 appears as a promising adjuvant therapy for rifampin and daptomycin in the context of BJI. Further studies are needed to understand the mechanism of action on SE biofilm and the heterogeneity of strain behavior.

Mots clés : Lysin CF-301 - *Staphylococcus epidermidis* - Biofilm - Antibiotics.

Place des virus et des bactériophages dans la chaîne alimentaire

SP2.5-O1

Caractérisation et modélisation des populations de bactériophages de la croûte de fromages (type époisses) sous différentes conditions environnementales d'affinage

Stéphane Chaillou¹ (stephane.chaillou@inra.fr), Eric Dugat-Bony², Marie-Agnès Petit¹

¹UMR1319 MICALIS, INRA. Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, France

²GMFA, INRA, Université Paris-Saclay, Thiverval-Grignon, France

Introduction et objectifs : Les bactériophages sont toujours présents dans les écosystèmes microbiens et contribuent à leur fonctionnement par la régulation des populations à travers la prédation et la lyse cellulaire. Toutefois, leur rôle dans les écosystèmes ou l'aliment est solide reste relativement inconnu. Par ailleurs l'assemblage et la caractérisation des génomes de phages à partir de données métagénomiques (*i.e.* métaviromes) reste un challenge en raison de leur forte plasticité. Nos travaux ont eu pour objectif de proposer une démarche analytique afin d'une part, d'améliorer la caractérisation des génomes de phages à partir de données complexes de métaviromes et d'autre part de corrélérer ces phages avec leur hôte bactérien putatif en utilisant comme modèle la croûte de l'Epoisses comme modèle.

Matériels et Méthodes : Un plan d'expériences composite centré a été élaboré pour faire varier deux facteurs abiotiques : la température d'affinage et le taux d'oxygène. Ce design représentait neuf conditions d'affinage différentes, choisies spécifiquement afin de faire varier les populations naturelles de bactéries et de levure et, par conséquent les populations virales qui pouvaient co-évoluer avec ces populations. La structure de ces communautés a été analysé par des approches de métagénomique pour les bactéries et les levures (en ciblant le gène *gyrB* et la région ITS2, respectivement), et par métagénomique shotgun pour les phages après extraction des particules virales de la matrice fromagère. La variance dans la population des phages a été utilisée comme critère d'assemblage des génomes de phages à partir des données du métavirome.

Résultats, discussion et conclusion : Nos résultats démontrent que les deux facteurs abiotiques induisent d'importants changements structuraux dans la population bactérienne et phagique. Grâce à ces corrélations, nous avons pu établir des co-abondances ou au contraire de co-exclusion entre certains clusters phagiques et certaines espèces. Ainsi nous avons pu modéliser certaines relations entre l'espèce *Lactococcus lactis* et un phage virulent de la famille 936, mais également d'assigner des relations phage-hôte entre des clusters de phages inconnus et certaines espèces majoritaires de la croûte de l'Epoisses. Notre stratégie apparait donc comme prometteuse pour mieux analyser et comprendre les métaviromes dans les écosystèmes complexes comme les aliments fermentés.

Mots clés : Modélisation - Ecologie Microbienne - Metavirome - Phage - Fromage.

Place des virus et des bactériophages dans la chaîne alimentaire

SP2.5-1

Contamination de l'eau par des virus entériques infectieux : influence des interactions avec la matière organique sur la stabilité et l'inactivation des virus

Sebastien Wurtzer¹ (sebastien.wurtzer@eaudeparis.fr), Prunelle Waldman¹, Laurent Moulin¹, Françoise Lucas²

¹Eau de Paris, Ivry-sur-Seine, France

²LEESU, Créteil, France

Les virus entériques sont responsables d'une part importante des maladies à transmission hydrique. Leur suivi dans les eaux est nécessaire, même si aucune réglementation ne l'impose. L'efficacité des traitements de désinfection est bien décrite. Toutefois, ces résultats ont généralement été obtenus en utilisant des virus purifiés ou des substituts en laboratoire. Or les virus circulant dans un réseau d'eau ou dans l'environnement sont susceptibles d'interagir avec de nombreux composants, parmi lesquels les bactéries planctoniques ou sessiles. Ces interactions pourraient jouer sur la stabilité et la sensibilité aux traitements de désinfection. L'influence de ces composés sur la persistance des virus dans l'eau n'a jamais été évaluée. Dans cette communication, nous envisageons une revue de la contamination dans différentes ressources hydriques (eau de surface/eau souterraine) par des virus entériques, mais également dans l'eau produite.

Une étude de l'interaction de certains virus avec des composants organiques pouvant affecter l'inactivation des virus a été réalisée. Ces interactions semblent jouer un rôle important et être médiées par des protéines de capsid même si plus d'investigations sont nécessaires pour mieux décrire les différents facteurs favorisant la stabilité des virus dans l'eau. Nous avons tenté d'identifier des composants impliqués dans la stabilisation des particules virales et d'explorer les régions de la capsid impliquées dans ces interactions.

Différents composants environnementaux, provenant de bactéries ou de biofilms, ont été testés pour leur capacité à stabiliser thermiquement la particule virale. Deux approches complémentaires ont été utilisées basées sur la culture des virus et l'intégrité des capsides. L'agrégation des particules virales en présence de ces composants a été visualisée par microscopie électronique à transmission. Une analyse du polymorphisme des sous-populations sélectionnées par des procédés d'inactivation est en cours de réalisation. La compréhension des interactions des virus avec leur environnement est essentielle pour appréhender la stabilité et le devenir des virus soumis à un procédé de désinfection et finalement leur capacité à infecter de nouveaux hôtes. L'influence de l'agrégation des virus sur l'inactivation virale est relativement bien documentée, mais les interactions entre les virus et la matière organique pourraient largement modifier la gestion du risque viral par le traitement de l'eau.

Mots clés : virus entérique - eau - inactivation - matière organique - stabilité.

Références :

1. Waldman P, Meseguer A, Lucas F, Moulin L, Wurtzer S. 2017, Environ Sci Technol. Dec 5;51(23):13633-13640.
2. Robinson CM, Jesudhasan PR, Pfeiffer JK. 2014, Cell Host Microbe. Jan 15;15(1):36-46.

Place des virus et des bactériophages dans la chaîne alimentaire

SP2.5-2

***Salmonella* phage diversity in French dairy farms and their potential as biocontrol agents**

Nathalie Desmasures (nathalie.desmasures@unicaen.fr), Virginie Lelièvre, Alexandra Besnard, Margot Schlusshuber, Marion Dalmasso

UNICAEN, UNIROUEN, EA 4651 ABTE, Normandie Université, Caen, France

Introduction and objectives:

Controlling the presence of pathogenic bacteria, such as *Salmonella* sp., along the food chain is a burning issue in the production of dairy products. *Salmonella* sp. is recurrently found in the dairy farm environment, and can thus cross-contaminates unpasteurized dairy products through raw milk. Bacteriophages (phages) are bacterial viruses that can attack and kill a target bacterium within minutes of infection. They have proven to be promising *Salmonella* biocontrol agents in many food matrixes. Surprisingly, their use in dairy products is not well documented¹. The aim of the present work was to investigate the diversity of anti-*Salmonella* phages on French dairy farms from the Normandy region, and to characterize them as potential biocontrol agents for future applications in dairy products.

Materials and methods:

Samples from farm environment (bovine feeds, feces, water, etc.) and raw milk were collected and screened for the presence of phages against *S. Mbandaka*, *S. Dublin* and *S. Montevideo*, the three main serovars found in Normandy. The isolated phages were characterized for their host range, their morphology, and for their genome organization. The most promising phages were also tested in cocktails in dairy models to assess their biocontrol potential towards *Salmonella*.

Results, discussion and conclusion:

A total of 99 phages were isolated from 117 samples collected in 66 dairy farms with a history of *Salmonella* occurrence, and in 51 farms in which *Salmonella* was never found. These 99 phages could be clustered into 28 profiles based on their host range and DNA restriction patterns. Twelve of them, all belonging to the *Podoviridae* family, were especially investigated for their potential as biocontrol agents of *Salmonella* in dairy models. This work represents a comprehensive study of *Salmonella* phage diversity on Normandy dairy farms. Our data suggest that *Salmonella* phages are common in the dairy farm environment. Thus, samples collected on dairy farms may provide good sources for isolation of diverse *Salmonella* phages with a potential to be used for the development of novel *Salmonella* detection and control strategies. The phage isolates described here also represent a valuable resource for further taxonomic and genomic studies of *Salmonella* bacteriophages.

Mots clés : phage - biocontrol - dairy products - *Salmonella*.

Références :

1. LeLievre, V., Besnard, A., Schlusshuber, M., Desmasures, N. & Dalmasso, M, 2019, Phages for biocontrol in foods: What opportunities for *Salmonella* sp. control along the dairy food chain? *Food Microbiol.* 78, 89–98.

Place des virus et des bactériophages dans la chaîne alimentaire

SP2.5-3

Comment répondre aux défis de la phagothérapie en élevage aquacole ?

Antoine Culot (a.culot@hotmail.fr), Michel Gautier

INRA UMR STLO, Agrocampus Ouest, Rennes, France

Avec la nécessité de nourrir une population humaine estimée à 9,2 milliards en 2050 [1], les secteurs de l'élevage dont l'aquaculture ont besoin d'une alternative aux antibiotiques dont ils étaient historiquement fortement dépendants. Parmi les options envisagées pour répondre à cette demande, les bactériophages semblent apporter une réponse prometteuse : leur abondance, leur efficacité ainsi que leur spécificité sont autant d'arguments stimulant l'intérêt qu'ils suscitent. Le milieu aqueux est de plus avantageux pour la phagothérapie puisqu'il favorise la rencontre entre le virus et son hôte. De nombreux produits à base de phages et à destination des industries agricoles et agroalimentaires émergent, tels que le phage anti *Listeria monocytogenes* P100.

Cependant ces virus ne présentent pas que des avantages puisque leur utilisation en élevage peut avoir des conséquences écologiques via la perturbation des écosystèmes microbiens, la diffusion incontrôlée de gènes de résistance aux antibiotiques ou de pathogénicité. Les bactériophages favorisent également la propagation de résistances chez leurs hôtes et doivent donc être utilisés avec précaution [2]. Excepté chez certains pays, ces antimicrobiens viraux ne rentrent dans aucune définition réglementaire et leur utilisation n'est donc pas autorisée en élevage (ni en tant qu'additif alimentaire ni en tant que traitement curatif) [3]. Enfin pour parvenir à les utiliser dans un cadre industriel, il est important de s'assurer une production sans danger. Ces problématiques sont similaires pour une utilisation des phages à but sanitaire lors de la transformation des aliments.

Plusieurs leviers d'actions peuvent être envisagés pour répondre à certaines de ces limites : les phages peuvent être associés en cocktails ou combinés avec d'autres actifs afin d'augmenter leur efficacité et limiter le développement de résistances. Il est également possible de les sélectionner ou d'effectuer des modifications génétiques pour éliminer les caractéristiques non désirées. L'utilisation d'enzymes lytiques (holines et endolysines) au lieu de virions complets est une piste permettant la résolution des questions d'échanges de matériel génétique et de réglementation, puisqu'il ne s'agit alors par définition plus de virus. Concernant la production de phages, il est nécessaire d'identifier une souche de propagation non pathogène afin de produire en sécurité.

Mots clés : phagothérapie - élevage - industrie - aquaculture.

Références :

1. Bongaarts J. Human population growth and the demographic transition. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2009 Oct 27;364(1532):2985–90.
2. Gon Choudhury T, Tharabenahalli Nagaraju V, Gita S, Paria A, Parhi J. Advances in Bacteriophage Research for Bacterial Disease Control in Aquaculture. *Rev Fish Sci Aquac.* 2017 Apr 3;25(2):113–25.
3. Verbeken G, Pirnay J-P, Lavigne R, Jennes S, De Vos D, Casteels M, et al. Call for a Dedicated European Legal Framework for Bacteriophage Therapy. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2014 Apr;62(2):117–29.

Microbiote et écosystème : impact de la pollution et du réchauffement climatique

(en association avec L'ARET)

SP3.5-O1

Proliférations de cyanobactéries et microbiote des poissons téléostéens d'eau douce

Sébastien Duperron¹ (sebastien.duperron@mnhn.fr), Sébastien Halary¹, Alison Gallet¹, Hélène Huet², Charlotte Duval¹, Cécile Bernard¹, Benjamin Marie¹

¹UMR7245 MCAM, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, France

²Ecole Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

The effect of toxin-producing cyanobacterial blooms on fish health has been extensively investigated, yet no study to date has evaluated this effect of fish-associated microbiota. Sit at the interface between an organism and its environment, the microbiota is increasingly accounted for in ecotoxicology studies. Because microbiota contributes various functions and services to hosts, including in their nutrition, protection against pathogens and immunity, any alteration may lead to adverse effects on hosts.

In a first effort to document the effect of cyanobacterial blooms on fish microbiota composition, we exposed a model fish, the medaka *Oryzias latipes*, to pure microcystins and to crude extracts of metabolites from cyanobacterial cultures for 28 days in a controlled microcosm setup. Histology approaches were used to estimate the impact of toxins on fish liver and to evaluate the density of bacterial communities present on the gill, skin and gut. Metabarcoding approaches using the 16S rRNA-encoding gene were used to investigate bacterial community composition at the individuals level and test whether distinct treatments lead to significantly different compositions.

Results indicate that fish gut harbor the highest bacterial densities. Gut-associated communities differ from those occurring in the water, and high levels of inter-individual variation occur among individual fishes. Exposure to complex metabolite extracts, rather than pure microcystin, has a significant influence on gut community compositions. One extract leads to an increase in relative abundance of pathogen-related bacteria, while another leads to an increase in relative abundance of likely opportunistic heterotrophic bacteria. Analysis of metabolites present in the two extracts reveals differences between them, and the occurrence of various metabolites with antibacterial effects in addition to microcystins.

Exposure to the two complex extracts apparently leads to dysbiosis [1]. We suggest that compounds present in the cyanobacterial extracts, but not microcystin alone, are responsible for the observed changes in bacterial communities, with possible consequences for overall fish health and fitness. Based on this very simple microcosm setup, we propose a strategy to further explore the effect of naturally-occurring cyanobacterial blooms on fish gut microbiota and associated functions, including toxin degradation and feed efficiency.

Mots clés : symbiosis - gut microbiota - teleost fish - cyanobacterial blooms - aquaculture.

Références :

1. Duperron S, Halary S, Habiballah M, Gallet A, Huet H, Duval C, et al., 2019, Response of fish gut microbiota to toxin-containing cyanobacterial extracts: a microcosm study on the medaka (*Oryzias latipes*). *Environ Sci Technol Lett*;6: 341–347.

Microbiote et écosystème : impact de la pollution et du réchauffement climatique

(en association avec L'ARET)

SP3.5-1

Stratégie d'analyse d'une contamination fécale (bactéries et virus) dans un espace littoral interdit à la baignade : cas de la baie d'Aytré (Charente-Maritime, France)

Méry Ndione¹ (mery.ndione1@univ-lr.fr), Hélène Agogué¹, Tony Agion², Michaël Treilles³, Luc Vacher¹, Hélène Montanié¹

¹LIENSs UMR 7266 - CNRS, Université La Rochelle, La Rochelle, France

²Qualyse, La Rochelle, France

³Qualyse, Champdeniers, France

Introduction et objectifs :

La contamination fécale des écosystèmes côtiers peut avoir des impacts négatifs sur la santé humaine. Ainsi des suivis sanitaires sont effectués conformément à la directive européenne (2006/7/EC) pour évaluer la qualité microbiologique des eaux de baignade en particulier.

Depuis de nombreuses années, la plage d'Aytré (Communauté d'Agglomération de La Rochelle), très fréquentée pour la baignade et les sports nautiques par les résidents et les touristes, a été classée en « qualité insuffisante » et elle est actuellement interdite à la baignade. En effet, les travaux d'aménagement sur ce site (exutoires d'eaux usées...) et sur les marais avoisinants (lagunage des eaux pluviales, parcs ostréicoles) n'ont pas permis de réduire l'intensité des pics de contamination en entérocoques et en *Escherichia coli*. De même, les analyses réalisées depuis plus d'une vingtaine d'années sur la baie d'Aytré et ses environs (port de plaisance, station d'épuration, centre équestre et dortoirs d'oiseaux...) n'ont pas pu déterminer la(s) source(s) de cette pollution.

Les enjeux sanitaires et le rôle prépondérant de cette plage sur l'économie locale ont conduit à rechercher l'origine et le déterminisme spatial et temporel des contaminations fécales constatées au niveau de la baie.

Matériels et méthodes :

Cette étude vise à identifier les sources de la contamination fécale (humaine ou non-humaine) dans la baie d'Aytré par une approche innovante multi indicateurs. Elle est constituée d'outils d'analyses de marqueurs biologiques tels que : des germes pathogènes humains (*E. coli*, entérocoques et norovirus); des cibles spécifiques pour *Microbial Source Tracking* (MST : ARNF-spécifiques, bactéroïdes, CrAssphage) et de marqueurs chimiques comme la caféine et le paracétamol [1,2]. A cela s'ajoutent des modèles de discrimination de l'origine des microorganismes fécaux développés par spectrométrie de masse MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization/Time Of Flight*) pour une caractérisation plus fine de cette contamination.

Résultats et conclusion :

Notre analyse permet de déterminer l'origine humaine et non-humaine de la contamination fécale dans la baie d'Aytré pour mettre en place des stratégies de remédiation efficaces. Les outils développés au cours de cette étude permettront d'améliorer les stratégies de suivi sanitaire des eaux de baignade par l'utilisation de nouveaux indicateurs de qualité microbiologique.

Mots clés : espace littoral - contamination fécale - marqueurs biologiques et chimiques - MALDI-TOF - MST.

Références :

1. Gourmelon M, Caprais MP, Mieszkin S, Marti R, Wéry N, Jardé E, et al. 2010. Development of microbial and chemical MST tools to identify the origin of the faecal pollution in bathing and shellfish harvesting waters in France. *Water Research*. pp. 1–13.
2. Karkman A, Pärnänen K, Larsson DGJ. 2019. Fecal pollution can explain antibiotic resistance gene abundances in anthropogenically impacted environments. *Nature Communications*. pp. 1–8.

Microbiote et écosystème : impact de la pollution et du réchauffement climatique*(en association avec L'ARET)***SP3.5-2****Réponse du microbiote intestinal du poisson medaka (*Oryzias latipes*) exposé à des cyanobactéries productrices de toxines par une approche en microcosmes**

Alison Gallet¹ (alison.gallet@edu.mnhn.fr), Hélène Huet², Charlotte Duval¹, Benjamin Marie¹, Sébastien Duperron^{1,3}

¹UMR7245 MCAM, MNHN-CNRS, Paris, France

²UMR1161 Virologie, ENVA-INRA-ANSES, Maisons-Alfort, France

³Institut Universitaire de France, Paris, France

De nombreuses études ont mis en évidence l'importance de considérer le compartiment microbien, impliqué dans un certain nombre de fonctions essentielles des organismes hôtes. Situé à l'interface entre l'environnement et les organismes hôtes, ce compartiment est également important pour appréhender et comprendre le fonctionnement des écosystèmes. En écotoxicologie, plusieurs travaux ont montrés une grande variété d'effets des stress environnementaux sur les communautés microbiennes et les macro-organismes. A cause du dérèglement climatique et de l'eutrophisation des eaux, des événements de prolifération massive de cyanobactéries, parfois productrices de toxines, se produisent de plus en plus intensivement et fréquemment dans les milieux aquatiques. Bien que les effets de ces toxines sur la santé des poissons soit avérés, encore peu d'études ont pris en compte le compartiment microbien des poissons dans leurs analyses. Dans cette étude, des efflorescences cyanobactériennes de l'espèce *Microcystis aeruginosa*, productrices de toxines et de composés bioactifs, ont été simulées en laboratoire afin d'observer leurs effets potentiels sur la composition des communautés bactériennes intestinales de poissons. Le poisson modèle medaka *Oryzias latipes* a ainsi été exposé en microcosmes pendant 28 jours à différents niveaux d'exposition. Des analyses comparatives de métabarcoding sur le gène codant l'ARNr 16S et de métabolomique sur différents tissus et entre différents individus ont été effectuées afin d'évaluer la diversité des communautés bactériennes intestinales et d'inventorier la diversité des composés bioactifs.

Mots clés : microbiote intestinal - *Microcystis aeruginosa* - ARNr 16S - medaka - métabolomique.

Horizontal gene transfer and the evolution of antibiotic resistance

SP1.9-O1

Plasmid taxonomy and the boundaries of HGT

Fernando de la Cruz (delacruz@unican.es), Redondo Santiago, Fernandez-Lopez Raul, Garcillan-Barcia M Pilar

Instituto de Biomedicina y Biotecnología, Santander, Espagne

Horizontal gene transfer (HGT) drives the spread of antibiotic resistance, virulence and other adaptive genes across bacterial populations. The frequency and extent of HGT largely depends on the host range of the mobile genetic elements mediating these exchanges. Among them, plasmids stand out because of their ability to cross inter-species barriers. Although genomic studies revealed a sheer abundance of plasmids in microbial habitats, their distribution and host range remains poorly characterized. Here, by analyzing plasmid genomic composition and pairwise sequence identity, we obtain a global map of the prokaryotic plasmidome. Within this map, plasmids organize into coherent genomic clusters, akin to plasmid taxonomic units (pTUs). Among the order Enterobacterales, we identified 55 pTUs, 27 of them corresponding to previously known archetypes. The remaining 28 clusters corresponded to novel, largely unexplored pTUs. Each pTU exhibited a characteristic host distribution, organized into a six-grade scale (I-VI), ranging from plasmids restricted to a single host species (grade I), to plasmids distributed through different phyla (grade VI). Overall, results delineated a vast network for genetic exchanges sprawling across many clinically relevant bacterial species.

Mots clés : horizontal gene transfer - plasmid host-range - plasmid network - antibiotic resistance - plasmid taxonomy.

Horizontal gene transfer and the evolution of antibiotic resistance

SP1.9-1

A mechanism for aminoglycosides-mediated SOS induction in *Escherichia coli* that selects for fluoroquinolone resistance

Anamaria Babosan^{1,2} (anamaria.babosan@pasteur.fr), David Skurnik^{3,4,5}, Anaëlle Muggeo^{1,6}, Gerald B. Pier⁵, Fany Reffuveille⁷, Frédéric Klein⁶, Zeynep Baharoglu², Didier Mazel², Thomas Jové⁸, Marie-Cécile Ploy^{8,9}, François Lebreton⁵, Sébastien Vergnolle¹⁰, Christophe de Champs^{1,6}, Thomas Guillard^{1,6}

¹Inserm UMR-S 1250 P3Cell, Reims, France

²Institut Pasteur Paris, Paris, France

³Institut Necker-Enfants Malades, Paris, France

⁴Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

⁵Harvard Medical School, Boston, États-Unis

⁶CHU-Reims, Reims, France

⁷Université de Reims, EA 4691 BiOS, Reims, France

⁸RESINFIT, UMR 1092, Inserm, Limoges, France

⁹CHU-Limoges, Limoges, France

¹⁰CH-Troyes, Troyes, France

Background and aim:

The SOS stress response is a key mechanism by which bacteria respond to DNA damages. Fluoroquinolones (FQ) are known to induce SOS responses in *Escherichia coli*, while aminoglycosides (AG) generally do not do so. We investigated an unexpected SOS transcriptional response inducing expression of the *qnrD* gene carried on the FQ-resistance plasmid pDIJ09-518a, after treatment with sub-inhibitory concentrations of tobramycin (TM) and AG. We further deciphered the mechanism driving AG-mediated SOS induction in *E. coli* carrying pDIJ09-518a.

Methods:

The expression of *qnrD*, *sfiA* and *hmp* transcripts was measured in *E. coli* MG1656 (WT) and its derivatives ($\Delta recA$, $\Delta lexA$ and *lexA*ind3, Δhmp , $\Delta mutT$, $\Delta nsrR$) carrying pDIJ09-518a using the 2- $\Delta\Delta$ CT method after exposure to ciprofloxacin (CIP), mitomycin (MMC) or tobramycin (TM). Nitrosative stress was assessed by intracellular production of NO using DAF-2 DA fluorescence and Griess assay. The minimal inhibitory concentrations (MIC) were determined by E-test strips. The mutant prevention concentrations (MPC) were determined by plating 10¹⁰ CFU for 72h onto agar plates containing increasing FQ concentrations (ofloxacin, ciprofloxacin and levofloxacin).

Results, discussion and conclusion:

In the WT strain harboring pDIJ09-518a, the transcript expression of *qnrD* and *sfiA* increased >2 fold with CIP and TM, compared to the WT strain. No transcript increase was found in the $\Delta recA$ or *lexA*ind3 derivatives. NO production was significantly elevated in *E. coli* carrying pDIJ09-518a in the absence of AG. In WT/pDIJ09-518a overexpressing Hmp after exposure to AG the *sfiA* expression level was not increased. NO formation and *sfiA* transcript expression were decreased in WT/pDIJ09-51a Δ ORF3. *hmp* transcript expression was decreased in WT/pDIJ09-51a Δ ORF4 and. The CIP MPC of *E. coli* ATCC25922/pDIJ09-518a was higher (2 μ g/mL vs 1 μ g/mL) after exposure to AG. Mutants harvested were not susceptible to CIP (MIC 0.38 – 1.5 μ g/mL) and showed mutation in *gyrA* and *parC*. We have shown that the *qnrD*-plasmid carriage leads to the nitric oxide formation and inhibition of the NO detoxification pathway Hmp-dependent. These pathways, together with the exposure to AGs, lead to DNA damages that allow SOS response induction. We showed that AG-mediated SOS induction in *E. coli* promote emergence of fluoroquinolone resistance.

Mots clés : antibiotics resistance - qnrD-plasmid - SOS - aminoglycosides - nitric oxide.

Horizontal gene transfer and the evolution of antibiotic resistance

SP1.9-2

Functional Characterization of Novel Mobile Integrons Gene Cassettes

Thomas Jové¹ (thomas.jove@unilim.fr), Ana Maria Mansilla Merlano¹, Adina Milac², Olivier Barraud¹, Marie-Cécile Ploy¹

¹UMR1092 RESINFIT Université de Limoges, Limoges, France

²Department of Bioinformatics, Institute of Biochemistry of the Romania, Bucharest, Roumanie

Introduction and objectives:

Mobile integrons (MI) are bacterial genetic elements involved in the spread of antibiotic resistance (AR) [1]. Integrons encode a site-specific recombinase called IntI integrase that catalyzes integrations of gene cassettes (GCs) within integrons and their excisions. All GCs carry an *attC* recombination site and most displays a promoterless gene (CDS). To date, 175 AR GCs and 252 GCs of other or unknown functions have been identified within MIs (integrall.bio.ua.pt). With a metagenomic study, we identified 593 novel GCs in MI from effluent samples.

The overall objective of this work was to predict *in silico* the function of these novel GCs and to experimentally determine if they confer resistance to antibiotics.

Material and methods:

We used the IntegronFinder software to verify the structure of *attC* sites of the novel GCs [2]. The presence of CDS was investigated and the corresponding peptides analysed using the NCBI BlastP and CD-Batch Search tools. Selected CDS predicted to confer AR were cloned in *Escherichia coli* MG1656 into a pZA-derivative plasmid under the control of a strong constitutive promoter. Antibiotic susceptibility tests were done according to EUCAST recommendations upon overexpression of these CDS in *E.coli*.

Results, discussion and conclusion:

The presence of a conserved *attC* site was confirmed in 72% of the novel GCs and 60% of the already known MI GCs. Bioinformatic analysis showed four functional groups of novel: ORF-less GCs (n=12), GCs of unknown function GCs (n=441), GCs of predictable function (n=103) and putative novel AR GCs (n=37). The novel AR GCs are related to GCs that confer resistance to aminoglycosides and b-lactams but also to bleomycin which is an unseen activity for MI. Overexpression of a selection of these GCs confirmed the functionality of novel b-lactamases, rifampicin ADP-ribosyltransferase and aminoglycosides acetyltransferases. Expression of another GC resulted in a decreased sensitivity toward bleomycin. We, therefore, unravelled the diversity of structure and functions of environmental MI GCs, which is much larger than in clinical MIs. Besides novel functional AR GCs, most of the novel GCs detected have no predictable function, which could indicate novel AR activities or novel yet to determine roles

Mots clés : integrons - antibiotic resistance - gene cassettes - bioinformatics.

Références :

1. Escudero, J.A., Loot, C., Nivina, A. and Mazel, D. (2015) The Integron: Adaptation On Demand. *Microbiol Spectr*, 3, MDNA3-0019–2014.
2. Cury, J., Jové, T., Touchon, M., Néron, B. and Rocha, E.P. (2016) Identification and analysis of integrons and cassette arrays in bacterial genomes. *Nucleic Acids Res.*, 44, 4539–4550.

Horizontal gene transfer and the evolution of antibiotic resistance

SP1.9-3

Mycoplasma conjugative chromosomal transfer: Influence of the antibiotic on the extent of genome mosaicism

Emilie Dordet-Frisoni¹ (e.dordet-frisoni@envt.fr), Marion Faucher², Eveline Sagne², Eric Baranowski¹, Laurent-Xavier Nouvel², Christine Citti¹

¹IHAP équipe MYC, INRA ENVT, Toulouse, France

²IHAP équipe MYC, ENVT, Toulouse, France

Introduction :

Mycoplasmas are atypical bacteria which main features are the absence of a cell wall and the small size of their genome. Many species are important pathogens for man or animals due to our failure in controlling these infections. Recently, we discovered in *mycoplasma* an unconventional, conjugative chromosomal transfer (MCT)[1] that accelerates AMR acquisition by allowing the concomitant transfer of multiple and dispersed chromosomal mutations. In the *M. agalactiae* (MA) pathogen this phenomenon conferred high-level resistance to enrofloxacin (EnroR). Genomic analyses of EnroR offspring revealed complex mosaic genomes consisting of a blend of parental genomes, with up to 30 chromosomal fragments being inherited [2]. The tremendous genomic diversity observed during this study was unsuspected and prompted us to evaluate whether the nature of the antibiotic pressure can impact the degree of mosaicism observed after MCT.

Methods:

Conjugation experiments were conducted with parental strains in which genes conferring resistance to Tetracycline (TetR) or Gentamicin (GmR) were inserted. Genomes of the resulting transconjugants were fully sequenced and their mosaicism was compared to those of the EnroR transconjugants previously published [2].

Results, discussion and conclusion:

Overall, all transconjugant displayed complex mosaic genomes, with exchanges concerning large DNA blocks containing up to 60 CDSs, but also micro-regions resulting in only few nucleotides changes (SNPs). Data showed that the type of antibiotic selection pressure affects the level of complexity of mosaic genomes. Indeed, the number of recombination events was higher in EnroR transconjugants than in TetR or GmR transconjugants. EnroR progenies contained more than twice donor's fragments as other transconjugants and possessed a high number of donor micro-regions inducing SNPs. In *E. coli*, inhibition of the DNA gyrase by quinolones (such as Enro) was shown to enhance illegitimate recombination and confer a hyper-recombination phenotype [3-4]. Our findings suggest that this may also occur in MA. In this pathogen, the diffusion of AMR via gene or chromosomal mutation transfers is concomitant to the acquisition of multiple chromosomal regions. This finding raises the question of the impact of antibiotic treatments on the acquisition of other unrelated, adaptive factors (virulence, specificity of the host) by "hitchhiking".

Mots clés : Mycoplasma - Horizontal gene transfer - chromosomal conjugative transfer - Fluoroquinolone.

Références :

1. Dordet-Frisoni, E., Sagné, E., Baranowski, E., et al. 2014, Chromosomal transfers in mycoplasmas: when minimal genomes go mobile. *MBio*, 5, e01958.
2. Faucher, M., Nouvel, L.-X., Dordet-Frisoni, E., et al. 2019, Mycoplasmas under experimental antimicrobial selection: The unpredicted contribution of horizontal chromosomal transfer. *PLoS* 53.
3. Ashizawa, Y., Yokochi, T., Ogata, Y., Shobuike, Y., Kato, J., and Ikeda, H. 1999, Mechanism of DNA gyrase-mediated illegitimate recombination: characterization of *Escherichia coli* *gyrA* mutations that confer hyper-recombination phenotype. *J. Mol. Biol.*, 289, 447–58.
4. Ikeda, H., Moriya, K., and Matsumoto, T. 1981, In Vitro Study of Illegitimate Recombination: Involvement of DNA Gyrase. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 45, 399–408.

Horizontal gene transfer and the evolution of antibiotic resistance

SP1.9-4

Clash of the HGT giants: GWAS reveals pervasive inhibition of natural transformation by conjugative elements

Xavier Charpentier (xavier.charpentier@univ-lyon1.fr), Isabelle Durieux, Christophe Ginevra, Laetitia Attaiech, Kévin Picq, Pierre-Alexandre Juan, Sophie Jarraud

Inserm U1111, CIRI, Villeurbanne, France

Natural transformability defines the ability of bacteria to take up exogenous DNA and integrate it in their chromosome. It is the most conserved mechanism of horizontal gene transfer (HGT), widespread in the tree of life. The vast majority of bacterial genomes carry the genes involved in natural transformation, but interestingly close relative of naturally transformable species often appear not competent for natural transformation. In addition, unexplained extensive variations in the natural transformation phenotype have been reported in several species. Why are we seeing these large inter- and intraspecific variations of the phenotype of natural transformation? Heterogeneity of phenotypic trait is common in bacteria, but the underlying cause are often elusive. Here, we addressed this issue by conducting a genome-wide association study (GWAS) on a large panel of isolates of the human pathogen *Legionella pneumophila*. GWAS revealed that the absence of the transformation phenotype is associated with a conjugative plasmid. The plasmid was found to encode an sRNA that silences the genes required for DNA import and recombination. Distinct homologs of this plasmid-encoded sRNA are found in diverse conjugative elements across the *Legionella* genus. In some *Legionella* species, these elements are so common that the species could be mistakenly considered not competent for natural transformation. Thus, conjugative elements inhibiting natural transformation account for both the intra- and interspecific variations of natural transformation in the *Legionella* genus. Generally, conjugative elements could obscure the widespread occurrence of natural transformability in bacteria. Although conjugation and natural transformation are often presented as serving the same function of HGT, our work supports a rampant genetic conflict between these processes.

Mots clés : Natural transformation - conjugation - plasmid - GWAS - sRNA.

Actualités sur les virus respiratoires

SP4.8-O1

Comprendre les mécanismes de la réplication du virus respiratoire syncytial pour identifier des cibles thérapeutiques

Marie-Anne Rameix-Welti (ma.welti@free.fr)

UMR INSERM U1173, UVSQ - APHP, Montigny-le-Bretonneux, France

Les infections par le virus respiratoire syncytial posent un problème de santé publique majeur que ce soit en pédiatrie ou chez les sujets âgés ou fragilisés. Aujourd'hui les seuls antiviraux commercialisés restent la ribavirine, molécule toxique dont l'efficacité est très discutée, et un anticorps monoclonal humanisé utilisé en prévention des formes graves chez les nourrissons à risque avec un rapport bénéfice-risque médiocre. Le développement d'antiviraux dirigés contre le RSV est un champ de recherche actif et ces dernières années ont été marquées par la multiplication des essais cliniques de nouvelles molécules antivirales. Les progrès récents dans la compréhension des mécanismes de multiplication du RSV permettent de cibler des étapes plus variées avec une meilleure précision. Le développement des inhibiteurs d'entrée bénéficie ainsi des derniers travaux sur le fonctionnement de la protéine de fusion. Par ailleurs les avancées dans la compréhension des mécanismes de synthèse des ARN viraux permettent le développement de molécules ciblant les différentes étapes de ces processus.

Mots clés : virus respiratoire syncytial - antiviraux - résistance.

Actualités sur les virus respiratoires

SP4.8-O2

Analyse dynamique de l'épidémie de VRS communautaire et mise en évidence de facteurs de risques associés aux formes graves

Jean-Sébastien Casalegno¹ (jean-sebastien.casalegno@chu-lyon.fr), The VRS Study Group in Lyon², Marine Jourdain², Dominique Ploin³, Blandine Biot³, Antoine Ouziel³, Etienne Javouhey⁴, Olivier Claris⁵, Muriel Doret-Dion⁶, Pascal Gaucherand⁶, Jérôme Massardier⁶, Sandrine Couray-Targe⁷, Florence Myard-Dury⁷, Philippe Vanhems⁸, Delphine Hiliquin⁸, Sylvie Bin⁹, Stephanie Polazzi¹⁰, Antoine Duclos¹⁰, Mehdi Benchaib¹¹, Regine Cartier¹², Florence Morfin¹, Martine Valette¹³, Bruno Lina¹³, Michelle Ottmann¹⁴, Sylvie Fiorini¹⁴, Nathalie Rivat¹⁴, Yahia Mekki¹, Yves Gillet³

¹Laboratoire de Microbiologie, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

²Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

³Urgences Pédiatriques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁴Réanimation pédiatrique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁵Service de Néonatalogie, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁶Service de Gyneco-obstétrique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁷Département d'Information Médicale, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁸Service d'Hygiène, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁹Coordination de la recherche clinique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

¹⁰HESPER, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

¹¹CECOS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

¹²Service de Biochimie, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

¹³CNR Influenza sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

¹⁴Unité Inserm 1111 VIRPATH, Université Lyon 1, Lyon, France

A l'échelle mondiale le VRS représenterait 1/4 des infections respiratoires basses. En France on estime que chaque année c'est 2 à 3% des nourrissons qui sont hospitalisés pour bronchiolite sévère à VRS sur la première année de vie.

Notre objectif est de comprendre la dynamique épidémique et d'identifier les facteurs de risque associés aux formes graves. Pour cela nous avons croisé le registre des naissances des Hospices Civils de Lyon (01/01/2012 au 31/12/2017) avec la base du laboratoire de microbiologie (01/01/2012 au 31/12/2018). Cela nous a permis d'identifier au sein de cette cohorte les enfants hospitalisés avec un VRS confirmé par PCR sur la première année de vie. Cette étude sur données a été réalisée en accord avec le règlement européen sur la protection des données.

Sur la période de l'étude nous avons identifié 594 cas hospitalisés pour bronchiolite confirmé à VRS sur les 3 premiers mois et 877 cas sur la première année de vie au sein d'une cohorte de 55180 enfants vivant dans l'agglomération Lyonnaise. L'incidence d'hospitalisation pour bronchiolite à VRS documentée a été estimée sur les trois premiers mois de vie à 10.9 cas/1000 enfants (IC à 95% 10.0–12.0) et à 15.9 cas/1000 enfants (IC 95% à 15.0–17.0) sur la première année. L'analyse de la dynamique des cas suggère que l'épidémie débute dans les arrondissements les plus peuplés avant de diffuser au centre-ville et à la périphérie. Les analyses unies et multi variées ont permis d'identifier les variables explicatives du risque d'hospitalisation pour les trois premiers mois de vie. Les 4 variables indépendantes identifiées sont la prématurité (avant 37 semaines d'âge gestationnel), la multiparité, et le code postal de résidence des parents. En effet l'incidence d'hospitalisation pour bronchiolite à VRS varie significativement d'un arrondissement à un autre suggérant un impact des facteurs sociaux, de l'environnement et de la densité de population.

Il est important de documenter systématiquement les infections à VRS des enfants hospitalisés pour bronchiolite. L'analyse de ces données hospitalière doit permettre de guider les futures actions de préventions pharmacologiques et non-pharmacologiques.

Mots clés : VRS - Vaccin - Bronchiolite du nourrisson - Pédiatrie - Infections respiratoires Aigues.

Références :

1. Kramer R, Duclos A; VRS study group in Lyon, Lina B, Casalegno JS. Cost and burden of RSV related hospitalisation from 2012 to 2017 in the first year of life in Lyon, France. *Vaccine*. 2018 Oct 29;36(45):6591-6593.

Actualités sur les virus respiratoires

SP4.8-1

Données épidémiologiques et virologiques de la grippe saison 2018-2019

Bruno Lina (bruno.lina@chu-lyon.fr)

CNR des virus respiratoires, Institut des Agents Infectieux des HCL, Lyon, France

L'épidémie de grippe de l'hiver 2018-19 a été marquée par une circulation pratiquement exhaustive de virus de type A entre les semaines 1 et 11, avec une distribution de 2/3 de virus A(H3N2) et 1/3 de virus A(H1N1)pdm09. Cette distribution a été retrouvée aussi bien pour les surveillances communautaires qu'hospitalières. Les virus A(H1N1)pdm09 ont présenté un profil antigénique proche de celui de la composition vaccinale, même si une substitution S183P observée sur la partie HA1 de l'hémagglutinine a été détectée de façon majoritaire, conduisant à un changement de la composition vaccinale pour l'hiver prochain. L'efficacité vaccinale estimée contre cette souche a été de l'ordre de 70%.

Pour le virus A(H3N2), la situation a été plus compliquée du fait de la co-circulation de deux clades génétiques différents, présentant en outre des différences antigéniques significatives (clades 3C.2a1 et 3C.3a). De ce fait, l'efficacité vaccinale globale a été faible vis-à-vis de ces virus, avec des nuances selon que cette efficacité était mesurée pour l'un ou l'autre des clades ; le virus vaccinal appartenant au clade 3C.2a1b.

Selon le rapport de Santé Publique France, 1 864 cas graves de grippe (dont 273 décès) ont été signalés, dont 52% était âgés de 65 ans et plus. Malgré tout, l'âge moyen des cas était de 60 ans et la majorité d'entre eux (86%) présentait des facteurs de risque et une couverture vaccinale de 36%.

L'épidémie de 2018-19 a été considérée comme moyenne d'un point de vue impact communautaire, confirmant l'impact important des virus influenza A(H3N2) et les difficultés à avoir des vaccins efficaces contre ce virus.

Mots clés : influenza virus - virologie - impact.

Actualités sur les virus respiratoires

SP4.8-2

Deux années d'utilisation de la PCR Grippe/VRS aux urgences : retour d'expérience

Inès Rezzoug¹ (inesrg05@gmail.com), Anne Gaele Cauchie¹, Amandine Henry¹, M Koukabi²,
Stéphanie Marque Juillet¹

¹Service de Biologie, Centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

²Service des Urgences, Centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

Introduction :

La mise en place du test GenXpert® (Xpert® Xpress Flu/RSV) aux Urgences a pour but d'améliorer la prise en charge des patients en facilitant leur orientation en période épidémique. Au laboratoire, ces PCR sont réalisées par séries 5 jours sur 7.

Matériels et méthodes :

Etude sur 2 épidémies consécutives (2017-18 et 2018-19) de l'utilisation du GenXpert®. Les paramètres analysés sont le respect des indications définies selon les accords clinico-biologiques, le délai moyen entre l'admission aux urgences et le rendu du résultat de la PCR, avec une attention particulière pour les patients hospitalisés en réanimation, ainsi que l'appréciation de son intérêt pour la prise en charge des patients le week-end en période d'épidémie.

Résultats :

La mise en place d'un automate de PCR en délocalisée engendre des contraintes pour le laboratoire avec notamment la formation de tous les utilisateurs, la mise en place d'une connexion informatique POC, et la gestion documentaire... Sur la période épidémique 2017-2018, 1015 PCR ont été réalisées et 1226 en 2018-2019. Sur ces 2 périodes, les indications définies dans le cadre des accords clinico-biologiques étaient respectées dans 79.5%. Le délai moyen de rendu est de 6.3h et n'est pas influencé par le nombre de tests réalisés par semaine. 42 % des patients ont bénéficié d'une analyse le WE, dont 69% sont rendus en moins de 5h avec une médiane de 4h, contre un délai de 12 à 72h lorsque le diagnostic est réalisé au laboratoire. Pour les patients orientés vers la réanimation (4%), le délai moyen de rendu de la PCR était plus court (4.7h).

Conclusion :

Malgré les contraintes liées à l'accréditation, cette étude met en évidence les bénéfices apportés par la biologie délocalisée dans le délai de rendu des résultats. Bien que le respect des indications de prescriptions des PCR pourrait être amélioré, la recherche de grippe/VRS permet de fluidifier les urgences en améliorant: - l'orientation des patients notamment sur les lits d'aval (PCR grippe souvent exigée pour l'admission). - le délai de rendu, surtout le WE et pour les patients pris en charge en réanimation.

Mots clés : grippe - PCR - biologie délocalisée.

Actualités sur les virus respiratoires

SP4.8-3

Epidémiologie des infections à entérovirus D68 en 2018 : Recrudescence des infections chez l'adulte

Maxime Duval¹ (maxime.duval@uca.fr), Maxime Bisseux^{1,2}, Cécile Henquell^{1,2}, Bruno Pereira³, Jacques-Olivier Bay⁴, Denis Caillot⁵, Denis Gallot⁶, Alexandre Lautrette⁷, Olivier Lesens⁸, Sylvie Montcouquiol⁵, Julien Reconnat⁹, Bertrand Souweine¹⁰, Jean-Luc Bailly^{1,2}, Audrey Mirand^{1,2}

¹LMGE UMR CNRS 6023, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

²Laboratoire de Virologie, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

³Recherche Clinique et Innovation, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

⁴Thérapie cellulaire et hématologie, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

⁵Pneumologie, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

⁶Gynécologie Obstétrique, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

⁷Réanimation médicale, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France

⁸Maladies infectieuses et tropicales, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

⁹Urgences, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

¹⁰Médecine intensive et réanimation, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

Introduction et objectifs :

Depuis 2014, l'entérovirus D68 (EV-D68) est responsable d'épidémies biennales d'infections respiratoires associées à une recrudescence des myélites flasques aiguës. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, ces épidémies représentent un risque de santé publique de par le potentiel épidémique et la neurovirulence de ce virus, qui n'est pas sans rappeler celle du poliovirus. Les épidémies sont associées à différents clades : B1 en 2014 (Europe, USA), B3 en 2016 (Europe, USA), B3 et D1 en 2018 (Europe). En 2018, l'épidémie s'est caractérisée par une recrudescence des cas d'infections chez les adultes. Nos objectifs sont de mieux caractériser les infections à EV-D68 chez l'adulte et de caractériser génétiquement les clades d'EV-D68 ayant circulé en 2018.

Matériels et méthodes :

Depuis juin 2014, tous les échantillons respiratoires des patients vus ou hospitalisés au CHU de Clermont-Ferrand sont testés en RT-PCR Rhinovirus-entérovirus. En cas de positivité, le virus est génotypé et assigné aux différents clades phylogénétiques par séquençage des régions codant les protéines structurales. Les données démographiques et cliniques des patients infectés par un EV-D68 entre 2014 et 2018 ont été collectées rétrospectivement. Le séquençage des génomes complets des EV-D68 a été réalisé par les méthodes Sanger et NGS PacBio à partir des échantillons cliniques.

Résultats, discussion et conclusion :

Entre 2014 et 2018, une infection à EV-D68 a été diagnostiquée chez 71 patients, soit 4,5% des patients pour lesquels un échantillon respiratoire était positif pour un Rhinovirus-EV. Vingt patients (28,1%) étaient des adultes (âge médian:51,5 ans, 23-78 ans) avec une augmentation de la proportion d'adultes entre 2014 et 2018, de 12% (3/25) à 47,8% (11/23). Quatre patients (20%) ont été admis en réanimation. La fréquence des infections à EV-D68/clade D1 était significativement plus importante chez les adultes que chez les enfants (55% vs 13%, $p = 0,001$). L'analyse de 29 génomes viraux complets a permis de répertorier 74 sites d'acides aminés polymorphes, tous clades confondus: 43% des sites (32/74) étaient spécifiques au clade D1 contre 9,5% (7/74) pour le clade B3.

Le polymorphisme génomique du clade D1 pourrait être un facteur de son émergence et de l'augmentation du nombre d'infections chez l'adulte.

Mots clés : infections respiratoires - épidémiologie clinique - épidémiologie moléculaire - séquençage génomique.

Structure and function of microbial envelopes**SP5.4-O1****Structural and Functional Organization of Bacterial Membrane Microdomains assembly**

Daniel Lopez (dlopez@cnb.csic.es)

National Centre for Biotechnology, Madrid, Espagne

Résumé non parvenu.

Structure and function of microbial envelopes

SP5.4-1

Iron acquisition in *Pseudomonas aeruginosa* by the siderophore pyoverdine: an intricate interacting network including periplasmic and membrane proteins

Anne Bonneau^{1,2} (anne.bonneau@etu.unistra.fr), Béatrice Roche^{1,2}, Isabelle Schalk^{1,2}

¹CNRS, UMR7242, ESBS, Illkirch, France

²Université de Strasbourg, UMR7242, ESBS, Illkirch, France

Introduction and objectives:

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic human pathogen causing severe infections in immunocompromised and cystic fibrosis patients. Pyoverdine (PVDI), the main siderophore secreted by *P. aeruginosa*, plays a dual role in the virulence of the bacteria. PVDI acts as an iron chelator and is also a signal molecule involved in the expression of other virulence factors. PVDI is secreted in the extracellular medium and is then taken back to the cell via a mechanism that involved numerous proteins. Here, we focused on the interaction network between the proteins involved in iron release from PVDI.

Methods:

First, we used the bacterial *E. coli* adenylate cyclase two-hybrid system (BACTH) as a high throughput interaction screening. BACTH is based on the interaction-mediated reconstitution of the adenylate cyclase activity in *E. coli*. After the identification of protein-protein interactions, BACTH results were confirmed by biochemical approaches such as purification and pull-down assays.

Results and discussion:

We deciphered a network of five interacting proteins composed of three periplasmic proteins and two membrane proteins, including the reductase FpvG involved in iron reduction. With these data, we proposed the existence of a pentameric complex involved in iron release from PVDI process.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa* - Pyoverdine - Interaction network - Iron.

Structure and function of microbial envelopes

SP5.4-2

R28 N-terminal domain promotes *emm28* Group A *Streptococcus* cell adhesion through direct binding to $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$ and $\alpha 6\beta 4$ integrins

Agnes Fouet¹ (agnes.fouet@inserm.fr), Antonin Weckel¹, Dorian Ahamada¹, Samuel Bellais¹, Céline Méhats², Céline Plainvert³, Magalie Longo¹, Claire Poyart¹

¹Bactéries et Périnatalité, Institut Cohin / Inserm, Paris, France

²Institut Cohin / Inserm, Paris, France

³CNR des Streptocoques, AP-HP / GH Cochin - Hôtel Dieu - Broca, Paris, France

Introduction and aims:

Streptococcus pyogenes, also known as Group A Streptococcus (GAS), is a human specific pathogen responsible for a wide range of diseases, from superficial to life threatening invasive infections, including puerperal fever, and auto-immune sequelae. GAS is responsible for 517,000 deaths annually worldwide [1]. GAS strains express a vast repertoire of virulence factors that varies depending on the strain genotype and many adhesins are restricted to some genotypes [2]. The *emm28* genotype is the first to third most prevalent for invasive infections in Europe and is associated with gynecological-obstetrical infections [3]. Our laboratory is interested in studying at the molecular level the initial steps of GAS invasive infections with, as a model, GAS-elicited endometritis that initiates puerperal fever. R28, a cell-wall anchored surface protein harbored by *emm28* strains, was previously described to promote adhesion to cervical epithelial cells [4]. This study aimed at determining by genetic, cellular and biochemical approaches whether R28 promotes adhesion to other cells and at characterizing its receptor(s).

Material and methods:

Adhesion to various eukaryotic primary or immortalized cells of a wild-type clinical *emm28* isolate and a derived mutant strain was measured as well as those of *Lactococcus lactis* expressing heterologously R28 N-terminal domain, R28_{Nt}, or of R28_{Nt} coated beads. Receptors were identified by pull-down experiments and confirmed by ELISA.

Results, discussion and conclusion:

The human decidua is the puerperal fever portal of entry. An *emm28* clinical isolate deleted of the R28-encoding gene adheres less than the wild-type isolate to primary decidual stromal cells. Moreover, R28_{Nt} promotes bacterial and coated beads adhesion to endometrial epithelial cells. R28_{Nt} has been further subdivided into two domains and both are involved in cell binding. R28_{Nt} binds to the laminin-binding $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$ and $\alpha 6\beta 4$ integrins. Furthermore, R28_{Nt} and both subdomains interact directly with these integrins; interestingly, these bindings do not require the presence of divalent cations. R28 is the first GAS adhesin described to bind directly these integrins that are expressed by most epithelial cells. Finally, R28_{Nt} also promotes binding to keratinocytes and pulmonary epithelial cells, suggesting that it may be involved in the *emm28* genotype prevalence.

Mots clés : Streptococcus pyogenes - infections invasives - interaction bactérie – cellule - adhésine - intégrines.

Références :

1. Carapetis JR, Steer AC, Mulholland EK, Weber M. 2005. The global burden of Group A streptococcal diseases. *Lancet Infect Dis.* 5:685-694.
2. McGregor KF, Spratt BG, Kalia A, Bennett A, Bilek N, Beall B, et al. 2004. Multilocus sequence typing of *Streptococcus pyogenes* representing most known emm types and distinctions among subpopulation genetic structures. *J Bacteriol.* 186:4285-94.
3. Plainvert C, Doloy A, Loubinoux J, Lepoutre A, Collobert G, Touak G, et al. 2012. Invasive Group A streptococcal infections in adults, France (2006-2010). *Clin Microbiol Infect.* 18:702-710.
4. Ståhlhammar-Carlemalm M, Areschoug T, Larsson C, Lindahl G. 1999. The R28 protein of *Streptococcus pyogenes* is related to several group B streptococcal surface proteins, confers protective immunity and promotes binding to human epithelial cells. *Mol Microbiol.* 33:208-19.

Structure and function of microbial envelopes

SP5.4-3

Study of the role of *Escherichia coli* adhesins in bacterial auto-aggregation

Yankel Chekli^{1,2} (yankel.chekli@pasteur.fr), Jean-Marc Ghigo¹, Christophe Beloin¹

¹Unité de génétique des biofilms, Institut Pasteur, Paris, France

²Ecole doctorale Bio Sorbonne Paris Cité, Université Paris Diderot, Paris, France

Introduction and objectives:

Escherichia coli is a versatile bacterium that can behave either as pathogen or commensal. Using cell surface appendages called adhesins, this bacterium is able to colonize a huge diversity of environments. In addition to their adhesion abilities, some of the adhesins expressed by *E. coli*, such as Antigen 43 (Ag43), have self-recognition properties. Thus, they allow the auto-aggregation of bacteria, a key step in biofilms formation. A large number of adhesins encoded in *E. coli* K12 genome have, to date, an unknown role. One hypothesis is that some of these adhesins would have the ability to interact in a homologous and/or heterologous way, thus mediating the aggregation of bacteria with the resulting physiological consequences. This project is part of a study aiming to identify these potential adhesins, to characterize the nature of these interactions and to evaluate the physiological response of *E. coli* upon aggregation.

Results, conclusion and discussion:

Screening of interactions between the 15 adhesins possessed by *E. coli* K12 reveals that only Ag43, and YfaL in the presence of sugar(s), allow auto-aggregation under standard laboratory conditions suggesting that adhesins with such auto-aggregating properties are rare. Ag43 auto-aggregation properties has been extensively studied for more than 30 years now, so it wasn't surprising result. However, nothing was known about YfaL. A more in-depth study of this protein confirmed that it's exposed at the surface of the bacteria. We also observed that the auto-aggregation mediated by YfaL seems to rely on the acidification of the medium when bacteria are grown in the presence of sugar. In addition, Western blot have shown that when bacteria are grown in presence or absence of sugar, the migration pattern of YfaL is different suggesting that the protein behaves differently in the presence of sugars.

This study paves the way for a better understanding of how *E. coli* uses some of these adhesins to promote interactions with its peers and how these interactions affect the behavior of bacteria.

Mots clés : Aggregation - Adhesins - Biofilms - Autotransporteurs - Fimbriae.

Intérêt de la cytométrie en flux en microbiologie (en association avec l'AFC)**SP7.3-O1****Utilisation de la cytométrie pour l'évaluation de la qualité des eaux de consommation et de process**

Karim Helmi (karim.helmi@veolia.com)

Veolia Recherche & Innovation, Maisons-Laffitte, France

Introduction et objectifs :

Le contrôle de la qualité microbiologique de l'eau constitue une problématique majeure en termes sanitaire et économique. L'efficacité des traitements appliqués est actuellement vérifiée par des méthodes standards basées sur la mise en culture des microorganismes. Cependant, leur mise en œuvre ne permet d'obtenir des résultats ne présentant qu'une vision partielle de la population microbienne présente dans un échantillon et ce dans un délai qui n'est pas compatible avec le niveau de réactivité requis dans le domaine de la gestion de l'eau. L'application de la cytométrie en flux pour le suivi microbiologique au sein de filières de production d'eau potable et de circuits de tours aérorefrigérantes représente une approche alternative aux méthodes réglementaires et classiques utilisées dans ce domaine.

Matériels et méthodes :

La démarche de calibration et l'utilisation conjointe de différents marqueurs fluorescents incluant le SYBR Green II, l'iodure de propidium et le Chemchrome V6 a permis la quantification des cellules totales et viables en vue d'être capable d'identifier l'impact de différents traitements chimiques et/ou physiques (ozone, UV, biocides oxydants) au niveau de la cellule microbienne. Trois systèmes de cytométrie en flux différents ont été utilisés selon les études, comprenant le FACSCalibur™, le FACSCanto™ et l'ACCURI™ C6, en comparaison avec les méthodes usuelles (ex : culture).

Résultats, discussion et conclusion :

Au regard des résultats obtenus, il apparaît que la cytométrie en flux représente un atout dans le domaine du diagnostic rapide d'installations de par sa simplicité, son délai de résultat court (1 heure) et le niveau d'information apporté sur la population microbienne (impact sur la membrane, le matériel génétique ou le métabolisme). La cytométrie en flux est actuellement opérationnelle en laboratoire ou sur le terrain en tant qu'outil d'aide à la décision pour le suivi de l'efficacité des différentes étapes de filière de production d'eau potable, le contrôle de l'impact de la désinfection de l'eau circulant dans les circuits de tours aérorefrigérantes lors de l'utilisation de biocides oxydants et la détermination de la dose optimale.

Mots clés : qualité de l'eau - microorganismes - cytométrie en flux - viabilité.

Intérêt de la cytométrie en flux en microbiologie (en association avec l'AFC)

SP7.3-O2

Hétérogénéité de populations au sein de culture en bioréacteur de *Yarrowia lipolytica* soumis à des fluctuations de l'environnement : Quantification de la transition dimorphique et des états physiologiques par cytométrie en Flux

Asma Timoumi¹ (timoumi@insa-toulouse.fr), Stéphane Guillouet¹, Carole Molina-Jouve¹, Luc Fillaudeau², Nathalie Gorret²

¹TBI UMR CNRS 5504 UMR INRA 792, INSA, Toulouse, France

²TBI UMR CNRS 5504 UMR INRA 792, INRA, Toulouse, France

Introduction et objectifs :

En raison de phénomènes de transfert limitant, les bioréacteurs de grandes dimensions sont le siège d'hétérogénéités. Ces phénomènes physiques, assimilés à des stress, interagissent avec le métabolisme microbien au niveau des cinétiques macroscopiques, des évolutions physiologiques, voire des régulations au niveau transcriptionnel. L'objectif de ce travail est l'étude quantitative de l'impact des fluctuations de pH et d'oxygène dissous sur le comportement dynamique de *Yarrowia lipolytica*, une levure avec un potentiel biotechnologique prometteur.

Matériels et méthodes :

Afin d'assurer un lien de cause-à-effet direct entre la perturbation et la réponse observée, des cultures en bioréacteur en conditions d'environnement contrôlé ont été mises en œuvre. Pour permettre la caractérisation des dynamiques microbiennes des cellules dans des états physiologiques différents, deux modes de cultures (batch et chemostat) ont été appliqués. Par ailleurs, un effort important a été consacré au développement des méthodes appropriées pour une caractérisation rigoureuse des évolutions morphologiques. Deux techniques, la cytométrie en flux et la morpho-granulométrie ont été employées. En cytométrie en flux, l'exploitation des signaux FSC (Forward Scatter) et width-FSC permet d'estimer le diamètre et la longueur des cellules, respectivement. Cette technique permet la quantification des distributions des sous-populations en temps réel sur un grand nombre d'évènements (~20000). La morpho-granulométrie, basée sur des observations microscopiques couplée à une analyse automatique d'images, permet en complément la mesure d'autres paramètres morphologiques (aspect ratio "rapport largeur/longueur", circularité, convexité...). En revanche, elle nécessite la conservation des échantillons (à 4°C pendant au moins 24h) et le nombre de cellules analysées est réduit à ~1000 cellules. La cytométrie a été également mise en œuvre pour déterminer l'impact des fluctuations sur l'état physiologique des cellules (perméabilité membranaire/ activité estérasiqque).

Résultats, discussion et conclusion :

Les résultats de cette étude démontrent qu'il n'y a pas d'effet significatif des fluctuations de pH et pO₂ sur le comportement macroscopique (vitesses spécifiques, rendements, viabilité) de la levure. Néanmoins, une transition mycéliale a été induite en réponse aux deux facteurs de stress seulement en conditions d'excès de glucose. Un élargissement de la distribution de la longueur des cellules a été détecté par cytométrie à partir de 0.75g/L de glucose résiduel.

Mots clés : *Yarrowia lipolytica* - Hétérogénéités - Bioréacteur - Cytométrie - Population.

Références :

1. Timoumi A, Guillouet SE, Molina-Jouve C, Fillaudeau L, Gorret N. 2018. Impacts of environmental conditions on product formation and morphology of *Yarrowia lipolytica*. *Appl Microbiol Biotechnol* 102:3831-3848.. doi: 10.1007/s00253-018-8870-3.
2. Timoumi A, Bideaux C, Guillouet SE, Allouche Y, Molina-Jouve C, Fillaudeau L, Gorret N. (2017). Influence of oxygen availability on the metabolism and morphology of *Yarrowia lipolytica*: insights into the impact of glucose levels on dimorphism. *Appl Microbiol Biotechnol* 101:7317-7333.
3. Timoumi A, Cléret M, Bideaux C, Guillouet SE, Allouche Y, Molina-Jouve C, Fillaudeau L, Gorret N (2016). Dynamic behavior of *Yarrowia lipolytica* in response to pH perturbations: dependence of the stress response on the culture mode. *Applied Microbiology and Biotechnology*:1-16 doi:10.1007/s00253-016-7856-2.

Intérêt de la cytométrie en flux en microbiologie (en association avec l'AFC)**SP7.3-1****Mesure de la vitalité des microorganismes par cytométrie en flux**

Marielle Bouix¹ (marielle.bouix@inra.fr), Sarrah Ghorbal¹, Agnès Delacroix-Buchet²

¹GMPA, AgroParisTech, Grignon, France

²INRA, Jouy-en-Josas, France

La culture en boîte de pétri permet d'évaluer la cultivabilité des microorganismes, mais ne donne aucune information sur sa vitalité. La vitalité est associée à la cinétique de croissance ou de production d'un métabolite. Ainsi, des microorganismes viables pourront être très actifs, moyennement actifs, ou peu actifs. Ce critère est essentiel pour les ferments qui une foisensemencés dans leur milieu doivent le coloniser le plus rapidement possible pour éviter le développement des flores indigènes ou de contamination.

La vitalité est généralement évaluée par une mesure cinétique, de croissance, de production de métabolites (acides, gaz,...) ou de consommation d'oxygène suivant les microorganismes. Mais cette mesure nécessite d'effectuer une culture ce qui entraîne un temps de réponse de quelques heures. Plus les cellules sont actives, plus le temps nécessaire pour atteindre une DO (croissance), un pH donné (activité acidifiante), une quantité de CO₂ (activité gazogène), ou une PO₂ donnée (activité respiratoire) est court à nombre de cellules équivalent.

En fait la vitalité est d'autant plus importante que les cellules sont dans un bon état énergétique. La cytométrie en flux va permettre de caractériser cet état énergétique par une mesure de fluorescence. Nous proposons un descripteur cytométrique qui permet de caractériser la vitalité des microorganismes en 30min. Les corrélations sur plusieurs microorganismes sont présentées avec les mesures de temps de latence de re-croissance (*Staphylococcus aureus*), de vitesse d'acidification (*Lactococcus lactis*), de production de CO₂ (*Saccharomyces cerevisiae*), ou de vitesse de consommation d'oxygène (*Yarrowia lipolytica*).

Après la présentation de ces corrélations, un exemple de cinétique d'acidification d'un lait de fromagerie contaminé artificiellement par un *S. aureus* etensemencé soit par un *L. lactis* très actif, soit par un *L. lactis* faiblement actif est présenté.

Cette mesure rapide de vitalité, permet donc de caractériser l'état d'un inoculum avant son ensemencement dans un milieu et ainsi d'optimiser le démarrage des cultures, ou l'état d'une culture en cours de fermentation pour prévoir la cinétique terminale.

Mots clés : Microorganismes - Vitalité - Cytométrie en flux.

Campy fait de la résistance**SP2.6-O1****Culture et PCR : c'est élémentaire**

Philippe Lehours (philippe.lehours@chu-bordeaux.fr)

CHU Pellegrin, Bordeaux, France

Résumé non parvenu.

Campy fait de la résistance

SP2.6-O2

Antibiorésistance de *Campylobacter*, évolution récente

Isabelle Kempf (isabelle.kempf@anses.fr)

Anses, Ploufragan, France

Les volailles restent considérées comme une source majeure de *Campylobacter*, et en particulier de *C. jejuni*, espèce la plus fréquente lors de campylobactérioses digestives chez l'homme. C'est pour cette raison que la surveillance de l'antibiorésistance des *C. jejuni* isolées de volailles de chair arrivant à l'abattoir a été privilégiée en Europe (Directive 2003/99/CE et Décision 2013/652/UE). En France, la collecte des échantillons de caeca de poulets de chair et de dindes de chair est programmée tous les deux ans, et assure un échantillonnage non ciblé aléatoire, représentatif de la production française. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de ciprofloxacine, gentamicine, acide nalidixique, érythromycine, tétracycline et streptomycine des souches isolées sont déterminées selon une méthode de micro-dilution en milieu liquide basée sur la norme CLSI Vet01-A4 (CLSI, 2013). L'interprétation des résultats est réalisée selon les seuils épidémiologiques précisés par EUCAST (<https://mic.eucast.org/Eucast2/>).

En 2018, 63%, 61% et 60% des souches de *C. jejuni* de poulet (n=174) étaient résistantes à la ciprofloxacine, l'acide nalidixique et la tétracycline respectivement. Aucune souche n'était résistante à la gentamicine ou à l'érythromycine et seulement 1,1% des souches étaient résistante à la streptomycine. Pour les souches de dindes (n=183), les pourcentages de résistance étaient pour la ciprofloxacine, l'acide nalidixique et la tétracycline respectivement de 63%, 61% et 54% et la résistance vis-à-vis des macrolides ou de la gentamicine n'était pas détectée.

Ces données seront comparées avec les données de résistance observées pour les souches de volailles, ou isolées d'autres espèces animales, dans les autres pays européens ou pays tiers, ainsi qu'avec les données de résistance des souches humaines françaises ou étrangères [1]. L'évolution de la résistance aux fluoroquinolones en France sera présentée et analysée au regard de la forte diminution de l'exposition des volailles à cette famille d'antibiotiques au cours des dernières années. Enfin les menaces que constituent certains gènes de résistance transférables récemment détectés chez *Campylobacter* (*ermB*) seront évoquées de même que l'évolution prévue des méthodes de surveillance de la résistance [2].

Mots clés : *Campylobacter* - résistance - fluoroquinolones - volailles.

Références :

1. EFSA and ECDC. 2019. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. EFSA J. 17(2):e5598.
2. European Food Safety Authority (EFSA), Aerts M, Battisti A, Hendriksen R, Kempf I, Teale C, et al. 2019. Technical specifications on harmonised monitoring of antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from food-producing animals and food. EFSA J. 17(6) :e5709.

Campy fait de la résistance

SP2.6-O3

Les Campylobacter et l'environnement : des bassins versants au littoral

Michèle Gourmelon (michele.gourmelon@ifremer.fr)

RBE/SGMM/LSEM, Ifremer, Plouzané, France

Les Campylobacters sont des bactéries micro-aérophiles potentiellement pathogènes pour l'Homme. Le réservoir principal de ces bactéries est le tube digestif des oiseaux domestiques tels que la volaille et celui des mammifères (bovins et porcins) pour les espèces *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* et le tube digestif des oiseaux sauvages pour les bactéries du groupe des *Campylobacter lari*.

Par le rejet d'effluents et les déjections animales, ces bactéries se retrouvent dans l'environnement au niveau des rivières, des eaux littorales et des coquillages. Une prévalence de *Campylobacter* spp. de 87,5 % dans les eaux de rivières d'un bassin versant côtier en Bretagne (n=96) et de 39 % dans les coquillages de la zone conchylicole en aval a ainsi été observée (n=120 ; 2013-2015). La distribution des espèces de *Campylobacter* varie selon le type d'échantillon analysé avec l'isolement de bactéries appartenant principalement aux espèces *C. jejuni* (43 %) et *C. coli* (44%) dans les échantillons d'eaux de rivières et au groupe des *C. lari* (92 %) dans les lots de coquillages.

Afin de caractériser et d'identifier une possible origine des *Campylobacter* du groupe des *C. lari* présents dans les coquillages, le séquençage des génomes complets d'une sélection d'isolats provenant de coquillages mais également d'eaux de rivière, de selles humaines et de déjections animales (oiseaux sauvages, chiens ou bovins) a été réalisé.

Les *Campylobacter* isolés de l'environnement (coquillages et eaux de rivière) appartiennent principalement aux sous-espèces *C. lari lari*, *C. lari concheus* et aux *C. lari* UPTC. De plus, nous avons identifié une nouvelle espèce du groupe des *C. lari* dans les eaux de rivières et dans des selles humaines, que nous avons dénommé *C. armoricus*. Une grande diversité des souches a été observée par génotypage MLST, cgMLST (Core Genome Multi Locus Sequence Typing) et l'analyse des SNP (single-nucleotide polymorphism).

Cette étude souligne la forte prévalence des *Campylobacter* dans l'environnement et la dominance de *C. lari* en zones littorales. Les données acquises par le séquençage des génomes complets d'une sélection des souches isolées apportent des éléments essentiels pour une meilleure connaissance de ces bactéries présentes dans l'environnement.

Mots clés : campylobacter - environnement - coquillages - génomes complets.

Campy fait de la résistance

SP2.6-1

Impact d'un traitement de la litière sur le microbiote caecal et la contamination du poulet chair par *Campylobacter jejuni*

Amandine Thépault¹ (amandine.thepault@anses.fr), Xavier Roulleau², Typhaine Poezevara¹, Pauline Loiseau³, Ségolène Quesne¹, Florent Souchaud¹, Marianne Chemaly¹, Muriel Guyard-Nicodème¹

¹UHQPAP, ANSES, Ploufragan, France

²Dietaxion, Le Loroux-Bottereau, France

³Terrena, Ancenis, France

Introduction et objectifs :

La campylobactériose est la première source de zoonose alimentaire en Europe et la volaille serait la source principale de contamination humaine. Pour diminuer le nombre de cas, il est nécessaire de réduire la contamination à l'élevage. La litière est une des voies de transmission de *Campylobacter* à l'élevage. Traiter la litière pourrait être une alternative pour réduire *Campylobacter* chez le poulet de chair. Durant ce travail, l'effet d'un produit commercial (COBIOTEX 410 Absorbant®) constitué d'un complexe bactérien et d'agents asséchants sur la colonisation par *Campylobacter* et son impact sur le microbiote caecal ont été étudiés.

Matériels et méthodes :

Deux groupes de 30 poulets de chair (Ross PM3) ont été inoculés avec une souche de *Campylobacter jejuni* à 18 jours d'âge. Dans un groupe, la litière a été traitée avec le produit chaque semaine pendant toute la durée de l'essai (de J1 à J35). L'autre groupe (témoin) n'a reçu aucun traitement. Après 22 et 35 jours d'élevage, les *Campylobacter* spp. du contenu caecal des animaux ont été dénombrés. Les résultats ont été comparés à l'aide du test de Mann-Whitney. L'ADN des contenus caecaux a été extrait et le séquençage de la région V3-V4 a été réalisé avec la technologie Illumina MiSeq. Les séquences obtenues ont été analysées avec le pipeline FROGS pour comparer les communautés bactériennes associées à chaque condition expérimentale.

Résultats, discussion et conclusion :

Aucune différence significative dans les dénombrements de *Campylobacter* n'a été observée entre les deux groupes à J22 et J35 ($p > 0.05$). La richesse du microbiote caecal n'a pas été affectée par le traitement (en moyenne 202 ± 58 et 222 ± 48 OTU). Toutefois, une plus grande diversité a été observée chez les animaux traités à J35 et 10 OTU présentant une abondance relative $> 1\%$ ont été significativement impactés par le traitement. L'âge des animaux, le traitement et la combinaison de l'âge et du traitement ont influencé la structure de la communauté microbienne, mais ces modifications, n'ont pas eu d'impact sur *Campylobacter*. Cette étude constitue toutefois une base pour de futures investigations sur la relation entre un traitement appliqué, le microbiote du poulet et *Campylobacter*.

Mots clés : *Campylobacter* - Moyens de lutte - Microbiote.

Nouveaux modèles d'étude du microbiote (en association avec L'ARET)**SP3.6-O1****Insects and their microbial partners: the *Drosophila* case study**

Renata Matos (renata.matos@ens-lyon.fr)

CNRS / ENS-Lyon, Institut de Génomique Fonctionnelle, Lyon, France

Metazoans establish reciprocal interactions with their commensal bacterial communities. Despite recent progress, a clear view of the physiological benefits associated with host/microbiota relationship remains elusive. Hence the molecular mechanisms through which the microbiota exerts its beneficial influences are still largely undefined. In this line, we aim at deciphering the molecular dialogue governing the mutualistic interaction between intestinal bacteria and their host. To this end, we are using a genetically tractable gnotobiotic animal model: *Drosophila melanogaster*, which is mono-associated to one of its natural dominant commensal, *Lactobacillus plantarum*. We are developing multiscale functional approaches to identify the mechanisms that underlie their mutualistic relationship, which results in the promotion of host juvenile growth upon chronic undernutrition. Our approaches aim at identifying both the bacterial and host genetic networks required to sustain their mutualistic relationship.

Mots clés : symbiosis - Lactobacillus - Drosophila - growth.

Nouveaux modèles d'étude du microbiote (en association avec L'ARET)**SP3.6-O2****L'utilisation du séquençage haut débit pour étudier le microbiome des tiques**

Thomas Pollet (thomas.pollet@inra.fr)

UMR BIPAR, INRA, Maisons-Alfort, France

Les tiques sont les premiers vecteurs d'agents pathogènes en Europe. On compte de nombreuses maladies à tiques à la fois chez l'homme et les animaux qu'ils soient domestiques ou d'élevage. Ces maladies constituent des enjeux importants en termes de santé animale et de santé publique. De ce fait, le but de nombreux acteurs de la recherche sur les tiques et les agents pathogènes qu'elles sont susceptible de véhiculer est donc entre autre de (i) mieux comprendre l'écologie et la dynamique des maladies à tiques, (ii) améliorer les méthodes d'étude et développer des stratégies de contrôle des maladies à tiques et enfin (iii) suggérer de futures directions pour le contrôle des maladies à tiques. En plus des agents pathogènes, les tiques portent de nombreux autres micro-organismes (symbiotes et/ou commensaux) avec lesquels elles interagissent. Ce complexe microbien, récemment nommé pathobiome, et les interactions entre les différents membres de cette communauté microbienne, restent, encore peu étudié, notamment chez *Ixodes ricinus*, l'espèce de tique la plus répandue en Europe et vectrice de nombreux agents pathogènes bactériens, parasitaires et viraux. Peu d'informations sont en effet disponibles sur la composition du microbiome chez *I. ricinus*, sa dynamique, les processus susceptibles de l'influencer et son potentiel rôle sur la présence et la dynamique des agents pathogènes. Ces informations sont pourtant essentielles lorsque l'on souhaite mieux comprendre les maladies à tiques et développer des stratégies de contrôle. Dans ce contexte, à l'aide de différentes approches de séquençage haut débit, nous avons développé plusieurs projets de recherche qui visaient à mieux comprendre l'écologie du microbiome de la tique *Ixodes ricinus* (diversité, composition, facteurs de contrôle) et à déterminer son influence sur la dynamique des agents pathogènes.

Mots clés : tiques - microbiome - diversité - dynamique - interactions.

Nouveaux modèles d'étude du microbiote (en association avec L'ARET)**SP3.6-1****La pollution atmosphérique au dioxyde d'azote, source de dysbiose du microbiote cutané ?**

Xavier Janvier¹ (xavier.janvier@etu.univ-rouen.fr), Djouhar Souak¹, Stéphane Alexandre², Olivier Maillot¹, Frantz Gouriou³, Catherine Grillon⁴, Marc GJ Feuilloley¹, Anne Groboillot¹

¹LMSM - EA4312, Université de Rouen Normandie, Evreux, France

²PBS - UMR6270, Université de Rouen Normandie, Rouen, France

³CERTAM, Saint-Etienne du Rouvray, France

⁴CBM - UPR4301, Orleans, France

Introduction et objectifs :

Le dioxyde d'azote (NO₂) fait partie des polluants atmosphériques les plus préoccupants définis par l'Agence Européenne de l'Environnement. En 2015 il était responsable de 76 000 des 506 000 morts dues à la pollution atmosphérique en Europe [1]. Le NO₂ est également connu pour contribuer au vieillissement cutané [2] et au développement de la dermatite atopique [3-4]. Des facteurs endogènes, tel que le microbiote cutané, interviennent également dans cette pathologie [5]. En effet, de nombreuses affections de la peau sont corrélées à un déséquilibre de la flore microbienne (dysbiose cutané). Il est donc pertinent d'explorer l'effet du NO₂ sur les bactéries du microbiote cutané. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact du NO₂ sur des souches bactériennes isolées de peaux saines de volontaires.

Matériels et méthodes :

Les souches de *Staphylococcus aureus* MFP03, *Staphylococcus epidermidis* MFP04, *Pseudomonas fluorescens* MFP05 et *Corynebacterium tuberculostearicum* CIP102622 ont été exposées 2h, soit au NO₂ (10 ou 80 ppm), soit à de l'air, grâce à un dispositif permettant de mimer le contact du polluant gazeux avec les bactéries en surface de la peau.

Résultats, discussion et conclusion :

Le NO₂ gazeux engendre, entre autres, chez les bactéries exposées des altérations de la structure cellulaire (cytométrie en flux, microscopie à force atomique), une perte de cultivabilité, une augmentation de la phase de latence des cinétiques de croissances et une augmentation d'un biomarqueur du stress nitrosant déjà connu chez les cellules Eucaryotes. Ces effets délétères du NO₂, d'intensité variable selon l'espèce bactérienne, pourraient être la source d'une dysbiose du microbiote cutané susceptible d'altérer l'homéostasie de la peau.

Mots clés : Polluant atmosphérique - Dioxyde d'azote - Stress nitrosant - Microbiote cutané - Dysbiose.

Références :

1. European Environment Agency. 2018. Health impacts of exposure to fine particulate matter, ozone and nitrogen dioxide. p.62-67. In Air Quality in Europe – 2018 report. Luxembourg.
2. Hüls A, Vierkötter A, Gao W, Krämer U, Yang Y, Ding A, et al. 2016. Traffic-related air pollution contributes to development of facial lentigines: Further epidemiological evidence from Caucasians and Asians. *J Invest Dermatol.* 136:1053-1056.
3. Drakaki E, Dessinioti C, Antoniou CV. 2014. Air pollution and the skin. *Front Environ Sci.* 2:11.
4. Ahn K. 2014. The role of air pollutants in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 134:993-9.
5. Williams MR, Gallo RL. 2015. The role of the skin microbiome in Atopic Dermatitis. *Cur Allergy Asthma Rep.* 15:65.

Antibiotic resistance, persistence and tolerance

SP1.10-O1

Mutation dynamics and fitness effects at the single cell level

Lydia Robert (robert.lydia@gmail.com)

Laboratoire Jean Perrin, Université P. & M. Curie, Paris, France

Mutations are the source of genetic variation upon which natural selection acts and therefore the driving force of evolution. In order to understand the generation of diversity among life forms, from the variety of Galapagos finches to the spread of antibiotic resistant bacterial strains, as well as the diversity between cells in an organism, such as in cancer evolution, we need a quantitative characterization of the dynamics of mutation accumulation as well as their effects on fitness.

Although commonly divided, according to their fitness effects, into three categories, good, bad and neutral, in reality mutations show a distribution of fitness effects (DFE), from strongly deleterious to highly beneficial. This distribution is an important quantity in evolutionary biology but is difficult to measure experimentally. In previous studies on microorganisms, the quality of DFE estimation was often limited by a small sample of mutations and by a sampling bias due to the effect of natural selection, which purges strongly deleterious mutations. In addition, the dynamics of the mutation accumulation process has never been experimentally revealed, due to the lack of appropriate tools.

Using a microfluidic setup we followed the growth of thousands of individual *Escherichia coli* cells for hundreds of generation as they accumulate mutations [1]. Individual cells grow in separate microchannels whose geometry allows blocking natural selection, thus producing an unbiased sample of tens of thousands of mutations. Lethal and strongly deleterious mutations can also be detected as they appear, in contrast to previous studies. This high-throughput data allowed a quantitative characterization of the DFE, showing that it is dominated by neutral mutations, with a surprisingly weak average cost for non-lethal mutations, and 1% of lethal mutations. Using a fluorescent reporter of nascent mutations based on the expression of fluorescent Mismatch Repair protein MutL, allowing detecting nascent mutations as fluorescent foci in the cells, we also follow directly the dynamics of the mutation accumulation process in single cells.

Mots clés : mutations - evolution - dynamics - microfluidic - single-cell.

Références :

1. Robert L., Ollion J., Robert J., Song X., Matic I., Elez M., 2018 Science 359(6381):1283-1286.

Antibiotic resistance, persistence and tolerance

SP1.10-1

Anticancer chemotherapy accelerates the extension of KPC-type carbapenemase activity towards ceftazidime-avibactam

Claire Hobson¹ (claire.hobson@etu.univ-tours.fr), Stéphane Bonacorsi^{1,2}, Didier Hocquet³, André Baruchel⁴, Mony Fadh⁴, Thomas Storme⁵, Raksamy Tang⁵, Catherine Doit^{1,2}, Olivier Tenailon¹, André Birgy^{1,2}

¹ Université de Paris, IAME, Inserm, Paris, France

² Microbiologie, APHP, Hôpital Robert Debré, Paris, France

³ Bactériologie, Université de Franche-Comté, Besançon, France

⁴ Immuno-hématologie Pédiatrique, APHP, Hôpital Robert Debré, Paris, France

⁵ Pharmacie Hospitalière, APHP, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Objectives:

Patients receiving anticancer chemotherapy are vulnerable to infectious diseases. Several anticancer chemotherapies interfere with DNA replication and increase the mutation rate of eukaryotic cells. A similar impact on bacteria could modify the risk of selecting antibiotic resistant mutants. We investigated the impact of these drugs on the emergence of ceftazidime-avibactam resistant mutant in KPC-type carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* and evaluated an alternative antimicrobial treatment to limit this risk.

Methods:

We studied the impact of seven anticancer chemotherapies used in hematologic on clinical isolates of *Enterobacteriaceae* producing KPC-type carbapenemases. We compared the mutation rates from cultures with or without chemotherapy on ceftazidime-avibactam media and on rifampicin media as comparator. We also determined the mutation rate on a media combining ceftazidime-avibactam and meropenem. MICs of meropenem combined to CZA were determined on nine ceftazidime-avibactam resistant mutants, from which *bla*_{KPC} were sequenced and cloned in *E. coli*.

Results:

The bacterial mutation rates leading to ceftazidime-avibactam and to rifampicin resistance increased up to 10³-fold after exposure to some cytotoxic molecules (especially to dacarbazine, azacitidine, and mitoxantrone) while the frequency of emergence of resistant mutants to meropenem combined with ceftazidime-avibactam was undeterminable (<10⁻⁹). The ceftazidime-avibactam resistant mutants were more susceptible to meropenem than their parent and were as susceptible as their parent to meropenem in combination with ceftazidime-avibactam. The *bla*_{KPC} genes of all nine ceftazidime-avibactam mutants harbored either mutations, deletions or insertions, mostly in the region that encodes the Ω-loop of the KPC carbapenemase.

Conclusion:

Given the high mutation rates and the risk of therapeutic failure, meropenem combined to ceftazidime-avibactam may be a therapeutic option in case of a severe infection by a KPC-producing *Enterobacteriaceae* in patients treated with anticancer chemotherapy.

Mots clés : Ceftazidime-avibactam - Carbapenemases KPC-type - Anticancer chemotherapy - Bacterial resistance - Mutation rate.

Antibiotic resistance, persistence and tolerance

SP1.10-2

La résistance au délamanide en France existe déjà

Jérémy Jaffré^{1,2} (jeremy.jaffre@aphp.fr), Wladimir Sougakoff^{1,2}, Catherine Eckert^{1,3}, Florence Brossier^{1,2}, Nicolas Veziris^{1,2,3}, Alexandra Aubry^{1,2}

¹INSERM U1135 Cimi-Paris éq.13, Sorbonne Université, Paris, France

²CNR MyRMA, APHP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

³Département de Bactériologie, APHP, Hôp. Universitaires Est Parisien, Paris, France

Introduction et objectif :

Le délamanide (DLM) est un nouvel antituberculeux recommandé par l'Organisation Mondiale de la Santé pour le traitement des tuberculoses à bacilles multi-résistants (TB-MDR). L'objectif de cette étude était d'évaluer la prévalence de la résistance au DLM en France, parmi les souches de Mycobactéries du complexe *tuberculosis* isolées chez des patients qui n'ont jamais été traités par cette molécule.

Matériels et méthodes :

Parmi les souches reçues au Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux (CNR-MyRMA), la résistance au DLM a été recherchée par la méthode des proportions (milieu 7H11, DLM=0,06 mg/L) (n=113 souches ; 108 *M. tuberculosis*, 3 *M. africanum*, 1 *M. bovis*, 1 *M. bovis* BCG) et par séquençage du génome entier (WGS) (n=291 souches ; 289 *M. tuberculosis*, 2 *M. bovis* BCG) (méthode génotypique). Les Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) ont prioritairement été recherchés sur les gènes impliqués dans la résistance au DLM (*ddn*, *fgd1*, *fbiA*, *fbiB* et *fbiC*).

Résultats, discussion et conclusion :

Parmi les 113 souches testées par la méthode des proportions, 3,5% étaient résistantes au DLM ; parmi les souches sensibles au DLM, la proportion naturelle de mutants résistants était de 10⁻⁵. Parmi les 291 souches pour lesquelles un WGS était disponible, au moins 1 SNP dans un des 5 gènes analysés a été trouvé chez 182 souches. Au total 208 SNPs ont été détectés. Ces SNPs (n=194) correspondaient majoritairement à des mutations silencieuses ou des marqueurs phylogénétiques. Un SNP (*ddn*-W88Stop), connu pour conférer la résistance au DLM, a été identifié chez 2 souches. Huit autres SNPs pourraient conférer une résistance au DLM. Enfin, 3 SNPs ne seraient pas impliqués dans la résistance (*ddn*-V148A, *fbiC*-T273A et *fbiC*-W678G).

Malgré son introduction récente, la prévalence de la résistance primaire au DLM est déjà de 3,5%. Ce chiffre alarmant nécessite 1) des travaux de recherche pour comprendre l'origine de cette résistance primaire et 2) de déterminer la sensibilité des souches au DLM avant d'instaurer un traitement par cette nouvelle molécule.

Mots clés : Mycobacterium tuberculosis complex - délamanide - résistance.

Antibiotic resistance, persistence and tolerance

SP1.10-3

Resistance to Ceftazidime-Avibactam in a *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate due to the production of KPC-39, a single amino-acid variant of KPC-3

Agnes Jousset (agnes.jousset@aphp.fr), Saoussen Oueslati, Garance Cotellon, Elodie Creton, Aimie Sauvadet, Remy Bonnin, Laurent Dortet, Thierry Naas

EA7361, UPSud, Hopital Bicetre, Le Kremlin-Bicetre, France

KPC is the main carbapenemase in healthcare settings in the United States, South America, Greece, Italy and Israel. Ceftazidime-avibactam (CAZ-AVI) is a promising novel combination for the treatment of infections caused by KPC- or OXA-48-producing-Enterobacteriaceae. Resistance to CAZ-AVI has been reported, mainly in *blaKPC-3* -harboring *K. pneumoniae* isolates from clonal-group 258, and is mostly due to porins inactivation, efflux-pumps overexpression, or mutations in *blaKPC* gene selected after CAZ-AVI exposure. Here, we report the case of a *K. pneumoniae* FER (*KpFER*) clinical isolate resistant to CAZ-AVI due to the production of KPC-39, a novel variant that differs from KPC-3 by a single amino acid substitution.

Carbapenemase detection was performed using Carba NP test, Carba5 immunochromatographic assay (NG Biotech) and molecular assay (**Xpert@CarbaR**). MICs were determined using E-tests. Whole genome sequencing (Nextera® Illumina) was used to determine the resistome and the MLST of *KpFER*. The *blaKPC-39* and *blaKPC-3* genes were cloned into pTOPO vector resulting in pTOPO-KPC-39 and pTOPO-KPC-3, respectively, and were subsequently expressed in *E. coli* TOP10.

KpFER belonged to ST307 and was resistant to CAZ-AVI (MIC of 12 µg/ml) but susceptible to all carbapenems. The Carba NP test performed was negative whereas molecular and immunochromatographic assays were able to detect *blaKPC* gene or KPC-type carbapenemase, respectively. Sequence analysis of KPC-39 revealed a single amino-acid change in the Ω-loop (A171T) as compared to KPC-3. *blaKPC-39* gene was located on a multi-replicon IncFIK-IncFIB transferable plasmid. The *E. coli* TOP10(pTOPO-KPC-39) showed decreased susceptibility to CAZ-AVI (MIC of 4 µg/ml) and full susceptibility to carbapenems as compared to *E. coli* TOP10(pTOPO-KPC-3), which displayed carbapenem-resistance and CAZ-AVI susceptibility.

We described here a novel KPC variant that confers resistance to CAZ-AVI in a clinical isolate of *K. pneumoniae*. Worryingly, this strain was isolated in a patient that had no prior exposure to CAZ-AVI. In June 2018, European Centre for Disease Prevention and Control issued recommendations to limit the emergence of CAZ-AVI resistant isolates. Epidemiological surveillance at local and national levels are needed to follow the spread of these CAZ-AVI resistant isolates.

Mots clés : Avibactam - résistance - KPC - carbapenemase.

Antibiotic resistance, persistence and tolerance

SP1.10-4

Genetic characterization of lypopolysaccharide-modifying genes involved in polymyxin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* carrying MCR-1 by sequential time-kill experiments approach

Hariyanto Ih¹ (hariyanto.ih@univ-poitiers.fr), Nicolas Grégoire^{1,2}, William Couet^{1,2}, Julien Buyck¹

¹Inserm U1070, Université de Poitiers, Poitiers, France

²Toxicologie et Pharmacocinétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France

Introduction and objective:

Resistances of multidrug-resistant Gram-negative bacteria to the last resort drugs polymyxins are on rise. It was previously reported a MCR-1 plasmid leading to low-level of resistance. The aim of this study was to describe, by an original approach of sequential time-kill experiments, the role of MCR-1 in the development of additional adaptive resistance to polymyxins.

Materials and methods:

MICs of colistin and polymyxin B against wild-type (WT) and MCR-1 transconjugants strains of *Escherichia coli* J53 (EC_MCR-1) and *Klebsiella pneumoniae* R2292 (KP_MCR-1) were determined according to EUCAST guidelines. Time-kill curves (TKC) were conducted sequentially towards all strains at concentration from 0.25x to 64x MIC for both antibiotics. The first TKC was done for each strain then regrowth bacteria in presence of antibiotic were used for the inoculation of the next TKC. In parallel, bacteria were analyzed by sequencing and RT-qPCR to determine the expression and the mutations of genes involved in polymyxin resistance. Heteroresistance for each strain was quantified by population analysis profiles (PAPs) on agar plates containing antibiotic.

Results, discussion and conclusion:

The MICs of polymyxin B and colistin were 0.25 mg/L for WT and 2 mg/L for their MCR-1 transconjugants strains. Sequential TKC showed that the susceptibility to colistin and polymyxin B for both WT strains was stable. However, the resistance increased gradually up to 4-fold and 32-fold to colistin and 2-fold and 8-fold to polymyxin B for EC_MCR-1 and KP_MCR-1, respectively, after 3rd TKC. PAPs confirmed the absence of heteroresistance. No mutations were found but expression of 11 genes involved in lipo-polysaccharide modification for EC_MCR-1 was increased before antibiotic treatment then decreased after sequential TKC. No overexpression was founded in KP_MCR-1 but 4 genes (*pmrA*, *pmrC*, *pmrE*, *arnT*) were increased after polymyxins exposure with the highest expression shown by *arnT* (29-fold with colistin and 5-fold with polymyxin B). WT strains did not show adaptive resistance to polymyxins while the presence of MCR-1 facilitated the step-by-step adaptation. Our findings suggest that plasmid MCR-1 favor selection of another resistance mechanism by different pathways for each strains leading to develop high-level resistance to polymyxins.

Mots clés : *Escherichia coli* - *Klebsiella pneumoniae* - polymyxins - resistance - MCR-1.

Evolution of bacteria (*in association with SSM*)**SP5.5-O1****Évolution des chlamydia et des bactéries apparentées aux chlamydia**

Gilbert Greub (gilbert.greub@chuv.ch)

Institut de Microbiologie, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse

Au sein du phylum Chlamydiae se trouve une large biodiversité de bactéries intracellulaires qui ont colonisées au fil de l'évolution une grande variété de niches écologiques. Ainsi, bien que certaines espèces pathogènes comme chlamydia trachomatis, chlamydia pneumoniae ou chlamydia abortus sont associées aux mammifères, d'autres espèces sont associées aux oiseaux (*C. psittaci*), aux amibes libres (*Parachlamydia acanthamoebae*, *Estrella lausannensis*) ou aux arthropodes (*Rhabdochlamydia heleveticae*). La divergence des différentes familles a eu lieu il y a plus de 700 millions d'années, ce qui a permis à ces différentes espèces d'évoluer et d'acquérir des caractéristiques qui leurs sont propres. L'évolution s'est fait par réduction génomique pour certaines espèces (*C. trachomatis*, par exemple) ou par acquisition de nouvelles compétences grâce à de nombreux échanges horizontaux (*Parachlamydia acanthamoebae*), qui ont permis l'échange des gènes codant par exemple pour un transporteur d'ATP (parasitisme énergétique) ou des catalases. Ces transferts horizontaux fréquents avec des légionelles, reflètent l'écologie de cette espèce associée aux amibes. L'évolution d'*Estrella lausannensis* a été étudié en co-culture amibienne en situation allopatrique ou sympatrique, démontrant l'impact de la pression de sélection induite par d'autres microbes résistants aux amibes. Notons que certaines espèces apparentées aux chlamydia présentent un système conjugatif, alors que d'autres codent pour un système CRISPR ou un transporteur d'électron (NAD⁺/ADP), démontrant l'importance d'étudier également les bactéries apparentées aux chlamydia afin de comprendre plus globalement l'évolution de ce phylum. Finalement, soulignons le rôle joué par l'ancêtre commun des chlamydia dans l'eucaryogénèse.

Mots clés : évolution - chlamydia - intracellulaire - biodiversité - écologie.

Evolution of bacteria (*in association with SSM*)**SP5.5-O2****La théorie de l'évolution face à la matière noire microbienne : qu'est ce qui a changé ? Qu'est ce qui pourrait changer ?**

Eric Bapteste (epbapteste@gmail.com)

CNRS, Paris, France

Dans cet exposé, je présenterai brièvement quelques avancées bioinformatiques qui aident à mieux classer la matière noire microbienne et à mieux identifier les 'processus noirs microbiens', tout en insistant sur les conséquences possibles de ces développements sur la théorie de l'évolution.

Mots clés : matière noire microbienne - réseaux de similarité - réseaux d'interaction - unité de sélection - homologie distante.

Evolution of bacteria (*in association with SSM*)**SP5.5-1****Impact of the *Escherichia coli* ribosomal RNA operon copy number variations on the genome stability**

Sebastien Fleurier (sebastien.fleurier@inserm.fr), Arnaud Gutierrez, Ivan Matic

Inserm, Paris, France

The *Escherichia coli* has seven rRNA (*rrn*) operons, which are among the most highly transcribed loci in the genome. During multifork chromosomal replication, the *rrn* operon number may increase to up to 38 per cell. It is generally assumed that multiple *rrn* operons copies are needed for rapid growth. However, all *rrn* operons are not fully saturated with RNAP even at high growth rates in rich medium. Reducing the number of *rrn* operons results in an increased number of RNAPs per rRNA gene and overexpression of the remaining operons. Consequently, deleting up to three *rrn* operons does not show any impact on growth rate. However, deleting >4 operons has an important impact on the growth. It has been proposed that this might be a consequence of a reduced number of ribosomes *per* cell and thus a reduced translational capacity. We examined how deletions of *rrn* operons impact DNA replication elongation in *E. coli* cells. For this, we used strains deleted for 1 to 6 *rrn* operons (Quan et al 2015 G3 5:2555). We found that DNA replication elongation is severely impacted in cells with >4 *rrn* operon deletions. In these cells, we also observed strong SOS induction and increased quantity of DNA double-strand breaks (DSBs). Deletion of the *recA* and *recB* genes further decreased growth rates and increased the number of cells with high numbers of DSBs. Finally, we demonstrated that the low growth rates of *rrn*-deletion mutants do not result directly from reduced translational capacity. Rather, the reduced translational capacity induces compensatory overexpression of the remaining *rrn* operons. Strong activity of the RNAPs on the rRNA genes creates roadblocks for the DNA replication forks resulting in DSBs and SOS induction. In summary, problems at the level of protein synthesis, trickle backward to transcription and finally to DNA replication levels.

Mots clés : *Escherichia coli* - rRNA operons - RNA polymeras - genome stability - R-loop.

Evolution of bacteria (*in association with SSM*)**SP5.5-2****Intermolecular recombination events modulates the pathogenicity of *Legionella pneumophila***

Guillaume Carrillo¹ (guillaume.carrillo@univ-lyon1.fr), Christophe Ginevra^{1,2}, Sophie Jarraud^{1,2}, Patricia Doublet¹, [Elisabeth Kay](#)¹

¹CIRI (U1111), Inserm/CNRS/ENS/Université de Lyon, Lyon, France

²Hospices civils de Lyon, Lyon, France

Introduction and objectives:

The *Legionella* genus comprises mainly waterborne, facultative intracellular bacteria that replicate within a wide variety of protists. When inhaled by Humans, *Legionella* infect pulmonary macrophages, resulting in a potentially fatal pneumonia called Legionnaire's disease. During this long-term coevolution, *L. pneumophila* likely acquired an arsenal of virulence factors allowing it to colonize not only various protists but also human alveolar macrophages. Here, we address the question of the mutational robustness of virulence and host spectrum. Notably, we wondered whether bacteria evolving in the absence of hosts for hundreds of generations lose or retain their ability to infect protists and mammalian cells.

Methods:

We conducted a mutation accumulation evolution experiment in which several replicate populations, founded from *L. pneumophila* clinical isolate, were serially propagated on standard agar medium.

Results and discussion:

After several hundred generations of genetic drift, evolved clones exhibited a decreased ability to infect both amoebae and human macrophages compared to the ancestor. This intracellular growth defect was correlated with a reduced capacity to establish the replication-permissive vacuole inside host cell although the type 4 secretion system, which is the key element of virulence in *Legionella*, was still functional. Using whole genome sequencing, we have identified all the genomic modifications accumulated during evolution. We especially characterized one mutation shared by all the independently evolved lineages that confers the attenuated virulent phenotype. Ultimately, we demonstrated that this mutation and the associated-phenotypes can be reversed when the attenuated virulent clone was re-evolved in presence of eukaryotic host.

Mots clés : Legionella - experimental evolution - genetic plasticity - virulence.

Comment prévenir et combattre les Biofilms ?

SP6.3-O1

Activity of drug combinations against staphylococcal biofilms

Françoise Van Bambeke (francoise.vanbambeke@uclouvain.be)

Pharmacologie cellulaire et moléculaire, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

Biofilms consist in communities of microorganisms adhering on a surface and embedded in an auto-produced matrix made essentially of exopolysaccharides, extracellular DNA, and proteins. They are associated with device-related infections as well as with a series of tissue-related infections and play therefore a key role in persistent or recurrent infections. In biofilms, antibiotics are poorly active because (a) of the barrier effect exerted by the biofilm matrix and (b) the dormant phenotype adopted by bacteria. This is why, over the last years, researchers have evaluated a series of combinations that could improve antibiotic activity (1). These include combinations of antibiotics (2), as well as combinations of antibiotics with repurposed drugs possibly affecting the biofilm matrix (3), fibrinolytic agents (4), enzymes, antimicrobial peptides, antibodies (5), or anti-persisters. Focusing on staphylococcal biofilms, the presentation will review these different strategies, illustrate them by recently published experimental data (in vitro and animal studies), and describe the molecular mechanisms proposed for the observed synergy. It will end up by proposing strategies based on combination that may deserve further attention in the future.

Mots clés : biofilm - Staphylococcus aureus - combination - persistence.

Références :

1. Suresh et al, 2019; Int J Med Microbiol.;309:1-12
2. Siala et al, 2018; Antimicrob Agents Chemother.;62:pii: e00598-18
3. Siala et al, 2016; Nature Commun.; 7:13286
4. Hogan et al, 2018; Antimicrob Agents Chemother. ;62. pii: e02008-17
5. Raafat et al, 2019; Trends Microbiol.;27:303-22

Comment prévenir et combattre les Biofilms ?

SP6.3-O2

Multi-species Biofilms: a way to expand knowledge on interspecies interactions

Richard Guillonneau¹ (guillonneau.richard@hotmail.fr), Claudine Baraquet¹, Alexis Bazire², Maëlle Molmeret¹

¹Laboratoire MAPIEM 4323, Université de Toulon, La Garde, France

²Laboratoire de Biotechnologie et Chimie, Université de Bretagne-Sud, Lorient, France

In most environments, ecosystems are made of numerous dynamic microhabitats where microbial communities interact with each other establishing metabolically interdependent relationships. Very limited information is available on multispecies biofilms and their microhabitats related to natural environments. Four strains (*Persicivirga (Nonlabens) mediterranea* TC4, *Polaribacter* sp. TC5, *Shewanella* sp. TC10 and TC11) harvested in biofilms from the Mediterranean Sea and displaying different phenotypical traits and abilities to form a biofilm, have been selected from a previous study. The objective of this work is to understand how marine bacteria isolated from biofilms in the Mediterranean Sea interact and compete with each other when cultivated in multispecies biofilms.

First, using confocal laser scanning microscopy, the study of two and three-species biofilms revealed that most of the strains displayed an antagonistic effect on each other, except TC4 and TC10, which presented a beneficial effect in particular for TC4. Interestingly, these two strains produced a newly secreted compound when grown in dual-species versus mono-species biofilms. TC5, which induced a strong inhibition on two of its partners TC10 and TC11 in dual-species biofilms, outcompeted the other bacteria in the four-species biofilm.

With the objective to add another organism to the multi-bacterial species biofilms, we then evaluated the interactions between each of the marine bacteria and the amoeba *Acanthamoeba castellanii*. All the bacterial strains were phagocytosed. However, surprisingly, different mechanisms of escape from their predators have been unraveled, such as a nucleolar localization for TC4. When the amoebae were added onto a preformed bacterial monospecies or multispecies biofilms, a majority of bacteria detached from the surface. The amoebae supernatant induced also a bacterial detachment of the bacteria, suggesting that amoeba chemical cues are secreted and detected by the bacteria. Although a simple grazing of these marine bacteria could have been expected, a diversity of bacterial behaviors was unraveled. Overall, this study gives an idea on the diversity of interaction mechanisms that may exist in the marine environment. Understanding how bacteria respond to interspecific and inter-organisms interactions should help comprehending the dynamics of bacterial populations in their ecological niches.

Mots clés : Marine bacteria - amoeba - multispecies biofilms - microbial interactions.

Comment prévenir et combattre les Biofilms ?

SP6.3-1

Formation and composition of *Francisella* biofilms, a survival strategy against antibiotic or environmental stresses

Patricia Renesto (patricia.renesto@univ-grenoble-alpes.fr), Claire Siebert

TIMC IMAG UMR5525, La Tronche, France

Introduction and objectives:

Therapeutic failures and relapses are a significant issue in the treatment of tularemia, a severe disease caused by the class A bioterrorism agent *Francisella tularensis*. While mutations in DNA gyrases have long been considered the main way for bacteria to acquire resistance against fluoroquinolones (FQ), several recent evidences supported involvement of other factors. More specifically, the aim of our work was to investigate the role of FupA/B (Fer-Utilization Protein), which was recently suggested to contribute to FQ resistance.

Materials and methods:

Using *F. tularensis* live vaccine strain (LVS) as model, and based on mutagenesis and trans-complementation approaches we firmly demonstrated that FupA/B expression was linked to FQ susceptibility. Besides the minimal inhibitory concentrations (MICs), the tolerance of *F. tularensis* toward bactericidal compounds used in the treatment of tularemia including both ciprofloxacin and gentamicin was examined for both the LVS and LVS Δ fupA/B strains. Interestingly, the FupA/B lipoprotein deletion was found to promote an increased secretion of outer membrane vesicles (OMVs). Mass spectrometry-based quantitative proteomic characterization of such vesicles identified 801 proteins, including a subset of 20 proteins exhibiting differential abundance between the two strains which therefore contribute to the reduced antibiotic susceptibility of the FupA/B-deleted strain.

Results and discussion:

Among the phenotypic changes associated with FupA/B deletion are an increased secretion of OMVs and formation of biofilms that provide bacteria with better survival opportunities through enhanced resistance toward antibiotic stresses. This study provides new insights into the mechanisms behind *F. tularensis* resistance/tolerance toward FQ, which could be useful when developing new therapeutic strategies. In addition, we also demonstrated that biofilm growth supported longer survival of *Francisella* in cold water as compared to free-living bacteria. This trait is possibly associated with a gain in fitness in the natural environment, a point of importance since water sources are considered as possible reservoirs of several human pathogenic *Francisella* strains.

Mots clés : biofilms - fluoroquinolones - tolerance - antibiotics - survival.

Comment prévenir et combattre les Biofilms ?

SP6.3-2

Highly specific anti-*Staphylococcus aureus* Affitins: applications for detection and capture of bacteria and for inhibition of biofilm formation

Frédéric Pecorari (frederic.pecorari@univ-nantes.fr), Ghislaine Béhar, Petar Vukojcic, Barbara Mouratou

Inserm-U1232, Université de Nantes, Nantes, France

Introduction and objectives:

Detection and capture methods using antibodies have been developed to ensure identification of pathogens in biological samples. Though antibodies have many attractive properties, they also have limitations and there are needs to expand the panel of available affinity proteins with different properties. Affitins [1], that we developed from the Sul7d proteins, are a solid class of affinity proteins which can be used as substitutes to antibodies or to complement them. We report the generation and characterization of anti-bacterial Affitins with high specificity for *Staphylococcus aureus* with the aims to explore their potential for detection and capture of these bacteria, and for inhibition of biofilm formation.

Materials and methods:

For generating Affitins, we carried-out *in vitro* ribosome display selections using whole-living-bacteria and naïve combinatorial libraries, which avoid production of protein targets and immunization of animals.

Results and discussion:

We showed that Affitin C5 exclusively recognizes *S. aureus* among dozens of strains, including clinical ones. C5 binds staphylococcal Protein A (SPA) with a KD of 108 +/-2 nM and has a high thermostability ($T_m = 77.0^\circ\text{C}$). Anti-*S. aureus* C5 binds SPA or bacteria in various detection and capture applications, including ELISA, western blotting, bead-fishing and fluorescence imaging [2]. Furthermore, multimerized C5 is able to prevent biofilm formation [3]. Thus, novel anti-bacteria Affitins which are cost-effective, stable, and small can be rapidly and fully designed *in vitro* with high affinity and specificity for a surface exposed marker. This class of reagents can be useful in diagnostic and biomedical applications.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* - Detection - Capture - Biofilm - Affitin.

Références :

1. Correa, A., Pacheco, S., Mechaly Ariel E., Obal, G., Béhar, G., Mouratou, B., Oppedo, P., Alzari, P.M., Pecorari, F., (2014) Potent and Specific Inhibition of Glycosidases by Small Artificial Binding Proteins (Affitins). PLoS One 9, e97438.
2. Behar, G., Renodon-Corniere, A., Kambarev, S., Vukojcic, P., Caroff, N., Corvec, S., Mouratou, B., Pecorari, F., (2019) Whole-bacterium ribosome display selection for isolation of highly specific anti-*Staphylococcus aureus* Affitins for detection- and capture-based biomedical applications. Biotechnol Bioeng.
3. Vukojcic, P., Behar, G., Tawara, M.H., Fernandez-Villamarin, M., Pecorari, F., Fernandez-Megia, E., Mouratou, B., (2019) Multivalent Affidendrons with High Affinity and Specificity towards *Staphylococcus aureus* as Versatile Tools for Modulating Multicellular Behaviors. ACS Appl Mater Interfaces.

Action plans to combat antibiotic resistance (*in association with the ITMO I3M*)**SP1.11-O1****Présentation du Programme Prioritaire de Recherche Antibiorésistance et ses objectifs**

Evelyne Jouvin-Marche^{1,2} (evelyne.jouvin-marche@inserm.fr), Guia Carrara¹, Yazdan Yazdanpanah¹

¹ITMO I3M, Inserm, Paris, France

²Inserm U1209/UGA/CNRS UMR5309, Institute for Advanced Biosciences, La Tronche, France

Objectifs :

En santé humaine, animale et environnementale, il y a une obligation de recherches pour acquérir de nouvelles connaissances et comprendre les mécanismes de l'hôte, du pathogène qui concourent à l'émergence, la transmission et la dissémination de la résistance bactérienne. On se doit aussi de mieux appréhender et de mieux déployer les interventions pour la prévention, le diagnostic, et le traitement des résistances et d'éduquer à un usage responsable aux antibiotiques. Il est crucial également d'évaluer l'impact de l'antibiorésistance et des stratégies mises en place.

En France, le déploiement du Programme Prioritaire de Recherche (PPR) Antibiorésistance, financé dans le cadre des Investissements d'Avenir, doté de 40 M€ et piloté par l'Inserm, doit permettre à notre pays de poursuivre l'effort de structuration entrepris. Ce PPR a pour mission de proposer un plan d'actions mettant en synergie les équipes de recherche du secteur public et de les fédérer autour d'une approche « une seule santé ». Ce programme a pour vocation de faire reculer la courbe des résistances, d'accélérer l'innovation et améliorer l'implémentation de ces innovations.

Méthodes :

Pour élaborer le PPR, l'institut thématique I3M et l'Inserm ont mis en place un conseil de scientifiques issus de toutes les disciplines et procédé au recensement des équipes de recherche du domaine en collaborant avec organismes, instituts, agences et ministères. L'analyse bibliométrique automatisée sur les 5 dernières années (6120 publications par 289 chercheurs) révèlent les champs d'expertises français.

Résultats :

Le plan d'actions du PPR regroupe 4 axes interdisciplinaires et interconnectés : Emergence et dissémination de la résistance ; Approches des SHS, épidémiologiques et interventionnelles de l'antibiorésistance chez l'Homme, les animaux et dans l'environnement ; Innovations technologiques appliquées à l'antibiorésistance dans les domaines du numérique, du diagnostic et de la thérapie ; Développement de stratégies thérapeutiques et préventives innovantes pour combattre la résistance aux antibiotiques. Il est proposé que ce programme soit soutenu par trois actions transverses : Développement et création de plateformes, réseaux et observatoire ; Renforcement des équipes par appels à manifestations d'intérêt et moyens humains ; Coordination d'un réseau de recherche sur l'antibiorésistance en lien avec les pays aux ressources limitées.

Mots clés : Programme Prioritaire de Recherche - Antibiorésistance - Bactérie - Une seule santé - Recherche.

Action plans to combat antibiotic resistance (*in association with the ITMO I3M*)**SP1.11-O2****Actualités sur les actions santé humaine de la feuille de route interministérielle (hors recherche)**

Céline Pulcini (celine.pulcini@sante.gouv.fr)

Ministère des Solidarités et de la Santé, Paris, France

Cette présentation (en anglais) balayera rapidement les 40 actions de la feuille de route interministérielle de novembre 2016 pour la maîtrise de l'antibiorésistance, et présentera les actualités concernant la santé humaine. Le volet Recherche est traité à part dans la même session.

Mots clés : Antibiorésistance.

Action plans to combat antibiotic resistance (*in association with the ITMO I3M*)**SP1.11-1****Surveillance et Prévention de l'AntibioRésistance en Établissement de Santé (SPARES) : Focus sur la surveillance de l'antibiorésistance**

Christian Martin^{1,2} (christian.martin@unilim.fr), Aurélie Chabaud^{1,2}, Amélie Jouzeau^{2,3}, Catherine Dumartin^{2,4}, Elodie Couve-Deacon^{1,2}, Lory Dugravot^{2,3}, Marie-Cécile Ploy^{1,2}, Loïc Simon^{2,3}

¹Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Limoges, Limoges, France

²Mission SPARES, Nancy-Bordeaux, France

³CPias Grand-Est, Nancy, France

⁴CPias Nouvelle-Aquitaine, Bordeaux, France

Introduction :

Dans un contexte de préoccupation mondiale de l'antibiorésistance, la mission de Surveillance et Prévention de l'AntibioRésistance en Etablissement de Santé (SPARES) a été attribuée sur appel à projet par Santé Publique France (SPF), aux CPias (Centre d'appui pour la Prévention des Infections Associées aux Soins) Grand-Est et Nouvelle Aquitaine. Son objectif est de donner une vision représentative de l'antibiorésistance au niveau national, mais aussi local, et de surveiller la consommation en antibiotiques dans les établissements de santé (ES).

Matériels et méthodes :

Les données de résistance, non dédoublonnées, sont extraites des systèmes de gestion de laboratoire ou des logiciels d'épidémiologie, grâce à des outils spécifiquement créés pour les principaux logiciels. Puis elles sont exportées dans l'e-outil ConsoRes.

La surveillance concerne toute bactérie accompagnée d'un antibiogramme, isolée d'un prélèvement diagnostique. Pour chaque souche, sont recueillis : unité de séjour, numéro d'identification du patient, dates de naissance et si possible d'admission, date et site de prélèvement, espèces, phénotype de résistance et antibiogramme complet.

Résultats :

De mars à mai 2019, 523 ES ont exporté leurs données 2018 sous ce nouveau format de ConsoRes.

Au niveau local, un rapport automatique génère :

- les pourcentages de résistance restreints à des antibiotiques choisis pour huit bactéries d'intérêt (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* complex, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Acinetobacter baumannii*),
- les pourcentages et incidences de bactéries multi-résistantes ciblées dans les programmes nationaux de lutte contre l'antibiorésistance : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (BLSE), de céphalosporinase déréprimée/haut niveau et de carbapénémase, entérocoques résistants à la vancomycine.

Un rapport personnalisable, disponible en ligne, permet de générer des données adaptées à une situation précise.

Au niveau national, la mission SPARES produit des indicateurs de résistance régionaux et nationaux mis à disposition de SPF pour analyses et transmission aux réseaux de surveillance internationaux (EARS-Net, GLASS).

Conclusion :

SPARES produit des indicateurs sur l'antibiorésistance et la consommation des antibiotiques qui sont utiles localement aux professionnels impliqués dans la lutte contre l'antibiorésistance et qui permettent de cibler les actions d'amélioration régionales et nationales.

Mots clés : SPARES - Antibiotiques - Résistance - Surveillance.



Société Française
de Microbiologie

MICROBES ●●●●●
15^e congrès national de la **SFM**

RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES

Prévalence et caractérisation de souches d'entérobactéries résistantes aux fluoroquinolones isolées de chiens et chats domestiques

Lynda Anssour¹ (anssourlynda@gmail.com), Yamina Messai¹, Widad Boudi², Rabah Bakour¹

¹LBCM, FSB, USTHB, Alger, Algérie

²Clinique vétérinaire, Alger, Algérie

Introduction et objectifs :

La résistance aux antibiotiques est une préoccupation mondiale majeure de santé publique. Elle est inhérente, entre autres, à l'utilisation massive et/ou inopportune des antibiotiques en médecine vétérinaire, notamment les quinolones. Une des caractéristiques préoccupantes de ces derniers est la résistance croisée entre les différentes molécules, ainsi que la co-résistance à d'autres antibiotiques. A cet effet, nous avons recherché et caractérisé des souches d'entérobactéries résistantes aux fluoroquinolones chez des chats et chiens.

Matériel et méthodes :

Les souches d'entérobactéries ont été isolées sur milieu BHIA supplémenté de ciprofloxacine à partir de prélèvements fécaux et nasaux de chats et chiens domestiques. La détermination des CMI des antibiotiques a été effectuée par la méthode de dilution sur milieu gélosé et la détection des gènes de résistance aux antibiotiques et des intégrons a été réalisée par PCR.

Résultats, discussion et conclusion :

Un total de 35 souches résistantes à la ciprofloxacine a été isolé de 133 prélèvements (26,3%) : *Escherichia coli* (30), *Klebsiella pneumoniae* (2), *Proteus mirabilis* (2), *Morganella morganii* (1). Ces souches ont présenté une résistance à la lévofloxacine (100%) et l'enrofloxacine (40%), ainsi que la résistance à l'amoxicilline et l'oxytétracycline (100%), les bêta-lactamines à large spectre (céfotaxime, céftriaxone, ceftiofur) et la gentamicine (25%). Les déterminants de résistance aux quinolones *qnrB* et *qnrS* ont été détectés chez quatre et une souche, le gène *aac (6')-Ib* de résistance aux aminosides chez trois souches. Les gènes des bêta-lactamases CTX-M (BLSE), TEM et SHV ont été présents chez trois, cinq et deux souches et ceux de résistance à la tétracycline, *tetA* et *tetB*, chez 15 et 9 souches. Les gènes *sul1*, *sulII* et *sulIII* de résistance aux sulfamides ont été retrouvés chez 22, 16 et 8 souches, les gènes *dfrA5*, *dfrA1*, *dfrA7*, *dfrA12* et *dfrA8* de résistance au triméthoprimé chez dix, huit, trois, trois et une souches. Les intégrons de classe I et II ont été détectés chez 26 et 7 souches. Cette étude a mis en évidence chez des animaux domestiques une multi-résistance à des antibiotiques utilisés en thérapeutique humaine, ce qui devrait attirer l'attention sur les conséquences de l'exposition des bactéries aux fluoroquinolones.

Mots clés : résistance - antibiotiques - entérobactéries - chat - chien.

A mechanism for aminoglycosides-mediated SOS induction in *Escherichia coli* that selects for fluoroquinolone resistance

Anamaria Babosan^{1,2} (anamaria.babosan@pasteur.fr), David Skurnik^{3,4}, Anaëlle Muggeo^{5,6}, Gerald B. Pier⁷, Fany Reffuveille⁸, Frédéric Klein⁶, Zeynep Baharoglu², Didier Mazel², Thomas Jové⁹, Marie-Cécile Ploy^{10,9}, François Lebreton⁷, Sébastien Vergnolle¹¹, Christophe de Champs^{1,6}, Thomas Guillard^{1,6}

¹Inserm UMR-S 1250 P3Cell, SFR CAP-Santé, Reims, France

²Institut Pasteur Paris, Paris, France

³Institut Necker-Enfants Malades, Inserm, Paris, France

⁴Hopital Necker, Paris, France

⁵Inserm UMR-S 1250 P3Cell, SFR CAP-Santé, Reims, France

⁶CHU-Reims Robert Debre, Reims, France

⁷Harvard Medical School, Boston, États-Unis

⁸EA 4691 BiOS, SFR CAP-Santé, Reims, France

⁹Inserm UMR 1092 RESINFIT, Limoges, France

¹⁰CHU-Limoges, Limoges, France

¹¹CH-Troyes, Troyes, France

Background and aim:

The SOS stress response is a key mechanism by which bacteria respond to DNA damages. Fluoroquinolones (FQ) are known to induce SOS responses in *Escherichia coli*, while aminoglycosides (AG) generally do not do so. We investigated an unexpected SOS transcriptional response inducing expression of the *qnrD* gene carried on the FQ-resistance plasmid pDIJ09-518a, after treatment with sub-inhibitory concentrations of tobramycin (TM) and AG. We further deciphered the mechanism driving AG-mediated SOS induction in *E. coli* carrying pDIJ09-518a.

Methods:

The expression of *qnrD*, *sfiA* and *hmp* transcripts was measured in *E. coli* MG1656 (WT) and its derivatives ($\Delta recA$, $\Delta lexA$ and $\Delta lexAind3$, Δhmp , $\Delta mutT$, $\Delta nsrR$) carrying pDIJ09-518a using the 2- $\Delta\Delta CT$ method after exposure to ciprofloxacin (CIP), mitomycin (MMC) or tobramycin (TM). Nitrosative stress was assessed by intracellular production of NO using DAF-2 DA fluorescence and Griess assay. The minimal inhibitory concentrations (MIC) were determined by E-test strips. The mutant prevention concentrations (MPC) were determined by plating 10¹⁰ CFU for 72h onto agar plates containing increasing FQ concentrations (ofloxacin, ciprofloxacin and levofloxacin).

Results, discussion and conclusion:

In the WT strain harboring pDIJ09-518a, the transcript expression of *qnrD* and *sfiA* increased >2 fold with CIP and TM, compared to the WT strain. No transcript increase was found in the $\Delta recA$ or $\Delta lexAind3$ derivatives. NO production was significantly elevated in *E. coli* carrying pDIJ09-518a in the absence of AG. In WT/pDIJ09-518a overexpressing Hmp after exposure to AG the *sfiA* expression level was not increased. NO formation and *sfiA* transcript expression were decreased in WT/pDIJ09-51a $\Delta ORF3$. *hmp* transcript expression was decreased in WT/pDIJ09-51a $\Delta ORF4$ and. The CIP MPC of *E. coli* ATCC25922/pDIJ09-518a was higher (2 $\mu\text{g/mL}$ vs 1 $\mu\text{g/mL}$) after exposure to AG. Mutants harvested were not susceptible to CIP (MIC 0.38 – 1.5 $\mu\text{g/mL}$) and showed mutation in *gyrA* and *parC*. We have shown that the *qnrD*-plasmid carriage leads to the nitric oxide formation and inhibition of the NO detoxification pathway Hmp-dependent. These pathways, together with the exposure to AGs, lead to DNA damages that allow SOS response induction. We showed that AG-mediated SOS induction in *E. coli* promote emergence of fluoroquinolone resistance.

Mots clés : antibiotics resistance - qnrD-plasmid - SOS - aminoglycosides - nitric oxide.

Indole signaling triggers a new persistence mechanism involving RaiA mediated translation slowdown in *V. cholerae*

Manon Lang¹ (baharogl@pasteur.fr), Evelyne Krin¹, Chloé Korlowski¹, Sebastian Aguilar Pierlé¹, Odile Sismeiro², Hugo Varet², Jean-Yves Coppée², Céline Fabret³, Olivier Namy³, Didier Mazel¹, Zeynep Baharoglu¹

¹Unité Plasticité du génome bactérien, Institut Pasteur, Paris, France

²Biomics, Institut Pasteur, Paris, France

³I2BC, Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, Gif-sur-Yvette, France

Free-living bacteria commonly face changing environments and are accustomed to cope with varying conditions. Antibiotic (AB) treatments challenge bacteria to develop new survival strategies. Bacteria very frequently encounter low doses of ABs (sub-MICs, for sub-minimal inhibitory concentration) in their various niches, inside their hosts up to the external environments. While low concentrations of ABs do not kill bacteria, they can have a major impact on bacterial populations. Various families of ABs are capable, at concentrations as low as 1% of the MIC, to activate stress responses in pathogenic Gram-negative bacteria from different genera, and such responses can lead to bacterial adaptation and emergence of AB resistance. Sub-MIC ABs were historically proposed to act as intercellular signals, which provoke considerable changes in transcription and trigger a wide variety of cellular responses in different bacterial species. In particular, we observed that sub-MICs of aminoglycosides (AGs) increase the level of indole secretion by *V. cholerae*. Indole is a small signaling molecule produced during tryptophan biosynthesis, and is found in the human body at high concentrations.

We addressed the effect of indole in the bacterial response to AG doses below and above the MIC, using bacterial genetics, molecular tools and transcriptomics approaches.

We found that indole improves growth in the presence of sub-MIC ABs by decreasing intracellular levels of reactive oxygen species. Strikingly, we also found that indole increases persistence of *V. cholerae* to AGs, and that the *tnaA* mutant, deficient for indole production, shows a 100 fold decrease in AG persister formation. Transcriptome analysis of *V. cholerae* in response to indole shows decreased expression of all genes involved in the translation machinery, and a sharp increase in expression of genes involved in translation inhibition, among which *raiA*. RaiA binds the A site of the ribosome thus preventing access of tRNAs and ribosome translocation. Deletion of such genes leads to a strong decrease of AG persister formation. Furthermore, we show a new role for RaiA in translation fidelity. Our results thus show a link between the presence of ABs, cell signaling by the secretion of small molecules (indole), and the appearance of persistent cells.

Mots clés : persistence - aminoglycosides - translation - indole - antibiotic stress.

Evaluation de nouveaux composés antimicrobiens ciblant la protéine FtsZ

Alexia Barbry¹ (alexia.barbry@chu-lyon.fr), Jérémy Magand², Cédric Badiou³, Laurent Soulère², Gérard Lina^{1,3}, Oana Dumitrescu^{1,3}

¹Bactériologie, Hôpital de la Croix Rousse, HCL, Lyon, France

²Equipe Chimie Organique et Bioorganique, Institut de Chimie Biochimie Moléculaire, Villeurbanne, France

³Equipe Pathogénie des Staphylocoques, Inserm U1111, Lyon, France

Introduction :

Dans la lutte contre l'antibiorésistance, l'exploration de nouvelles cibles thérapeutiques est primordiale. De par son rôle central dans la septation bactérienne, la protéine FtsZ est une cible prometteuse. L'équipe de Chimie organique et Bio-organique (Doua, UCBL), a synthétisé 21 composés issus de 4 familles chimiques, inhibiteurs allostériques potentiels de FtsZ obtenus par criblage virtuel basé sur du docking *in silico*. Nous avons d'une part évalué leur activité antibactérienne : concentration minimale inhibitrice (CMI), type d'activité et association à des antibiotiques bactéricides. D'autre part, nous avons évalué l'effet du composé le plus actif sur la virulence de *S. aureus*.

Matériels et méthodes :

L'activité antibactérienne a été évaluée par la détermination des CMI selon les recommandations du CLSI sur 13 souches de *S. aureus* (SARM, SASM). Le type d'activité bactérienne a été caractérisé par des cinétiques de croissance bactérienne en présence de concentrations croissantes d'antibiotiques. L'effet de l'association à d'autres antibiotiques a été déterminé par la méthode bidimensionnelle du damier en microdilution. La PVL (Panton-Valentine Leucocidine) et l'hémolysine- α ont été quantifiées par technique ELISA et les niveaux d'ARNm de PSM α (Phenol-Soluble Modulins) par qRT-PCR.

Résultats :

Parmi les 21 molécules testées, le composé Bz2PYR possède les CMI les plus basses CMI (16-32 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Les cinétiques de croissance indiquent que Bz2PYR est bactériostatique. L'association de Bz2PYR à des antibiotiques bactéricides ciblant la paroi et la membrane bactérienne n'a pas mis en évidence d'interaction.

De la même façon que l'oxacilline, des concentrations inhibitrices et sub-inhibitrices de Bz2PYR augmentent spécifiquement la production de PVL. Contrairement à l'oxacilline, Bz2PYR ne modifie pas la production d'hémolysine- α et d'ARNm des PSM α .

Discussion et conclusion :

L'étude de l'activité des composés antibactériens ciblant FtsZ les résultats s'est révélée décevante par une activité bien moindre à celle des inhibiteurs de FtsZ décrits dans la littérature et par un impact sur l'augmentation de l'expression de la PVL.

Mots clés : Staphylococcus aureus - Activité antibactérienne - Synergie - Inhibiteur FtsZ - Virulence.

Fluoroquinolone resistance mechanisms in multidrug-resistant *Salmonella* Brandenburg isolated from hospitalized patients

Sylvie Baucheron¹ (sylvie.baucheron@inra.fr), Isabelle Foubert¹, Axel Cloeckaert¹, Benoît Doublet¹, François-Xavier Weill², Simon Le Hello^{3,4}

¹ISP INRA Université de Tours, Nouzilly, France

²Unité Bactéries Pathogènes Entériques, CNR Salmonella Institut Pasteur, Paris, France

³Service Hygiène hospitalière, CHU Caen Normandie, Caen, France

⁴GRAM 2.0 EA 2656, Université Caen Normandie, Caen, France

Patients from a french hospital were infected by *Salmonella enterica* serotype Brandenburg multidrug-resistant strains including high-level resistance to fluoroquinolones. The characterisation of resistance mechanisms in a panel of 27 strains isolated between 1992 and 2013 is reported.

Genetic relatedness of the isolates was determined by *Xba*I pulsed field gel electrophoresis and multilocus sequence typing. Fluoroquinolone target gene mutations were identified by sequencing the QRDRs of *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE* genes PCR products. Mutations involved in increased efflux were identified by sequencing the following regulatory loci or genes of efflux pumps: *ramRA*, *soxRS*, *marOR*, *acrR*, and *acrS*. Role of the mutations identified were confirmed by complementing with the respective wild-type genes, MIC determinations and analysis by qRT-PCR of expression of efflux genes affected.

All clinical strains studied were ST20 and grouped in a cluster, indicating a clonal population.

The ciprofloxacin MICs showed increase over time and from 2000 ranged from 8 to 64 mG/L. Regarding target gene mutations several situations were observed:

- one modification in GyrA and ParC (0.25-0.5 mG/L), and one in GyrB (2 mG/L);
- two modifications in GyrA and one in ParC (8-32 mG/L), and one in ParE (32 mG/L);
- two modifications in GyrA and ParC (64 mG/L).

The diversity of the ciprofloxacin MICs levels in strains carrying the same target modifications and the ciprofloxacin MICs decrease (2 to 4-fold) in presence of the PABN efflux pump inhibitor, confirmed the role of the active efflux mechanism.

High and variable expression levels of *ramA* and *acrA* were observed in all multidrug-resistant strains relative to a susceptible strain. Complementation confirmed the role of a RamR modification (Ala40Thr) which was responsible for increased expression of *ramA* (7 to 108-fold) and *acrA* (2 to 7-fold). In addition, a deletion in the RamR binding site resulted in increased expression of *ramA* (20-fold) and *acrA* (10-fold). An IS1 insertion sequence inactivating *acrR*, or the deletion of the *acrR* codon 300 resulted in increased expression of *acrA* (5 to 11-fold).

In conclusion, various novel *ramR* and *acrR* mutations, responsible for increased efflux, were detected in the epidemic serotype Brandenburg ST20 clone.

Molecular Epidemiology of OXA-48-Like-Producing *K. pneumoniae* Isolated in France in 2014

Racha Beyrouthy¹ (rbeyrouthy@chu-clermontferrand.fr), Pierre Saint-Sardos¹, Frédéric Robin¹, Laurent Dortet², Richard Bonnet¹

¹ Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

² Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Clermont-Ferrand, France

Background and objectives:

OXA-48-like-producing *K. pneumoniae* (OKP) are the predominant carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in France. In this work, we describe the molecular and epidemiological characteristics of OXA-48-like-producing *K. pneumoniae* representative of OKP episodes occurred in France in 2014.

Material and methods:

Isolates were identified by MALDI-TOF approaches. Those with reduced susceptibility to ertapenem were investigated for carbapenemase production using a biochemical-based tests and PCR. OXA-48-like-producing isolates were sequenced on an Illumina platform. *De novo* assemblies and reads mapping were used to detect resistance genes, virulence genes and OXA-48-like genetic support. Genotyping was performed by in silico MLST and SNP analysis in *K. pneumoniae* core genome.

Results:

We included the first OXA-48-like-producing *K. pneumoniae* isolate of all episodes (n=163) notified in 2014 through the French healthcare-associated infections early warning and response system. In the 163 corresponding isolates, we identified 79 genetic determinants of resistance to 11 antibiotic families. 5 isolates devoid of natural *bla*SHV gene harboured *bla*LEN and *bla*OKP instead and were identified by sequencing as *K. variicola* and *K. quasipneumoniae* respectively. Four OXA-48-like-encoding genes were detected and *bla*OXA-48 was the predominant carbapenemase-encoding gene (96.3%, n=157). There were encoding by 6 distinct genetic supports including chromosomal insertions, all derived from IncL plasmids. 69.3% of isolates (n=113) also contained ESBL-encoding genes. 46.0% of the isolates harbored a combination of genes affecting amikacin and gentamicin. The main quinolone resistance mechanisms were combinations of *gyrA* and *parC* mutations (58.3%), plasmid-mediated genes *acc(6')/Ib-cr* (56.3%) and *qnr* (53.3%). 3.1% of isolates exhibited *mgrB* alterations affecting colistin susceptibility. Clonality analysis revealed 13 sequence types whose 7 local or interregional epidemic clones involved in 60% of episodes. The analysis of virulence genes revealed only one sporadic isolate ST-38 harboring a combination of genes previously associated with invasive infections (alleles encoding K2 capsule, genes inducing capsule synthesis and accumulation of siderophore-encoding genes).

Conclusion:

This study highlights the role of both successful incL plasmids and clones in the dissemination of OXA-48 in France, which was mainly due to intra-, and at least extend, inter-hospital dissemination.

Mots clés : carbapenemase - antibiotique - résistance - *Klebsiella pneumoniae* - OXA-48.

Use of a semi-mechanistic PK-PD model to quantify the combination effect of polymyxin B and minocycline against polymyxin-resistant *Acinetobacter baumannii*

Vincent Aranzana-Climent¹ (vincent.aranzana.climent@univ-poitiers.fr), Julien Buyck¹, Lena Friberg², Younes Smani^{3, 4}, Jerónimo Pachón-Díaz³, Emma Marquizeau¹, William Couet^{1, 5}, Nicolas Grégoire¹

¹Inserm U1070, Université de Poitiers, Poitiers, France

²Department of Pharmaceutical Biosciences, Uppsala University, Uppsala, Suède

³Institut of Biomedicine of Seville, Seville, Espagne

⁴CSIC/University of Seville, University Hospital Virgen del Rocío, Seville, Espagne

⁵Service de Pharmacologie-Toxicologie, CHU de Poitiers, Poitiers, France

Background:

Polymyxin B (PMB) and minocycline (MIN) combination was shown to be synergistic on polymyxin-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in checkerboard screening experiments. To further investigate this combination, *in vitro* time-kill experiments (TKE) coupled with population analysis profiles (PAPs) were performed on a polymyxin-resistant clinical isolate and results were analyzed with a semi-mechanistic pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) model.

Materials and methods:

A polymyxin-resistant *A. baumannii* clinical isolate CR17 (MIC: PMB 8 mg/L; MIN 4 mg/L) was studied in single drug and combination TKE with determination of total bacterial count between 0 and 30h at concentrations ranging from 1/16 to 4 x MIC for MIN and from 1/128 to 1 x MIC for PMB. The presence of PMB resistant subpopulations was evaluated in parallel by culture and bacterial count on PMB-containing (8 x MIC) plates. Analysis was performed using NONMEM, PsN and R.

Results:

A total of 1376 data points were generated. CR17 exhibited heteroresistance, (frequency: 10-5,5). In single drug TKE, no effect was observed at concentrations <1 x MIC MIN while at concentrations ≥ 1 x MIC a concentration-independent effect was observed, with complete bacterial killing at 30h. PMB alone exhibited a fast concentration-dependent effect followed by regrowth at all tested concentrations. When combining MIN and PMB, total bacterial killing at 30h was observed for concentrations as low as 1/4 x MIC MIN + 1/16 x MIC PMB. Data were adequately described by a model including a phenotypic switch to persistent form at high bacterial concentrations, two subpopulations (PMB-susceptible and PMB-resistant), a growth inhibition effect of MIN, a bactericidal effect of PMB and adaptive resistance to PMB of the susceptible subpopulation. The model interaction parameters indicated a significant synergistic interaction between the two compounds with PMB increasing MIN killing of both subpopulations, and MIN increasing PMB killing of the susceptible subpopulation ($p < 0.001$).

Conclusions:

Combining MIN and PMB *in vitro* proved to be efficient against a polymyxin-resistant clinical isolate. The developed PK-PD model enabled us to quantify the synergistic effect between MIN and PMB.

Mots clés : PK/PD - Modelling - Polymyxin B - Minocycline - *Acinetobacter baumannii*.

***In vitro* study of antibiotic combinations efficacy on multiresistant *Achromobacter xylosoxidans* strains**

Grace Akrong¹ (grace.akrong@univ-poitiers.fr), William Couet^{1,2}, Sandrine Marchand^{1,2}, Julien Buyck¹

¹Inserm U1070, Université de Poitiers, Poitiers, France

²Service de Pharmacocinétique, CHU Poitiers, Poitiers, France

Background:

Achromobacter xylosoxidans is an emerging Gram-negative opportunistic pathogen in cystic fibrosis (CF) patients. These infections are difficult to treat due to the natural resistance to a wide range of antibiotics. Moreover, acquired resistances are frequent in CF thus limiting therapeutic options. The reasons for this emergence are still unknown and the therapeutic guidelines are very limited. Therefore, we performed an *in vitro* study to determine the efficacy of antibiotic combination on multiresistant *A. xylosoxidans* isolates from non-CF and CF patients.

Materials and methods:

Strains 56, 57, 58, 59 and 60 came from five non-CF patients. Strains 43, 44 and 45 were isolated from the sputum of a CF patient at different steps of treatment. MICs were evaluated according to EUCAST guidelines. Antibiotic combinations were screened by checkerboard including minocycline/chloramphenicol, meropenem/ciprofloxacin and tobramycin/piperacillin but also new original ones including rifampicin and colistin. We then investigated the promising combinations in time-kill curve studies (TKC) against CF strains 43 and 45.

Results:

All strains were susceptible to minocycline and chloramphenicol, and resistant to rifampicin. Strains 56 and 57 were susceptible to all tested antibiotics. Strains 58, 59, 60 and 43 were resistant to ciprofloxacin and aminoglycosides. Strains 44 and 45 were resistant to all tested antibiotics. We selected 5 strains (56, 59, 43, 44 and 45) for checkerboard: Piperacillin/colistin and tobramycin/piperacillin combinations were synergistic. Combinations including Rifampicin were synergistic against the CF strains. Minocycline/chloramphenicol combination was synergistic against the non-CF strains. Rifampicin/tobramycin TKC showed a concentration-dependent killing effect on CF resistant strain followed by a regrowth for the lower concentrations. The piperacillin/colistin combination was not active against CF strain 45 but showed rapid killing until the limit of detection for intermediate CF strain 43 from quarter MIC of each antibiotic.

Conclusions:

In conclusion, two efficient antibiotic combinations on CF *A. xylosoxidans* isolates were identified. The first one, piperacillin/colistin appears to be effective on strains that are susceptible to piperacillin. And the second, rifampicin/ tobramycin could allow to treat infections due to resistant strains to a wide spectrum antibiotic.

Mots clés : *Achromobacter xylosoxidans* - antibiotic combinations - cystic fibrosis.

In vitro* evaluation of novel bi- or tri-antibiotic combinations against clinical isolates of *Mycobacterium abscessus

Shachi Mehta (shachi.mehta@univ-poitiers.fr), Blandine Rammaert, William Couet, Sandrine Marchand, Julien Buyck

Université de Poitiers, CHU Poitiers, INSERM U1070, Poitiers, France

Introduction and objective:

Mycobacterium abscessus is an emerging pathogen, intrinsically resistance to many antimycobacterial drugs. The recommended treatment is limited to combination of intravenous amikacin (AMK), and ceftioxin (FOX) with oral clarithromycin (CLR). However, recent reports demonstrate intrinsic resistance to CLR in *M. abscessus* clinical isolates. Fluoroquinolones, rifamycins, linezolid (LZD) or clofazimine (CLO) can be added when standard therapy is ineffective. This study aims to evaluate the *in vitro* efficacy of several combinations against clinical isolates of *M. abscessus* including FOX and AMK and replacing CLR to avoid the induced resistance.

Materials and methods:

Minimum inhibitory concentration (MICs) were determined for ciprofloxacin (CIP), moxifloxacin (MXF), rifampicin (RIF), rifabutin (RFB), CLO, LZD and CLR according to CLSI guidelines. Then, these antibiotics were investigated in tri-combinations with FOX plus AMK to compare their efficacy against *M. abscessus* reference strain CIP104536, and two clinical isolates Ma1611 and T28 using time-kill kinetic assays. Efficacy of several bi-combinations was evaluated against T28.

Results, discussion and conclusion:

Clinical isolate T28 was resistant to all antibiotics, CIP104536 and Ma1611 were susceptible to intermediate against all tested antibiotics. Tri-combinations including FOX plus AMK in presence of LZD, MXF, RIF or RFB were active against CIP104536 and Ma1611. Tri-combinations including CLO or CIP were also active against CIP104536 but inactive against Ma1611. All tested triple combinations were inactive against T28. Since T28 was highly resistant to AMK and FOX alone demonstrated only initial killing followed by regrowth, FOX was used in bi-combinations. Hereafter, bi-combinations of FOX with LZD, RIF and RFB were effective and prevented the regrowth observed with FOX alone. Bi-combination FOX with RFB was the most active against strain T28. Tri-combinations were highly efficient against *M. abscessus* reference strain and intermediate to susceptible clinical isolate Ma1611 but not against multidrug-resistant isolate T28. The synergy between FOX and rifamycins suggests a potent role of this combinations that may warrant further optimization of treatment regimen for the treatment of *M. abscessus* pulmonary infections.

Mots clés : *Mycobacterium abscessus* - tri-combinations - multidrug-resistant strain.

“PK/PD” type of modelling approach to support time-kill data interpretation of cefoxitin for the treatment of *Mycobacterium abscessus*

Shachi Mehta (shachi.mehta@univ-poitiers.fr), Vincent Aranzana-Climent, Blandine Rammaert, Nicolas Grégoire, Sandrine Marchand, Julien Buyck, William Couet

Université de Poitiers, CHU Poitiers, Inserm U1070, Poitiers, France

Introduction and objective:

Despite the limited clinical and *in vitro* activity, cefoxitin (FOX) is one of the promising “silver bullets” of standard regimen against *Mycobacterium abscessus* infections. However, FOX is known to degrade *in vitro*. Consequently, time-kill assays performed up to more than a week and MIC interpretation over 3 days give a *de facto* misleading impression of the true extent of FOX activity. Therefore, we addressed the impact of FOX *in vitro* stability on time-kill curve data using pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) type modeling approach.

Materials and methods:

Time-kill assays were performed in middlebrook 7H9 broth against *M. abscessus* CIP104536. *M. abscessus* were exposed to initial FOX concentrations ranging from 2 to 1024 mg/L at 35±2°C up to 8 or 11 days. *In vitro* FOX concentrations were measured for 8 days using LC-MS/MS. CFU counts and FOX concentrations over time were analyzed separately, using a nonlinear fixed-effects PK/PD type modeling approach using NONMEM.

Results, discussion and conclusion:

FOX degradation followed a first order kinetics with half-life of 1.5 days. Time-kill curves showed that a CFU decay followed by a regrowth occurs for initial FOX concentrations between 12 and 175 mg/L, and that time to regrowth increased with the initial FOX concentrations. Above 256 mg/L, complete bacterial killing was observed. Data were adequately described by a model including two subpopulations (FOX-susceptible and FOX-resistant), *in vitro* degradation of FOX, a logistic growth and an I_{max} type growth inhibition effect of FOX. From the model parameters, we could calculate FOX concentration above which CFU decay is expected, under the hypothesis of stable FOX concentrations: 14.2 mg/L for susceptible subpopulation and 217 mg/L for the resistant subpopulation. In the literature, maximum unbound C_{ss} was 5.5 mg/L in humans after an infusion of 2g over 8h, which is not enough to induce a decay of either subpopulation. *In vitro* time-kill assays analyzed with PK/PD type modeling approach suggests FOX dosing regimens used in clinic for the treatment of *M. abscessus* are not sufficient to reduce the bacterial burden. This may explain the treatment failure often faced with this infection. Using FOX in nebulization and/or in combination could resolve this situation.

Mots clés : Cefoxitin - dégradation - *in vitro* stability - pharmacodynamiques.

Caractérisation de *cfr(D)*, un nouveau gène plasmidique de résistance au linézolide chez *Enterococcus faecium*

Vincent Cattoir^{1, 2, 3} (vincent.cattoir@chu-rennes.fr), François Guérin⁴, Mohamed Sassi², Asma Zouari^{1, 3}, Sophie Potrel^{1, 3}, Michel Auzou⁴, Anaïs Collet^{1, 3}, Gabriel Auger^{1, 3}

¹CHU de Rennes, Rennes, France

²Université de Rennes, Rennes, France

³CNR Résistance aux Antibiotiques, Rennes, France

⁴CHU de Caen, Caen, France

Introduction et objectifs :

La résistance au linézolide peut être due à des mutations chromosomiques ou à une acquisition de gènes transférables tels que *cfr*, *optrA* et *poxA*. A ce jour, 3 variants du gène *cfr* ont été décrits : *cfr* chez les staphylocoques et les entérocoques, *cfr(B)* chez les entérocoques, *cfr(C)* chez *Campylobacter* spp. et *Clostridium difficile*. L'objectif de ce travail a été de caractériser un nouveau gène *cfr* dénommé *cfr(D)* identifié chez *Enterococcus faecium*.

Matériels et méthodes :

La souche d'*E. faecium* 15-307.1 a été isolée en 2015 d'un écouvillon ano-rectal d'un patient hospitalisé en France. Les CMI ont été déterminées par la méthode de microdilution en milieu liquide. Le génome de la souche 15-307.1 a été séquencé par la technologie MiSeq (Illumina). Le gène *cfr(D)* a été cloné dans le vecteur navette pAT29 et introduit chez *E. coli* AG100A, *E. faecium* HM1070 et *E. faecalis* JH2-2. Sa transférabilité a été évaluée *in vitro* par conjugaison avec la souche réceptrice *E. faecium* BM4107.

Résultats, discussion et conclusion :

La souche 15-307.1 (ST17) était résistante aux glycopeptides (CMI vancomycine et téicoplanine = 256 et 32 mg/L, respectivement) par acquisition d'un opéron *vanA*. Elle était également résistante aux oxazolidinones (CMI linézolide et tédizolide = 16 et 8 mg/L, respectivement) avec la présence d'un gène *optrA*. De plus, un nouveau variant du gène *cfr* a été identifié, codant pour une protéine baptisée Cfr(D) qui présentait 64%, 64% et 48% d'identité protéique avec Cfr, Cfr(B) et Cfr(C), respectivement. Les essais de conjugaison ont confirmé la transférabilité *in vitro* de *cfr(D)* (avec *optrA* mais pas *vanA*) chez *E. faecium*. Le plasmide recombinant pAT29W*cfr(D)* était responsable d'un phénotype PhLOPSA chez *E. coli* AG100A alors qu'aucune résistance n'était observable avec les souches réceptrices d'entérocoques. Ce travail a mis en évidence un nouveau variant Cfr chez une souche clinique d'*E. faecium*. Ce gène était localisé sur un plasmide qui portait également le gène *optrA*. De façon surprenante, le clonage du gène *cfr(D)* ne conférait pas résistance chez les entérocoques alors que le gène était bien exprimé. Cette différence phénotype semble être liée à la bactérie-hôte.

Mots clés : Entérocoques - *E. faecium* - Linézolide - Cfr - Résistance plasmidique.

Bilan des entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) en France, 2006-2018

Vincent Cattoir^{1,2} (vincent.cattoir@chu-rennes.fr), Gabriel Auger^{1,2}, Asma Zouari², Michel Auzou³, Sophie Potrel^{1,2}, François Guérin³, Anaïs Collet^{1,2}, Marguerite Fines-Guyon³

¹CHU de Rennes, Rennes, France

²CNR Résistance aux Antibiotiques, Rennes, France

³CHU de Caen, Caen, France

Introduction et objectifs :

Les entérocoques représentent une cause importante d'infections nosocomiales. Depuis plusieurs années, les souches d'entérocoques résistantes à la vancomycine (ERV) diffusent dans le monde, posant un véritable problème de santé publique, en particulier aux Etats-Unis. Elles restent pour l'instant rares en France mais doivent cependant être étroitement surveillées voire faire l'objet d'un signalement dans le cas de l'espèce *Enterococcus faecium*. Cette surveillance est le rôle du CNR de la résistance aux antibiotiques (laboratoire associé « Entérocoques »), dont nous présentons ici les principales données observées.

Matériels et méthodes :

Les souches ont été envoyées au CNR entre 2006 et 2018 dans le cadre d'une demande de caractérisation de résistance ou de comparaisons de souches. L'identification à l'espèce a été réalisée par PCR puis par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Microflex, Bruker). La sensibilité *in vitro* des antibiotiques a été évaluée par méthode en diffusion et mesure des CMI (Etest, bioMérieux puis Sensititre, Thermo Fisher Scientific). La détection des gènes de résistance *van* a été réalisée par PCR ainsi que celle des gènes de résistance au linézolide (*cfr*, *optrA* et *poxxA*).

Résultats, discussion et conclusion :

Entre 2006 et 2018, le CNR a reçu 5524 souches, ce qui représente près de 425 souches par an en moyenne, avec 2 pics en 2008 et 2018 dus à des épidémies de grande ampleur (réception de 864 et 867 souches, respectivement). Parmi celles-ci, 4670 étaient résistantes à la vancomycine, soit environ 85 % des souches analysées. La majorité de ces ERV appartenait à l'espèce *faecium* (96 % des souches) et un peu plus de 3 % à l'espèce *E. faecalis*. La résistance était principalement due au gène *vanA* (71 %) suivi des gènes *vanB* (28 %) et *vanD* (<1 %). Enfin, l'année 2017 a vu apparaître l'émergence des souches d'entérocoques résistantes au linézolide (ERL), survenant par mutations chromosomiques ou par acquisition de gènes transférables (principalement *optrA* et *poxxA*). Cette émergence s'est malheureusement confirmée en 2018, ce qui souligne la diffusion inquiétante des ERL en France et l'importance de la détection cette résistance, pas toujours aisée phénotypiquement.

Mots clés : Enterococcus - ERV - vanA - vanB - ERL.

La g enotoxine colibactine est produite lors d'infections urinaires   *Escherichia coli* et induit des dommages   l'ADN dans la vessie

Camille Chagneau^{1,2} (camille.chagneau@inserm.fr), Clémence Massip^{1,2}, Christophe Fremez³, Maxime Fontani ³, Nicolas C enac¹, Patricia Martin¹, Jean-Philippe Nougayr de¹, Eric Oswald^{1,2}

¹Inserm/IRSD, Toulouse, France

²Laboratoire de Bactériologie, CHU Toulouse, Toulouse, France

³Vibiosphen, Labège, France

Certaines souches de *Escherichia coli* possèdent l'îlot de pathogénicité *pks* qui code pour la colibactine, une g enotoxine induisant des dommages   l'ADN. Les bactéries portant l'îlot *pks* qui colonisent le tractus digestif sont suspect es de jouer un rôle dans le développement du cancer colorectal. Le microbiote intestinal est aussi le réservoir des *E. coli* uropathogènes, bactéries majoritairement responsables des infections urinaires. Une étude épidémiologique r alis e aux urgences du CHU de Toulouse sur 223 patients a montré que près de 45% des souches de *E. coli* isol es d'infections urinaires possèdent l'îlot *pks*, comme la majorité des souches associ es aux biopsies de cancers colorectaux. Notre objectif est donc d'examiner l'expression et l'impact de la colibactine sur les cellules urothéliales lors d'une infection urinaire.

Nous avons utilisé un modèle murin d'infection urinaire par inoculation transurétrale d'une *E. coli pks+*. L'utilisation d'un système rapporteur d'expression indique que la machinerie de biosynthèse de la colibactine est exprim e lors de l'infection, en particulier dans les communautés bactériennes intracellulaires. Cette activité transcriptionnelle est associ e   la production d'une g enotoxine fonctionnelle. En effet, les cellules urothéliales infect es par la souche *E. coli pks+* (mais pas par un mutant isogénique ne produisant pas la colibactine) montrent la phosphorylation de l'histone H2AX en réponse aux dommages   l'ADN. Les *E. coli pks+* induisent donc des dommages   l'ADN des cellules de l'urothélium liés   la production de colibactine. Pour valider cette observation chez l'Homme, nous avons étudié la présence d'un métabolite marqueur de la colibactine (le C14-Asn) dans les urines humaines. Nous avons détecté le C14-Asn par LC-MS/MS dans 50/223 urines humaines de patients avec une infection urinaire, correspondant toutes   l'isolement d'une souche *pks+*. Nous démontrons donc pour la première fois la production de la g enotoxine *in vivo* chez l'Homme. La production de colibactine pourrait avoir un impact sur le déroulement d'une infection urinaire aiguë mais avoir aussi des conséquences   long terme, notamment dans le cadre d'infections chroniques ou asymptomatiques.

Mots clés : *Escherichia coli* - colibactine - infection urinaire - îlot *pks* - g enotoxine.

Clonal transmission, new mechanism of resistance to trimethoprim in a new *Stenotrophomonas maltophilia* sequence-type isolated in a neonatology unit deciphered by whole genome analysis

Jean-Marc Collard¹ (jmcollard@pasteur.mg), M.A.N. Rabenandrasana¹, V.H. Andrianoelina¹, M. Bonneault², H. Herindrainy³, B. Garin⁴, S. Breurec⁵, E. Delarocque-Astagneau², Z.Z. Andrianirina⁶, V. Enouf⁷, B.T. Huynh², L. Opatowski²

¹Bactériologie Expérimentale, Institut Pasteur de Madagascar, Antananarivo, Madagascar

²B2PHI, Institut Pasteur, Paris, France

³Unité d'Epidémiologie, Institut Pasteur de Madagascar, Antananarivo, Madagascar

⁴Laboratoire Immuno-Hématologie, CHU Pointe-à-Pitre, Aymes, Guadeloupe

⁵Institut Pasteur de la Guadeloupe, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe

⁶Pediatric Ward, Centre Hospitalier de Soavinandriana, Antananarivo, Madagascar

⁷Plateforme de Microbiologie Mutualisée, PINnet, Paris, France

Introduction:

Stenotrophomonas maltophilia has been recognized as an emerging multidrug resistant organism in hospital settings due to its proficiency to resist to a broad range of antimicrobial agents. Trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT) is recommended as one of the best treatment choices against *S. maltophilia* infections; however increasing resistance to SXT has complicated the treatment. This study aimed to investigate the transmission of four SXT resistant *S. maltophilia* isolated in a neonatology unit and to characterize their resistance to SXT.

Materials and methods:

Newborns, accompanying family members, nurses and surfaces were followed to assess the transmission of bacteria resistant to antibiotics between individuals and ward environments during a longitudinal study conducted in a neonatal intensive care unit. All samples were cultivated on CHROMagar™ ESBL and each colony morphotype was identified by MALDI-TOF mass spectrometry. AST and whole genome sequencing was realized on specific isolates. Genome annotation, mutation detection, phylogenomic, MLST *in silico*, protein structure prediction and molecular docking were performed.

Results:

From January to March 2015, 4 *S. maltophilia* strains were successively isolated from a water-tap (N=1), from feces obtained from a newborn (N=1), and from nursing staff (N=2). They were resistant to SXT, carbapenems, norfloxacin and intermediate to levofloxacin and ciprofloxacin. All 4 strains were identical based on coregenome alignment and belonged to the new ST-288. Each isolate carried the *aadB*, *strA*, *strB* and *sul1* genes located in a class I integron. A sequence encoding a chaperone from the GroEL family was found upstream the *sul1* gene. Single nucleotide mutations in *folA*, *folC* and *folM* genes which are the targets of the trimethoprim were detected. Only the mutation in *folA* has an effect on the activity of the protein by diminishing its affinity of trimethoprim.

Conclusion:

Our findings demonstrated the consecutive transfers of SXT-resistant *S. maltophilia* from the environment to patient and staff based on the isolation dates. Due to the absence of the *dfrA* gene, we hypothesize that the single nucleotide mutation in *folA* could be responsible for trimethoprim resistance. We also suggest that GroEL could confer an additional activity on antibiotic resistance by hampering ribosomal misreading and protein misfolding.

Mots clés : *Stenotrophomonas maltophilia*, Trimethoprim/sulfamethoxazole resistance, WGS, clonal transmission.

Support, environnement génétique et transférabilité du gène de résistance au linézolide *poxxA* chez les entérocoques

Loren Dejoies^{1,2} (loren.dejoies@chu-rennes.fr), Julie Moreaux², Asma Zouari^{1,3}, Sophie Potrel^{1,3}, Anaïs Collet^{1,3}, Gabriel Auger^{1,3}, Vincent Cattoir^{1,2,3}

¹Bactériologie et Hygiène Hospitalière, CHU de Rennes, Rennes, France

²Université Rennes 1, Rennes, France

³Laboratoire associé 'Entérocoques', CNR de la Résistance aux Antibiotiques, Rennes, France

Introduction et objectifs :

Le linézolide (LZD) est prescrit pour le traitement des infections dues aux entérocoques résistants à la vancomycine (ERV). La résistance au LZD survient par mutations chromosomiques ou par acquisition de gènes transférables tels que *cfr*, *optrA* et *poxxA*. Des premières données chez les entérocoques en France retrouvaient une prévalence globale de *poxxA* de 5,5 %, avec une prédominance chez *Enterococcus faecium* (6,4 %). L'objectif de ce travail a été d'explorer le support et l'environnement génétique de souches d'entérocoques *poxxA*(+) et d'évaluer la transférabilité du gène.

Matériels et méthodes :

Une collection de 14 souches cliniques d'entérocoques (1 *E. faecalis*, 13 *E. faecium*) *poxxA*(+) isolées en France entre 2016 et 2019 et non reliées épidémiologiquement a été étudiée. Les isolats ont été séquencés par la technologie MiSeq Illumina. Les séquences génomiques ont été analysées avec les outils CLC Genomics Workbench (Qiagen), MLST, ResFinder (Center for Genomic Epidemiology) et Blast (NCBI). La transférabilité du gène a été évaluée *in vitro* sur 4 souches par des expériences de conjugaison (souches réceptrices *E. faecalis* JH2-2, *E. faecium* BM4107).

Résultats, discussion et conclusion :

La présence du gène *poxxA* a été confirmée par WGS pour les 14 isolats testés. Le typage MLST a permis d'identifier un ST pour 10 souches et de mettre en évidence un lien de clonalité entre 5 souches ST168. Le gène *poxxA* a été identifié au sein d'un transposon de type Tn6246 (flanqué de séquences d'insertion IS1216) porté par un plasmide (similarités retrouvées avec les plasmides pE076 et pE035). Les essais de conjugaison ont confirmé la transférabilité *in vitro* du gène *poxxA* chez *E. faecalis* et *E. faecium*.

Le gène *poxxA* a déjà diffusé au sein des souches d'entérocoques en France (notamment *E. faecium*), et ce indépendamment des gènes *van*, *cfr* et *optrA*. Ce travail préliminaire a révélé l'existence d'un cluster de 5 souches *poxxA*(+) isolées entre 2017 et 2018 et issues de zones géographiques différentes. Le support plasmidique du gène *poxxA* au sein d'un transposon composite et la confirmation de sa transférabilité au sein des espèces testées permettent d'expliquer l'émergence des souches d'entérocoques résistantes au LZD.

Mots clés : Enterococcus - Linézolide - *poxxA* - WGS - Conjugaison.

Global analysis of beta-lactams resistant plasmids

Pierre-Emmanuel Douarre (pierre-emmanuel.douarre@anses.fr), Ludovic Mallet, Nicolas Radomski, Arnaud Felten, Michel-Yves Mistou

Food Safety Laboratory, ANSES, Maison Alfort, France

Introduction and objectives:

Plasmids contribute to the epidemic propagation of antibiotic resistance genes in bacterial pathogens and the dissemination of multidrug-resistant plasmids is an increasing threat for modern medicine. One of the major global health concerns is the emergence of resistance to extended-spectrum beta-lactams (ESBL) and carbapenem; resistance commonly associated with plasmids. The objective of this study is to decipher the diversity of beta-lactams-resistant plasmids.

Materials and methods:

We have created a comprehensive database with all complete bacterial plasmids and associated meta-data sourced from the NCBI database. This new collection is composed of 12084 plasmids found in 1564 distinct bacterial species that were isolated worldwide over more than 100 years. Plasmids were classified based on replication (REP) and mobilization (MOB) typing using MOB-suite and the mobility was predicted from the mobilization system. *In silico* prediction of the resistance phenotype was performed by searching genes using blast against the Resfinder database.

Results, discussion and conclusion:

Overall, 179 different beta-lactamase variants were detected in 2155 plasmids (18%). The most common variant identified was TEM-1 (n=632) followed by KPC-2 (n=269) and OXA-1 (n=200). The beta-lactamases included the four molecular classes (A-D) and belonged to 33 different enzyme families. The majority of the beta-lactams-resistant plasmids (92%) also carried genes conferring resistance to other antibiotics. Resistance to aminoglycosides was the most common phenotype associated with beta-lactams followed by sulfonamides and trimethoprim and 52 % of the plasmids were multidrug-resistant. The 2155 plasmids were isolated from 127 distinct species. The majority (n=1673), were associated with Enterobacteriaceae. However, plasmids from Staphylococcaceae (n =154), Moraxellaceae (n=94), Pseudomonadaceae (n=43) and 15 other bacterial families (n=191) were also represented. We found that 100 different REP-types and all MOB-types were identified where replication families IncF, IncI and IncX and mobilization genes MOB_P, MOB_F and MOB_H were the most abundant. The presence of multiple replicons, facilitating the dissemination, was observed in 951 plasmids. Based on the mobilization typing, 82% of the plasmids were predicted to be mobile (68% conjugative and 14% mobilizable). This analysis demonstrates that beta-lactams-resistant plasmids are very diverse, highly mobile and often confer resistance to several class of antibiotics.

Mots clés : Plasmid - Resistance - Beta-lactamase - ESBL - Carbapenem.

Sensibilité *in vitro* de souches du microbiote intestinal aux antibiotiques

Florine Ecale¹ (florine.ecale@univ-poitiers.fr), Manilduth Ramnath², Jean-Marc Berjeaud¹, Marie-Hélène Rodier^{1,3}, Alexandre Crépin¹

¹Laboratoire EBI, UMR CNRS 7267, Université de Poitiers, Poitiers, France

²Eurofins CEREP France, Celle-Lévescault, France

³Laboratoire de Parasitologie & Mycologie, CHU de Poitiers, Poitiers, France

Un microbiote se définit comme un ensemble de microorganismes vivant dans un environnement spécifique en interaction avec son écosystème. Chez l'Homme, le principal est le microbiote intestinal, dont la connaissance reste incomplète. Les techniques dites « omiques » s'intéressent notamment aux conséquences que peuvent avoir les médicaments sur la composition du microbiote intestinal. A ce jour, peu de publications ont rapporté les effets de médicaments sur la croissance de bactéries composant le microbiote intestinal en utilisant une approche dite de « culturomique ». Nous nous sommes intéressés à certains antibiotiques couramment prescrits pour lesquels les seules données connues sont la sensibilité des souches dites pathogènes et non celles des souches commensales. Nous avons ainsi déterminé *in vitro* la sensibilité de bactéries composant le microbiote intestinal vis-à-vis de 7 antibiotiques

La sensibilité de 17 souches bactériennes représentant une partie du socle commun du microbiote intestinal a été étudiée vis-à-vis de 7 antibiotiques utilisés en pratique courante. Pour cela, des antibiogrammes en anaérobiose ont été réalisés sur le milieu unique mGam par la technique des disques. Les diamètres d'inhibition ont été mesurés après 48 heures d'incubation à 37°C afin de déterminer la sensibilité de chaque souche à l'antibiotique.

Dans nos conditions d'anaérobiose, toutes les souches étudiées sont sensibles à l'amoxicilline, à l'amoxicilline/acide clavulanique et à la moxifloxacine. 11 souches sont sensibles au métronidazole, 14 à l'érythromycine et 15 à la cefpodoxime. Cependant seules 4 souches sont sensibles à l'association sulfaméthoxazole/triméthoprime.

Cette étude est la seule, à notre connaissance, qui s'intéresse à la sensibilité des souches commensales du microbiote intestinal vis-à-vis des antibiotiques par une approche *in vitro*. Elle permet de mettre en évidence que certaines souches commensales du microbiote intestinal possèdent une résistance intrinsèque vis-à-vis d'antibiotiques utilisés en pratique courante.

Certains antibiotiques, en inhibant des souches du microbiote intestinal, peuvent ainsi être indirectement responsables d'effets indésirables provoqués par d'autres molécules prises concomitamment et dont le métabolisme a été modifié par la disparition de certaines souches ou par la croissance anormale d'autres souches.

Mots clés : Microbiote intestinal - antibiotique - sensibilité - *in vitro*.

Kinetic characterization of soluble form of *Enterococcus hirae* PBP4 using bocillin

Youssef El Fattahi (yelfattahi@student.uliege.be), Ana Amoroso, Bernard Joris

CIP/Physiologie et génétique bactérienne, Université de Liège, Liège, Belgique

Enterococcus hirae's PBP4 belongs to the penicillin binding protein (PBP) family. This bacterium possesses, at least, 6 PBP, PBP1 to PBP6. PBP4 is 75-kDa, membrane-anchored by its N-terminus polypeptide chain (Jacques and al, 1991). Its function remains unknown and its kinetic parameters has not been characterised so far. In this study we produced and characterised soluble PBP4 (sPBP4) and determined its kinetic parameters with several beta-lactams using a competition assay, including a labelled antibiotic (Bocillin). Based on our results, we showed that PBP4 is quite sensitive to Penicillins and much less to Carbapenems. But it exhibits no inhibition by Monobactams and Cephalosporin excepted Ceftobiprole that remains efficient against sPBP4. Further studies will be undertaken to determine the physiological role of PBP4. The obtention of the *pbp4*- will allow to establish the effects of this deletion on growth rate, morphological aspects and resistance to β -lactams.

Mots clés : Kinetics - PBP4 - *Enterococcus hirae* - beta-lactams.

Références :

1. Jacques, P. and al, (1991) FEMS Microbiol
2. Sauvage, E. and al, (2002) Cell Mol Life Sci.
3. Ghuysen, J and al, (1986) Biochem J.
4. Goffin & Ghuysen, (1998) Microbiol Mol Biol Rev.

Épidémiologie moléculaire de souches d'*Enterobacter cloacae* productrices de métallob-lactamase de type VIM en France entre 2015 et 2018

Cécile Emeraud^{1, 2, 3} (cecile.emeraud88@gmail.com), Caroline Petit¹, Laurent Dortet^{1, 2, 3}

¹Laboratoire de bactériologie, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

²EA7361, Paris-Sud University, Le Kremlin Bicêtre, France

³CNR de la résistance aux antibiotiques, Le Kremlin-Bicêtre, France

Introduction et objectifs :

Le nombre de souches d'ECC productrices de carbapénèmase de type VIM- reçues au CNR de résistance aux antibiotiques de l'hôpital Bicêtre a été multiplié par 4 entre 2015 et 2018. L'objectif de ce travail est d'étudier à l'échelle moléculaire l'épidémiologie des souches d'ECC circulant en France

Matériels et méthodes :

Au total, 149 souches d'ECC productrices de carbapénèmase de type VIM- (VIM-1 (n=58), VIM-4 (n=61), VIM-1 + VIM-4 (n=26), VIM-2 (n=3) et VIM-19 (n=1)), reçues au CNR entre 2015 et 2018 ont été étudiées. L'ensemble des génomes a été séquencé par Illumina®. Une des souches produisant VIM-1 et VIM-4 utilisée comme référence a également été séquencée par la technologie PacBio. Une détermination du «sequence-type » a été réalisée (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST/>). Une analyse phylogénomique a permis d'identifier les différents clones circulants (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/CSIPhylogeny/>). Pour chaque clone, l'environnement et le support génétique du gène *bla*VIM a été étudié par conjugaison ou transformation dans *Escherichia coli*.

Résultats :

L'analyse des génomes des souches d'ECC produisant la carbapénèmase VIM a permis d'identifier 4 ST majoritaires : ST-873 (n=26), ST-66 (n=18), ST-78 (n=14) et ST-419 (n=12). Il ne semble pas y avoir de lien entre le ST et type de carbapénèmase VIM.

Les gènes *bla*VIM-1 et *bla*VIM-(1+4) sont majoritairement portés par des plasmides de type IncA/C (n= 22/31 et 7/9 respectivement) et IncN (n=7/31 et 2/9). Le gène *bla*VIM-4 est exclusivement porté par un plasmide de type IncHI2. Le gène *bla*VIM-4 est quant à lui porté par un plasmide de type IncA/C.

Tous les gènes *bla*VIM-1 étudiés sont hébergés dans un intégron de type In916 alors que les gènes *bla*VIM-4 sont situés dans un intégron de type In416. Le gène *bla*VIM-2 est quant à lui hébergé dans un transposon de type Tn1332. L'analyse par PacBio d'une souche productrice de carbapénèmase de type VIM-1 + VIM-4 a permis d'identifier l'intégron portant *bla*VIM-1 et *bla*VIM-4: 5'CS-*bla*VIM-1-*aacA27*-*bla*VIM-4-3CS'.

Cette étude a permis d'identifier les principaux clones d'ECC produisant la carbapénèmase VIM circulants en France et de caractériser les supports génétiques impliqués dans la diffusion de *bla*VIM- dans les différentes espèces de ce complexe.

Mots clés : métallob-lactamase - VIM - *Enterobacter cloacae*.

The Crohn's disease associated *E. coli* LF82 forms intracellular bacterial communities inside macrophages where antibiotic tolerant persisters accumulate

Olivier Espeli (olivier.espeli@college-de-france.fr), Victoria Prudent, Gaelle Demarre

CIRB Collège de France, Paris, France

Patients with Crohn's disease present an abnormal colonization of the intestine by proteobacteria, among these the family of Adherent Invasive *E. coli* (AIEC) has been characterized. AIEC are found in intestinal lesions in patients with inflammatory bowel disease. AIEC are predominant in the mucus, adhere to epithelial cells, colonize them and survive inside macrophages. In the laboratory we are particularly interested in the characterization of AIEC adaptation to survival and growth inside macrophages. AIEC resides inside mature phagolysosomes that provide a stressful environment (acid pH, oxidative stress, nutrient starvation, etc.). This environment dramatically limits the growth of other *E. coli* strains. We have recently demonstrated that stringent response and SOS induction are critical for AIEC survival and multiplication within macrophages. Here I will present our recent data showing that, during the early time points of macrophage infection, AIEC produce an extrabacterial matrix composed of sugars and curli fibers. Super-resolution STED microscopy shows that each individual bacterium is surrounded by the matrix. AIEC multiplication resumes 10 hours post infection when the matrix is mature. We demonstrated that altering the pathways involved in biofilm formation severely impacted the building of the mature matrix and AIEC survival within macrophages. This suggests that intracellular bacterial communities with biofilm like properties are formed by AIEC inside phagolysosomes. Interestingly we also demonstrated that this matrix enhances the number of antibiotic tolerant AIEC present inside macrophages. Finally we have identified some AIEC genes, absent in the genome of commensal *E. coli*, which are required for the matrix formation. The putative selective advantages of this strategy to establish a niche in a highly toxic vacuole will be discussed.

Mots clés : crohn's disease - *Escherichia coli* - biofilm - persisters - stress adaptation.

A new, simple and direct method to assess antimicrobial properties of untreated wood

Muhammad Tanveer Munir¹ (tanveer.munir@ecoledubois.fr), H  l  ne Pailhori  s², Matthieu Eveillard², Christophe Belloncle¹, Michel Federighi³

¹LIMBHA, Ecole Sup  rieure du Bois, Nantes, France

²ATOMycA, Inserm U892, CHU Angers, Angers, France

³UMR 1014 SECALIM, Oniris, Nantes, France

Introduction:

Wood is an organic and renewable material which is widely used in food and construction industries. It has been shown to have hygienic benefits as a contact surface for the food industry. Therefore, the demonstration of potential hygienic properties could be an additional advantage for its utilization in hygienically important places.

The objective of the study was to develop a simple and direct screening method to assess the antimicrobial activities of untreated wood material.

Materials and methods:

Wood samples consisted of 9 mm diameter wood discs cut (manually or by laser) in transversal (RT) and tangential (LT) directions, from 8 wood species, including poplar, pine, ash, oak (American & European), European beech, okum  , douglas fir. Each disc was tested against 10 strains of important bacteria in hospital hygiene (*S. aureus*, *E. coli*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* and *E. faecalis*). Bacterial suspensions adjusted to a density of 0.5 MacFarland were inoculated by streaking on Mueller-Hinton agar plates. Then wood discs were placed directly on agar plates with positive (Vancomycine (5  g) and Colistine (25  g)) and negative controls (inert paper discs). Each plate (12cm x 12 cm) was utilized to test 16 sample discs (4x4) and incubated at 37  C for 24 hours. The experiment was performed in triplicates and the inhibition zones, if present, were blindly measured by two different people.

Results and discussion:

Areas of inhibition were measured around the wooden discs placed on Mueller Hinton agar. The inhibition diameters were variable according to tree species and the direction of the cut (Radial or Longitudinal). This study showed that wood disc diffusion can be used to easily and rapidly screen antimicrobial properties of untreated wood samples.

Mots cl  s : agar diffusion - antimicrobial properties - Woods - hygiene - onehealth.

A conjugation-based delivery vehicle with CRISPR-Cas system targeting carbapenemase encoding genes

Nicolas Charbonnel¹ (nicolas.charbonnel@uca.fr), Damien Balestrino¹, Geneviève Bricheux¹, Richard Bonnet², Ousmane Traoré¹, Christiane Forestier¹

¹UMR CNRS 6023 LMGE, Université Clermont Auvergne, Clermont Ferrand, France

²UMR INSERM 1071 M2iSH, Université Clermont Auvergne, Clermont Ferrand, France

Background:

The emergence of bacterial strains resistant to antibiotics is a major health threat. In view of that situation, and face to the lack of development of new antibiotics, various approaches have been proposed to reduce the emergence and spreading of antibiotic resistances. CRISPR-Cas system can be programmed to specifically target any DNA based on the information provided in the CRISPR array and can be exploited to target bacterial populations that carry antibiotic resistance genes.

Methods and results:

Type II CRISPR-Cas system that cleaves and degrades DNA through the action of the Cas9 endonuclease was used. The Cas9 encoding gene and the sgRNA targeting the carbapenemase encoding genes were expressed from a single vector, the broad host range conjugative plasmid pB10 plasmid (IncP-1 group) isolated from a wastewater treatment plant and used as conjugative plasmid in complex bacterial communities (Bellanger et al., 2014; Krol et al., 2011). Antibiotic resistance genes of this plasmid were initially deleted by allelic exchange without interfering with the mating and replication encoding regions, enabling the deletion of an 18,844 bp region containing genes coding for tetracycline, ampicillin and mercury resistances. This region was replaced by the sgRNA encoding gene created by successive PCRs together with a fluorescent protein (GFP) encoding gene. The sgRNA have been designed by comparing the available carbapenemase-encoding genes to find representative sequences of the different groups of carbapenemases; OXA-48, NDM and KPC-type carbapenemases. In parallel, the Cas9 encoding gene with its own promoter (5,673 bp) has been inserted in region 2 of pB10 by replacing a 4,537 bp-region harboring a potential integrase element (intI1 and resistance cassettes (*oxa-2*, *qacE*, *sul*)). Mating assays were performed after each step to check that the replacements had occurred on all copies of the plasmid (5-7 copies / cell) and that this slight version of the plasmid (48 kb) is still able to conjugate at the same rate.

Conclusion:

The resulting plasmid combines mating property and CRISPR-Cas delivery system targeting specific antibiotic resistance genes. It is the first step of an innovative strategy that could be used to treat microbial communities enriched in antibiotic resistant bacteria.

Mots clés : Antibiotic resistance - CRISPR-Cas - carbapenemases - conjugative plasmid.

Effet des huiles essentielles du pistachier de l'Atlas « *Pistacia atlantica Desf.* » sur *Staphylococcus aureus*, agent causal de nombreuses affections buccales

Hazim Harouak (hazim.harouak@gmail.com), El Houssine Bouiamrine, Jamal Ibijbijen, Laila Nassiri

Faculté des Sciences Meknès, Meknès, Maroc

Introduction et objectifs :

Le pistachier de l'Atlas « *Pistacia atlantica Desf.* », arbre de la famille des Anacardiacees très répandu au Maroc, est largement présent dans la pharmacopée traditionnelle, notamment, contre les affections bucco-dentaires dont l'un des agents responsables est *Staphylococcus aureus*. Or, cette bactérie pathogène, quoique sensible à plusieurs types d'antibiotiques, connaît l'émergence de souches de plus en plus résistantes. Aussi, en guise d'alternative biologique, une investigation est faite sur les huiles essentielles du pistachier de l'Atlas, et le pouvoir antibactérien est évalué pour des feuilles saines de la plante et des feuilles à galles résultant de l'infection par des pucerons, tel, *Forda riccoboni*.

Matériels et méthodes :

Après prospection sur le terrain et récolté du matériel végétal, les huiles essentielles « HE » obtenues par hydrodistillation ont été soumises à des tests phytochimiques de révélation des principales familles et principes actifs ; la méthode de l'aromatogramme basée sur les mesures des diamètres d'inhibition, appuyée par le calcul des concentrations minimales inhibitrices « CMI » et bactéricides « CMB » ont été utilisés pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne envers *Staphylococcus aureus*.

Résultats, discussion et conclusion :

L'étude phyto-chimique a révélé la présence de composés chimiques biologiquement actifs tels que les tanins, les flavonoïdes, les stérols et les triterpènes ; les feuilles à galles, comparées à celles saines, sont plus riches en tanins, en particulier les tannins galliques. Parallèlement, l'huile essentielle extraite des feuilles infectées par *Forda riccoboni* a un effet antibactérien légèrement supérieur à celui des feuilles saines, les diamètres d'inhibition étant respectivement de 18 ± 2 mm et 16 ± 1 mm. Par ailleurs, avec des valeurs respectives de 16 mg/ml et 10 mg/ml pour la CMB et la CMI, l'HE des feuilles à galles jouit d'un pouvoir antibactérien bactéricide ; par contre, l'HE des feuilles saines a un effet antibactérien bactériostatique, vu que la CMB est de 5 mg/ml et la CMI est égale à 1.25 mg/ml.

Mots clés : *Pistacia atlantica Desf.* - *Staphylococcus aureus* - feuilles galles et saines - Phytochimie et Huiles essentielles - Activité antimicrobienne.

Increased Demethylmenaquinone-Dependent Reactive Oxygen Species Formation by β -Lactams in *Enterococcus faecalis*

Loic Léger (loic.leger@outlook.fr), Aurélie Budin-Verneuil, Abdellah Benachour, Nicolas Verneuil, Axel Hartke

UFR Sciences, Université de Caen Normandie, Caen, France

Introduction et objectifs :

Whereas the primary actions of β -lactam antibiotics are well characterized, the downstream effects of these drugs are less well understood. Although their targets are extracellular, it has been proposed that β -lactams in *Escherichia coli* increase respiration leading to an increased intracellular accumulation of reactive oxygen species (ROS). The model was later challenged by other studies demonstrating that killing was independent from oxidative stress. These controversial viewpoints reflect that our mechanistic understanding of the action of bactericidal antibiotics on bacteria remains incomplete.

E. faecalis is known to actively produce extracellular superoxide (O_2^-) even in the intestinal tract eliciting chromosomal instability, inflammation and colorectal cancer (CRC). The objective of the present work was to analyze if β -lactam antibiotics increase ROS formation in *E. faecalis* cells using drug concentrations potentially encountered by these pathogens during antimicrobial treatment.

Matériels et méthodes :

Wild type cells of *E. faecalis* strain JH2-2 and isogenic mutants (soda, peroxidases, menB and recA mutants) were exposed to amoxicillin or cefotaxime and production of ROS were determined under fermentative and respiring conditions.

Résultats :

We will show that β -lactams over a large concentration range trigger a strong increase in ROS production in *E. faecalis* under aerobic but not under anaerobic conditions. Interestingly, both amoxicillin for which the bacterium is susceptible and cefotaxime for which it is resistant triggered this response. This stimulation of ROS formation depends mainly on demethylmenaquinone (DMK), a component of its respiratory chain but in contrast to *E. coli*, is observed only in the absence of respiration.

Discussion et conclusion :

β -lactam antibiotics, beside of inhibiting their extracellular targets, have clearly off-target intracellular effects in *E. faecalis*. They seem to modify metabolism leading to an increased production of ROS mainly via DMK autooxidation. Mechanisms by which β -lactams elicit these metabolic alterations are still poorly understood on the molecular level and their understanding might allow the development of new drugs devoid of these undesired downstream effects. Furthermore, the possibility that the antibiotic-stimulated ROS production might be linked to the higher incidence of colorectal cancers in patients frequently treated with β -lactams will be discussed.

Mots clés : *E. faecalis* - β -lactams - off-target effects - ROS production.

Structural insights into class C and D beta-lactamases

Bogdan Iorga¹ (bogdan.iorga@cnr.fr), Agustin Zavala^{1,2}, Thierry Naas²

¹ CNRS-ICSN, Gif-sur-Yvette, France

² CHU Bicêtre, Université Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France

Antimicrobial resistance became nowadays a serious threat to public health worldwide. Beta-lactams are the most used antibiotics, and beta-lactamases the most widespread resistance mechanism. A representative example is the class A KPC-2 that in a few years became one of the most menacing beta-lactamase currently spreading worldwide [1]. The structural study of beta-lactamases provides insights into their catalytic mechanism and active site architecture, which in turn is important for understanding the structure-function relationships. Here, we describe the structural features and molecular modeling studies for several class A, C and D beta-lactamases that may offer possible explanations for the uncommon hydrolytic profiles determined experimentally.

The crystallographic structures and sequences gathered from our Beta-Lactamase DataBase (BLDB) [2], combined with covalent docking and molecular dynamics simulations, showed that in most cases the changes in hydrolytic profiles induced by mutations are due to structural modifications in the shape and flexibility of binding site, but also by rearrangements in the water hydrogen bond network and subtle changes in the position of the active water molecule [3-5].

The structures of beta-lactamases were determined by X-ray crystallography or built by comparative modeling with MODELLER using the closest available structure as template. Covalent docking and molecular dynamics simulations were performed using GOLD and GROMACS, respectively, in order to explain the differences in hydrolysis profile. The position of stabilized water molecules in the active site was determined using HOP.

Our study provides a better understanding of structural features that influence the hydrolytic profiles of beta-lactamases and constitutes an important asset for the design of efficient beta-lactamase inhibitors.

Mots clés : X-ray crystallography - beta-lactamases - structure-function relationship - molecular modeling - drug design.

Références :

1. Naas T, Dortet L, Iorga BI. Structural and functional aspects of class A carbapenemases. *Curr Drug Targets*. 2016;17(9):1006-28.
2. Naas T, Oueslati S, Bonnin RA, Dabos ML, Zavala A, Dortet L, et al. Beta-Lactamase DataBase (BLDB) – Structure and function. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2017;32(1):917-9.
3. Zavala A, Retailleau P, Elisee E, Iorga BI, Naas T. Genetic, biochemical and structural characterization of CMY-136 beta-lactamase, a peculiar CMY-2 variant. *ACS Infect Dis*. 2019;5(4):528-38.
4. Dabos L, Jousset AB, Bonnin RA, Fortineau N, Zavala A, Retailleau P, et al. Genetic and biochemical characterization of OXA-535, a distantly-related OXA-48-like β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(10):e01198-18.
5. Oueslati S, Iorga BI, Tlili L, Exilie C, Zavala A, Dortet L, et al. Unravelling ceftazidime/avibactam resistance of KPC-28, a KPC-2 variant lacking carbapenemase activity. *J Antimicrob Chemother*. 2019; in press (10.1093/jac/dkz209).

Use of quaternary ammonium compounds-microencapsules to fight against pathogenic biofilms

Simon Khelissa¹ (simon.khelissa@inra.fr), Nour-Eddine Chihib¹, Adem Gharsallaoui², Charafeddine Jama³

¹UMET- INRA-PIHM, Villeneuve d'Ascq, France

²Laboratoire BioDyMIA, Univ Lyon 1, ISARA Lyon, Bourg-en-Bresse, France

³UMET-PSI, Villeneuve d'Ascq, France

Introduction and objectives:

The developed microcapsules act as carriers of benzalkonium chloride (BAC) and dodecyltrimethylammonium chloride (DTAC) which are widely used disinfectants in hospital and food sectors. The goal of this study was to set up stable microcapsules to carry then deliver these biocides to biofilm deep layers of

Material and methods:

BAC and DTAC microcapsules were prepared then spray-dried by atomization. Microcapsules were prepared with two different emulsifier compositions: monolayer microcapsules (ML) stabilized with the sodium caseinate alone and bilayer microcapsules (LBL) stabilized with a mixture of sodium caseinate and pectin. The minimum inhibitory concentration (MIC) of free and micro-capsulated BAC/DTAC was investigated on food pathogens such as *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*.

Antibacterial assays of our developed capsules were performed against biofilm formed by bacterial strains cited above and compared to BAC used under its free form.

Results, discussion and conclusion:

MICs were significantly lower for encapsulated than for free BAC or DTAC. In addition, the disinfection efficacy of our formulated microcapsules was studied on 24h aged-biofilms formed at 30°C. Our results showed that the microencapsulation of both studied QACs used at their MICs reduced biofilm biomass by up to 3 log. Free BAC and DTAC used at MICs had weaker antibiofilm effects when compared to microcapsules. The presence of two layers surrounding the QAC, in case of LBL, may have resulted in a progressive and controlled release of the encapsulated molecule. Furthermore, less QACs quantities are required to observe greater antibiofilm when micro-capsulated. Several foodborne pathogens have developed intrinsic and acquired QACs resistance reducing the efficacy of these disinfectants. QACs are considered to have poor biodegradability, meaning that their excessive use is of major concern for the environment. To tackle these problems, the targeted disinfecting strategy was proposed in our work that unites efficient antibiofilm reduction with low QAC consumption. Therefore, our formulated QACs microcapsules seem to be a good strategy to apply in concerned sectors even when used at MICs. The application of such a QACs microcapsule-based delivery system can improve the surface disinfection procedures and reduce the generated chemical wastes.

Mots clés : Biofilm - benzalkonium chloride - dodecyltrimethylammonium chloride - anti-bacterial activity - micro-encapsulation.

Etude des propriétés bactéricides des feuilles de *Spondias mombin* L. consommées sous forme d'infusion en Côte d'Ivoire

Irène Ahou Kouadio¹ (irenekouadio@yahoo.fr), Paulin Amin Yapi¹, Moussa Sanogo²

¹UFR Biosciences, Université Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Microbiologie, Laboratoire Central vétérinaire de Bing., Abidjan, Côte d'Ivoire

Introduction et objectifs :

Spondias mombin L. est une plante dont les feuilles sont utilisées sur le plan culinaire mais également dans le traitement des troubles gastro-intestinaux comme la dysenterie et surtout la diarrhée [1]. La diarrhée souvent provoquée par la consommation d'aliments contaminés par des bactéries pathogènes constitue l'une des principales causes de mortalité et de morbidité infantiles dans les pays en développement dont la Côte d'Ivoire [2]. Ainsi, cette étude a été réalisée afin d'évaluer les propriétés bactéricides de la fraction antimicrobienne de l'extrait des feuilles de cette plante pour une contribution à la recherche d'antibiotique naturel accessible.

Matériels et méthodes :

Dans cette étude, les feuilles de *Spondias mombin* L. ainsi que cinq souches bactériennes à savoir, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella enterotica* ATCC42 et *Klebsiella pneumonia* ATCC01 ont été utilisées comme matériels biologiques.

Après extraction et purification par la méthode à l'éthyle acétate, la fraction antibactérienne obtenue de concentration 0.15 g / mL a été évaluée pour son effet bactéricide sur ces différentes souches bactériennes par la méthode au réactif de l'Alamar Blue [3]. La fraction antibactérienne a été ajoutée à différents volumes dans une série de bouillons Müller Hinton pour obtenir des bouillons à des teneurs en extrait antibactérien allant de 0,5% à 3%. Ces bouillons ont étéensemencés avec chaque suspension bactérienne dont la densité optique était de 0,6. Après chaque durée de 24 heures d'incubation, le réactif de l'Alamar Blue a été ajouté aux différentes cultures et les densités optiques ont été déterminées.

Résultats, discussion et conclusion :

Le pourcentage de cellules bactériennes survivantes était de 7% pour les souches de *Klebsiella pneumonia* et de *Salmonella enterotica* à la teneur de 2% de l'extrait antibactérien dans le milieu de culture après 48 heures d'incubation. A cette même teneur en extrait antibactérien, le pourcentage de cellules survivantes des souches de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli* était de 3%. Cet extrait possède ainsi des propriétés bactéricides très prometteuses surtout pour des populations souvent démunies. Nous comptons dans des études ultérieures, identifier les molécules à activité bactéricide contenues dans cet extrait purifié.

Mots clés : Spondias mombin - Feuilles - Extrait - Bactéricide.

Références :

1. Ayoka A.O, Akomolafe R.O, Akinsomisoye O.S & Ukponmwan O.E. Medicinal and Economic Value of *Spondias mombin*. Afr. J. Biomed. Res, 2008 ; Vol. 11, 129 – 136.
2. Birger CF, Max GP, Goran T, Peter A Prise en charge des cas de diarrhées dans les pays à revenus faibles ou moyens : les objectifs ne sont pas encore atteints. Bull OMS, 2006; 85: 1–84
3. Irene Ahou Kouadio, Mi-Kyung Lee¹, Kap-HoonHan, Jae-Hyuk Yu. Effect of Solanum indicum L. Green Berries Extract on Proliferation and Survival of *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus flavus*, and *Aspergillus fumigatus*. American Journal of Food Science and Technology, 2013, Vol. 1, No. 3, 50-59

Etiologic profile and sensitivity pattern of germs responsible for urinary tract infection among underfive in Douala, Cameroon: a hospital-based study

Dorgelsse Francine Antoinette Kouemo Motse¹ (kouemofrancine@yahoo.fr), Dieudonné Désiré Adiogo²

¹Bactériologie et virologie, université de Buea/Hôpital gynéco-obstét, Douala, Cameroun

²Université de Douala, Douala, Cameroun

Background:

Urinary tract infection (UTI) represents one of the commonest diseases encountered within medical practice in community. With the growing problem of drug resistance, knowledge of antibiotic susceptibility pattern, which is little known in our setting, is pertinent for UTI-related successful management. In addition, data that seek to address this topic is scarce and disseminated especially in Cameroon. This study aimed to analyse prevalence and antibiotic susceptibility of bacteria causing UTI in children less than five years.

Methods:

A cross-sectional study was carried out from May 2013 to April 2014 at the Bonassama District Hospital, Douala (Cameroon). Sociodemographic and clinical information from 400 children was documented meanwhile urine samples were collected for bacteriological examination. Positive samples to uropathogens were analysed in depth for identification of bacteria and antibiotic sensitivity testing by the disc diffusion technique.

Results:

Urinary tract infection-related prevalence of 32.25% (129/400) was found in the study. Girls were more infected than boys (57.4% versus 42.6, p-value = 0.0079). *Escherichia coli* was the main isolated bacterium (41.08%) followed by *Enterobacter cloacae* (18.6%), *Klebsiella pneumoniae* (8.5%) and *Staphylococcus aureus* (6.9%). Resistance rates of isolates of *E coli* were higher for penicillin and second- and first-generation cephalosporins. This pattern was similar for *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae*.

Conclusion: Urinary Tract Infection (UTI) is still a major public health problem in Cameroon. The high prevalence of UTI as well as microbial resistance, found in this study, justifies the requirement of UTI treatment in order to improve its management. It will be helpful to use Aminocyclitolides (for enterobacteria) and Macrolids (for *Staphylococcus*).

Mots clés : Uropathogens - children - prevalence - antibiotic resistance - Cameroon.

Predictors of urinary tract infection and their diagnostic performances among underfive admitted at the Bonassama District hospital in the town Douala, Cameroon

Dorgelesse Francine Antoinette Kouemo Motse¹ (kouemofrancine@yahoo.fr), Désiré Dieudonné Adiogo²

¹Bactériologie et virologie, université de Buea/Hôpital gyneco obstet, Douala, Cameroun

²Vice Doyen chargé de la recherche, Université de Douala, Douala, Cameroun

Background:

Urinary tract infections (UTIs) in child is a serious public health problem especially in developing countries. This aimed at identifying factors associated with urinary tract infection and determining their diagnosis performances as well as resulting algorithms among underfive living in the town of Douala, Cameroon.

Material and methods:

This cross-sectional study took place from May 2013 to March 2014 among children admitted at the Bonassama District hospital. Sociodemographic, anthropometric, clinic and biological information were documented from each child upon obtaining their parents/guardians' consent.

Results:

The prevalence of UTI was 32.2% which was mainly caused by *Escherichia coli* (41.1%). A total of four risk factors for UTI were found after adjustment for all pertinent characteristics of children. These included female gender (ARR= 0.55; P = 0.0046), presence of fever (ARR = 1.83; P = 0.0426), trouble urine (ARR = 1.36; P = 0.0063) and presence of nitrites in urine (ARR = 1.09; 95%CI 1.01-1.10; P = 0.0001). Presence of nitrites was the most discriminant parameter based on specificity (98.1%), positive predictive value (95.4%) and negative predictive value (90.1%). The presence of at least one of the four predictors had better diagnosis performances than other defined algorithms. The diagnosis performances have gradually improved with the increasing number of parameters.

Conclusion:

This study reported four factors associated with increased risk for UTI. This also outlined that the presence of nitrites in urine had best diagnosis performances and different predictors-based clinical algorithms could be helpful especially in the identification of UTI-negative children.

Mots clés : Underfive - urinary tract infection, - predictors, predictive - predictive potential - Cameroon.

Etude du profil bactériologique des poches de sang transfusé au CHU et à l'Hôpital Central de Yaoundé/Cameroun

Guy Duplex Kuate Fokam¹ (guypso2002@yahoo.fr), Hortense Gonsu Kamga², Claude Tayou Tagny³, Simplicite Mole⁴

¹Microbiologie et Parasitologie Médicales, Université de Buéa / Faculté de Médecine, Yaoundé, Cameroun

²Laboratoire de Bactériologie, Université de Yaoundé I / CHUY, Yaoundé, Cameroun

³Hématologie et Banque de Sang, Université de Yaoundé I / CHUY, Yaoundé, Cameroun

⁴Banque de Sang, Hôpital Central de Yaoundé, Yaoundé, Cameroun

Introduction et objectifs :

Dans le but de contribuer à l'amélioration du processus transfusionnel dans nos structures de santé, nous avons évalué le profil bactériologique des poches de sang délivrées au CHUY et à l'HCY.

Méthodologie :

Au cours de cette étude, transversale et prospective, nous avons déterminé la prévalence des poches de sang contaminées et les bactéries isolées ont été testées aux antibiotiques usuels. Elle s'est déroulée dans les laboratoires des banques de sang et de bactériologie pendant la période courant de juillet à décembre 2013. Nous avons collecté au hasard 200 poches de sang stockées, prêtes à être transfusées qui provenaient des donneurs bénévoles, familiaux et/ou rémunérés.

Résultats :

Au total 150 poches de sang ont été collectées au CHUY tandis que 50 poches étaient collectées à l'HCY. Au terme de notre analyse, nous avons enregistré 10 poches de sang contaminés soit une prévalence de 5%. 4,67% de ces poches contaminées provenaient du CHUY alors que 6% provenaient de l'HCY. La durée de conservation des poches variait de 4 à 27 jours. Les bactéries isolées étaient les cocci à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* et autre S.C.N) et les bacilles à Gram négatif (*Pasteurella pneumotropica* et *Klebsiella oxytoca*). Les germes ont été testés aux antibiotiques selon les recommandations du CA-SFM 2013. La plupart des isolats présentaient une grande sensibilité vis-à-vis des différents antibiotiques. Néanmoins quelques cas de résistance ont été observés vis-à-vis de la ticarcilline, la tobramicine et le cotrimoxazole pour ce qui est de *Pasteurella* d'une part, l'amoxicilline, l'aztréonam, et la fosfomycine pour ce qui est de *Klebsiella* d'autre part et enfin la tobramicine, l'érythromicine pour ce qui est des souches de staphylocoque.

Conclusion :

Au terme de cette étude nous envisageons étendre la recherche sur le plan national avec pour but d'identifier les sources de contamination afin de contribuer efficacement à l'amélioration du processus transfusionnel au Cameroun.

Mots clés : Bactérie - poches de sang - contamination - antibiotiques.

Determination of the required origin-of-transfer sequence for DNA transfer of a MOB_T relaxase mediating the transfer of Integrative and Conjugative Elements in Firmicutes

Haifa Laroussi (haifa.laroussi@univ-lorraine.fr), Emilie Robert, Sophie Payot, Nicolas Soler, Nathalie Leblond-Bourget

UMR1128 DynAMic, Université de Lorraine, INRA, Nancy, France

Introduction and objectives:

Integrated and Conjugative Elements (ICEs) are major players allowing horizontal gene transfer, especially mediating the spread of antibiotic resistance and virulence genes. Our analysis of 124 completely sequenced streptococcal genomes showed the high prevalence of ICEs belonging to the ICES_{t3}/Tn916 superfamily (Ambroset *et al*, 2016). The initiation of conjugative transfer is performed by relaxases, proteins encoded by ICEs that nick the DNA substrate at the origin-of-transfer (*oriT*). ICES_{t3}/Tn916 superfamily encode relaxases belonging to a unique family called MOB_T, a family related to rolling circle replication initiators of the Rep-trans family (Carr *et al*, 2016, Soler *et al*, 2019). Whereas the nick site of the *oriT* is conserved with the Rep-trans proteins, the DNA binding site recognized by these MOB_T relaxases is still unknown. Our model is RelSt3, the MOB_T relaxase encoded by ICES_{t3} from *Streptococcus thermophilus*. The aim of this study is to determine the sequence required for DNA transfer and the minimum sequence recognized by RelSt3 within the *oriT* region.

Materials and methods:

The *in trans* mobilization of a plasmid harboring different fragments of the ICES_{t3} *oriT* sequence was used in conjugation experiments. The binding sequence of *oriT* DNA was studied by electrophoretic mobility shift experiments (EMSA), using both double-strand and single-strand DNAs.

Results, discussion and conclusion:

We determined the minimal sequence of the *oriT* region of ICES_{t3} allowing DNA transfer. It includes the conserved nicking site and a downstream region containing inverted repeats. This region was shown to be specifically bound by the RelSt3 protein *in vitro*. By contrast, a RelSt3 variant depleted of its N-terminal HTH domain is unable to bind this DNA region, demonstrating that the RelSt3-DNA interaction is driven by the RelSt3 HTH domain. As previously shown for Rep-trans proteins, our results show that the binding site of MOB_T proteins is located downstream of the nick site. This work is the first characterization of the DNA binding site for a MOB_T protein, and could lead to the identification of inhibitors of MOB_T-DNA interaction in the future.

Mots clés : Bacterial conjugation - antibiotic resistance spread - Integrative and conjugative elements - protein-DNA interaction.

Références :

1. Ambroset C, Coluzzi C, Guédon G, Devignes M-D, Loux V, Lacroix T, Sophie Payot and Nathalie Leblond-Bourget. 2016. New insights into the classification and integration specificity of *Streptococcus* integrative conjugative elements through extensive genome exploration. *Front Microbiol.* 6:e1483. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01483>.
2. Carr SB, Phillips SEV, Thomas CD. 2016. Structures of replication initiation proteins from staphylococcal antibiotic resistance plasmids reveal protein asymmetry and flexibility are necessary for replication. *Nucleic Acids Res.* 44:2417–28. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1539>
3. Soler, N., Robert, E., Chauvot de Beauchêne, I., Monteiro, P., Libante, V., Maigret, B., Staub, J., Ritchie, D.W., Guédon, G., Payot, S., Devignes, M.-D., and Leblond-Bourget, N. 2019. Characterization of a relaxase belonging to the MOB_T family, a widespread family in Firmicutes mediating the transfer of ICEs. *Mob DNA*, 10:18

The ICE/IME Finder approach and its application to the ICE/IME annotation in *Streptococcus*

Charles Coluzzi¹ (nathalie.leblond@univ-lorraine.fr), Julie Lao^{1,2}, Gérard Guédon¹, Marie-Dominique Devignes³, Chloé Ambroset¹, Thomas Lacroix², Hélène Chiapello², Sophie Payot¹, Nathalie Leblond-Bourget¹

¹*DynAMic, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*

²*MalAGE, INRA, Jouy-en-Josas, France*

³*LORIA, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*

Introduction and objective:

Mobile genetic elements (MGEs) play a key role in bacterial genome evolution by enabling gene acquisition through horizontal gene transfer. Among these elements, Integrative Conjugative Elements (ICEs) and Integrative Mobilizable Elements (IMEs) are integrated in the chromosome of their hosts and transferred by the conjugation machinery.

Transfer and maintenance into the recipient cell are the two biological functions indispensable for ICEs and IMEs. Genes and sequences involved in these functions are physically close on the DNA molecule and organized as functional “modules”. Two characteristics of ICEs/IMEs and related elements can be enlightened: (i) they evolve rapidly mainly through acquisition, loss and exchange of modules and (ii) they are frequently integrated in tandem arrays or can be nested, resulting to fuzzy bounds. Consequently, the detection and accurate annotation of ICE/IME bounds is a difficult task that requires dedicated bioinformatics approaches.

So far, two bioinformatics approaches allow to automatically detect and to annotate ICEs in bacterial genomes [1, 2] but with imprecise bounds. None of them can detect nested or tandem elements. Moreover, none of these methods can accurately detect IMEs. Thus, our aim was to design a new approach for ICE/IME detection and annotation named “ICE/IME Finder” [3, 4].

Results and conclusion:

In this communication, we will present the ICE/IME Finder methods and will demonstrate its efficiency to annotate ICEs and IMEs within streptococcal genomes. Information collected in this work reveals the abundance and huge diversity of ICE, IMEs, nested elements, and tandem arrays of elements within streptococcal genomes. Moreover, the analysis of genes they carry demonstrates that many ICEs and IMEs encode antimicrobial resistance. Therefore, the accurate annotation and delineation of these elements is essential to fully understand the spreading of antibiotic resistance genes.

Mots clés : antibiotic resistance spread - Integrative and conjugative elements - Integrative and mobilizable elements - bacterial conjugation.

Références :

- [1] Cury J, Touchon M, and Rocha E P. 2017. Integrative and conjugative elements and their hosts: composition, distribution and organization. *Nucleic Acids Res.* 45: 8943-8956
- [2] Liu M, Li M, Xie Y, Bi D, Sun J, Li J, Tai C, Deng Z, Ou H Y. 2019. ICEberg 2.0: an updated database of bacterial integrative and conjugative elements. *Nucleic Acids Res.* 47: D660-D665.
- [3] Ambroset C, Coluzzi C, Guédon G, Devignes M-D, Loux V, Lacroix T, Leblond-Bourget N. 2016. New Insights into the Classification and Integration Specificity of *Streptococcus* Integrative Conjugative Elements through Extensive Genome Exploration. *Front Microbiol*, 6: 1483-1504.
- [4] Coluzzi C, Guédon G, Devignes M-D, Ambroset C, Loux V, Lacroix T, Payot S, Leblond-Bourget N. 2017. A Glimpse into the World of Integrative and Mobilizable Elements in *Streptococci* Reveals an Unexpected Diversity and Novel Families of Mobilization Proteins. *Front Microbiol* 8: 443-459.

Etude de la production de biofilm, de la résistance aux antibiotiques et aux biocides chez des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées chez l'homme et l'animal

Marine Pottier^{1,2} (albertine.leon@laboratoire-labeo.fr), François Gravey^{2,3,4}, Sophie Castagnet¹, François Guérin^{3,4}, Antoine Géry², Patrick Plésiat⁵, Albertine Léon^{1,6,7}, Simon Le Hello^{2,4,7}

¹Prévention et stratégies thérapeutiques, LABÉO, Saint Contest, France

²Hygiène hospitalière, CHU de Caen, Caen, France

³Mircobiologie, CHU de Caen, Caen, France

⁴Normandie Univ, UNICAEN, GRAM 2.0, Caen, France

⁵CNR résistance aux antibiotiques, Besançon, France

⁶Normandie Univ, UNICAEN, U2RM, Caen, France

⁷Coordination équivalente

Introduction et objectifs :

La prévalence des souches de *Pseudomonas aeruginosa* (PAO) proches de la toto-résistance aux antibiotiques augmente. De plus, PAO tend également à acquérir des résistances aux ammoniums quaternaires (CDMA) utilisés dans les détergents/désinfectants usuels. Cette problématique est autant retrouvée en médecine vétérinaire qu'humaine. Les objectifs sont ici, sur dix souches de PAO : cinq hospitalières et cinq équines, de déterminer leur niveau de résistance aux antibiotiques et au CDMA, d'étudier leur formation de biofilm et de déterminer les supports génétiques associés.

Matériels et méthodes :

Les profils de résistance à six familles d'antibiotiques et les concentrations minimales inhibitrices (CMI) vis-à-vis du CDMA ont été déterminés par microdilution selon les recommandations du CA-SFM (2018 v1). Le biofilm formé a été caractérisé en « statique » par impédancemétrie couplée à la microscopie 3D et en « dynamique » par microfluidique. Enfin, le séquençage complet des génomes et une approche transcriptomique ont été réalisés pour tenter d'identifier les supports génétiques de la résistance au CDMA.

Résultats, discussion et conclusion :

Les profils de résistances aux antibiotiques sont variés. Les CMI du CDMA les plus élevées (128mg/L) retrouvées pour la moitié des souches (deux cliniques et trois équines) ne sont pas corrélées à un profil type de résistance aux antibiotiques. Le résistome obtenu explique la résistance à toutes les classes antibiotiques retrouvées. Le gène de la carbapénémase de type VIM-2, de support plasmidique, est retrouvé exclusivement parmi les souches cliniques. La pompe RND (Resistance-Nodulation-Division) MexA/B-OprM est surexprimée (> 2 fois) au sein des souches résistantes au CDMA, et plusieurs de ses régulateurs présentent des altérations chromosomiques (substitutions ou délétions dans rocS2 et mexR). Concernant la formation de biofilm, les mesures d'impédancemétrie et en microfluidique ont mis en évidence plusieurs profils de production distincts. Cependant, ces profils semblent ne pas être corrélés aux profils de résistance aux antibiotiques et/ou au CDMA. La résistance aux biocides et antibiotiques s'accumulent chez PAO. Ces molécules très utilisées tant en filière animale qu'en clinique humaine aboutissent à des impasses qui nécessitent une meilleure connaissance des mécanismes de résistance et l'évaluation de l'efficacité d'autres biocides.

Mots clés : *P. aeruginosa* - antibiorésistance - ammonium quaternaire - biofilm - pompe RND.

Evaluation of antimicrobial activity of octenidine and chlorhexidine against multidrug-resistant Gram-negative pathogens, including polymyxin-resistant isolates

Mathilde Lescat¹ (mathilde.lescat@aphp.fr), Patrice Nordmann², Laurent Poirel²

¹Microbiologie clinique, APHP GHHUPSSD, Paris, France

²Microbiologie, Faculté de Médecine, Fribourg, Suisse

Background:

Colistin (COL) is a last-resort antibiotic for treating infections caused by multidrug-resistant (MDR) Gram-negatives. However, a recent study showed that *in-vitro* selective adaptation of *K. pneumoniae* clinical isolates to chlorhexidine (CHG) may select cross-resistance to COL. The objective of our study was to evaluate whether a relation between reduced susceptibility to antiseptic molecules and COL may exist (co-lateral effect).

Methods:

We performed *in-vitro* selection assays of mutants using isolates of *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* and *E. cloacae*, and octenidine (OCT), CHG and COL as selective pressures. MICs of COL, CHG and OCT were compared for the mutants.

Results:

Selection of mutants using CHG as selective molecule allowed to recover strains with high MICs for all three species, with a cross-resistance observed for COL, whereas OCT susceptibility remained the same. Selection of mutants using COL as selective molecule allowed to recover mutants with high MICs of COL for *E. cloacae*, *K. pneumoniae* and *K. oxytoca* showing a moderate decreased susceptibility to CHG, whereas OCT susceptibility remained the same.

Selection of mutants using OCT as selective molecule allowed to recover *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* and *E. cloacae* strains showing only a slight increased MIC of OCT, that did not show any cross-elevated MICs for the two other molecules. No *E. coli* mutant with reduced susceptibility to OCT could be obtained.

Conclusions:

Selected mutants with decreased susceptibility to CHG and COL may occur in *E. coli*, *K. pneumoniae* and *E. cloacae* with cross-decreased susceptibility to COL and CHG but without effect on OCT efficacy. It also showed that selected mutants with very limited decreased susceptibility to OCT could be obtained for *K. pneumoniae* and *E. cloacae* only, but with no cross effect of other molecules. Whole genome sequencing of the mutants is ongoing to decipher the molecular basis of adaptation of these isolates under the respective selective pressures.

Mots clés : antiseptics - enterobacteriaceae - colistine.

***Achromobacter* : étude des mécanismes de résistance aux fluoroquinolones**

Arnaud Magallon (arnaudmagallon29@gmail.com), Julien Bador, Jennifer Tetu, Anne-Charlotte Cheiakh, Catherine Neuwirth, Lucie Amoureux

Microbiologie, CHU Dijon, Dijon, France

Introduction et objectifs :

Les bactéries du genre *Achromobacter*, bacilles à Gram négatif (BGN) non fermentaires, sont des pathogènes opportunistes émergents, principalement dans la mucoviscidose. Elles sont fréquemment résistantes (60 à 80%) aux fluoroquinolones (FQ), antibiotiques couramment utilisés, mais les mécanismes à ce jour sont inconnus. Chez les BGN le mécanisme le plus fréquent est la modification de cible : substitution(s) dans les « Quinolone resistance determining region » (QRDR), régions particulières des protéines Topoisomérases II et IV, codées par les gènes *gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE*. L'objectif de ce travail était donc l'étude des mécanismes de résistance acquise aux FQ par modification de cible chez *Achromobacter* spp.

Matériels et méthodes :

Après repérage dans le génome par homologie avec *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, les QRDR présumées des gènes *gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE* ont été séquencées chez 62 souches cliniques et 2 souches de référence. Par ailleurs, des mutants résistants ont été sélectionnés *in vitro* après exposition aux FQ, et les QRDR de 45 d'entre eux ont été étudiées.

Résultats, discussion et conclusion :

Parmi les souches cliniques, nous avons identifié dans les QRDR sept substitutions uniques associées à la résistance aux FQ: Q83L, S84P, D87N et D87G pour GyrA, Q480P pour GyrB, T395A et K525Q pour ParE. Les substitutions dans GyrA et GyrB ont été retrouvées à des positions déjà décrites comme impliquées dans la résistance chez *E. coli* ou *P. aeruginosa*.

Il est intéressant de noter que des substitutions ont uniquement été retrouvées chez des souches présentant une CMI de la ciprofloxacine ≥ 32 mg/l et seulement chez 9 des 22 souches présentant ce haut niveau de résistance. De plus aucune substitution n'a été retrouvée chez les mutants sélectionnés *in vitro*. L'ensemble de ces résultats suggère que la modification de cible est un mécanisme peu fréquent chez *Achromobacter*, contrairement à ce qui est décrit chez la plupart des BGN.

D'autres mécanismes, comme les efflux, largement répandus chez *Achromobacter*, sont probablement impliqués, notamment dans les résistances à bas niveau. Les mécanismes de résistance acquise aux FQ chez *Achromobacter* sont donc multiples, et probablement associés.

Mots clés : *Achromobacter* - Fluoroquinolones - Résistance - QRDR.

Unravelling ceftazidime-avibactam resistance of KPC-28, a KPC-2 variant lacking carbapenemase activity

Thierry Naas¹ (thierry.naas@aphp.fr), Saoussen Ouesalti¹, Bogdan Iorga², Linda Tlili¹, Cynthia Exilie¹, Agustin Zavala², Laurent Dortet¹, Agnes Jousset¹, Sandrine Bernabeu¹, Rémy Bonnin¹

¹EA7361, UPSud, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

²CNRS-ICSN, Gif-sur-Yvette, France

KPC-like carbapenemases have spread worldwide with more than thirty variants identified and differing by single or double amino-acid substitutions. Ceftazidime-avibactam (CAZ-AVI) has become the treatment of choice for infections with KPC-producers. However, CAZ-AVI resistance emerged *in vivo* usually following prolonged periods of treatment for (> 2 weeks). The D179 modification is always reported in case of *in vivo* selection of CAZ-AVI resistant KPC-producing isolates. Here, we describe the steady-state kinetic parameters of KPC-28, that differs from KPC-2 by a H274Y substitution and a two amino-acids deletion (Δ 242-GT-243) and that confers CAZ-AVI resistance.

The *bla*KPC-2, *bla*KPC-3, *bla*KPC-14 and *bla*KPC-28 genes were cloned into pTOPO vector for susceptibility testing or into pET41b for over-expression, purification and subsequent kinetic parameters (K_m , k_{cat}) determination. Molecular docking experiments were performed to explore the role of the amino-acid changes in the carbapenemase activity and in the CAZ/AVI resistance phenotype.

Susceptibility testing revealed that *E. coli* producing KPC-28 displayed MICs that were lower for carbapenems and higher for ceftazidime and ceftazidime/avibactam as compared to KPC-2. The catalytic efficiencies of KPC-28 and KPC-14 for imipenem were 700-fold and 200-fold lower, respectively, than those of KPC-2, suggesting that the Δ 242-GT-243 in KPC-28 and KPC-14 is responsible for reduced carbapenem hydrolysis. Similarly, the H274Y substitution resulted in a 50-fold increase in ceftazidime hydrolysis that was strongly reversed by clavulanate.

This study underlines that KPC-type β -lactamases are more complex and diverse than expected, a scenario well known for OXA-48-like enzymes. Here, we have shown that KPC-28 is lacking carbapenemase activity, has increased ceftazidime hydrolytic activity, and is strongly inhibited by clavulanate. KPC-28-producing *E. coli* isolates display an avibactam-resistant ESBL profile, that may be wrongly identified by molecular and immunochromatographic assays as a carbapenemase. Accordingly, confirmation of carbapenem hydrolysis will be mandatory with assays based solely on *bla*KPC gene or gene product detection.

Mots clés : Avibactam - resistance - KPC.

Chemical composition and antibacterial activity of *Lavandula pedunculata* (Miller) Cav. subsp. *atlantica* (Br.-Bl.) Romo

Mariame Najem (mariamnajem@gmail.com), Lamia Bachiri, Rajae Belaidi, El Houssine Bouiamrine, Jamal Ibijbijen, Laila Nassiri

Equipe MicSolEnv, Faculté des Sciences, UMI, Meknès, Maroc

Introduction and objectives :

The eminent efficacy of antibiotics has motivated their massive and repeated application, leading to a worrying phenomenon of antimicrobial resistance; so, some bacterial strains became multiresistant, others toto-resistant. Thus, the discovery of new antibacterial agents based on natural compounds is essential.

Faced with this scourge, the objective of this study is to evaluate the antibacterial activity of the essential oil from Moroccan endemic species *Lavandula pedunculata* (Miller) Cav. subsp. *atlantica* (Br.-Bl.) Romo against three bacterial strains, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*.

Materials and methods:

Analysis of the chemical composition of essential oil was performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC / MS). The antibacterial activity is manifested by the appearance of an inhibition halo of the bacterial growth, around the disks impregnated with the essential oil. The result of this activity is expressed by the diameter of the inhibition zone (mm).

Results, discussion and conclusion:

The lavender essential oil showed a very interesting antibacterial potential, depending on the target bacteria and the volume used. The diameter of the inhibition has reached 16.00 ± 0.1 mm, 14.10 ± 0.27 mm and 12.03 ± 0.06 mm respectively with *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. This effect should be due to the chemical composition rich in Camphor (47.62%), Cubenol (14.75%) and Fenchone (13.39%).

Thus, the essential oil of *Lavandula pedunculata* (Miller) Cav. subsp. *atlantica* is a very promising source of natural compounds for the new antibacterial drugs production.

Mots clés : Antimicrobial resistance - essential oil - *Lavandula pedunculata* subsp. *atlantica* - antibacterial activity - Morocco.

Pseudomonas Colistin Resistance Encoded by the mcr-1 Gene in Brazzaville, Congo

Esther Nina Ontsira Ngoyi (esther_muller2003@yahoo.fr), Gabriel Ahombo, Tarcisse Baloki, Rachel Moyen, Christ Aimé Kayath

¹ *Université Marien NGOUABI de Brazzaville, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

In order to demonstrate the transmission of resistance genes between clinical and community pseudomonas, 61 strains of pseudomonas including 47 (77.04%) community pseudomonas and 14 (22.96%) clinical pseudomonas were tested with antibiotics by the method of diffusion of the antibiotic discs in solid medium on Mueller Hinton medium. Thirty four strains of DNA comprising 20 (58.82%) community strains and 14 (41.18%) clinical strains exhibiting colistin resistance were extracted; then, the mcr-1 resistance gene was detected by PCR. The antibiotic sensitivity test showed that tobramycin and ciprofloxacin were more active in community and clinical pseudomonas. The difference was significant with one $p < 0.05$ for five antibiotics between community and clinical pseudomonas. PCRs of the mcr-1 gene are positive for 8 (40%) community pseudomonas strains and 5 (35.71%) clinical pseudomonas strains. The amplified mcr-1 gene fragments were different in size in clinical pseudomonas. Keywords: Resistance; Pseudomonas; Colistin; Mcr-1. $p < 0.05$ for the antibiotics between community and clinical Pseudomonas PCRs of the mrc-1 gene are positive for 8 (40%) community pseudomonas strain and 5 (35.71%) clinical Pseudomonas strains. The amplified mrc-1 gene fragments were different in size in clinical Pseudomonas

Mots clés : Resistance - Pseudomonas - colistine - Mcr-1.

Beta-lactamases, types TEM, CTX-M, SHV and OXA-48 in Escherichia coli, from Brazzaville, Congo

Esther Nina Ontsira Ngoyi (esther_muller2003@yahoo.fr), Landry Mpelle, Christian Aimé Kayath, Rachel Moyen, Etienne Nguimbi

Université Marien NGOUABI de Brazzaville, Brazzaville, Congo-Brazzaville

The objective of this study was to evaluate the emergence of beta-lactam resistance related to extended spectrum beta-lactamase (ESBL) encoding genes (TEM, SHV, CTX-M-1 and OXA-48) in Escherichia coli from Brazzaville. In the period between January 2016 and May 2017, 89 strains in E. coli were isolated from hospitalized patients, outpatients and domestic sewage. The E. coli strains were identified by the API 20E system. An antibiogram was performed on isolated strains by the disk diffusion method. The ESBL phenotype was detected using the synergistic technique according to CA-SFM (ESBL). Genes were detected using PCR and characterized by sequencing. An overall prevalence of 48.31 (43/89) and rates of 74.42, 23.26, 9.30, and 6.97% for blaTEM genes blaCTX-M-1, blaSHV and blaOXA-48 were detected. 25.58% were community strains and 74.42% hospital. The majority were isolated urine (81.40%) and the urology department was more represented. Except for imipenem, colistin strains of ESBL showed high resistance to other antibiotics than non-yielding ones ($p < 0.05$). This high prevalence of detected ESBL, the high level of resistance to antibiotics raises fears of a high risk of multidrug resistant bacteria and call on the authorities for a policy of monitoring resistance.

Mots clés : E coli - ESBL - Brazzaville - Congo.

Genomic insights into Carbapenemase-producing *Escherichia coli* isolated in France

Rafael Patino Navarrete¹ (rafael.patino-navarrete@pasteur.fr), Nicolas Cabanel¹, Lauraine Gauthier², Isabelle Rosinski-Chupin¹, Laurent Dortet², Remy A. Bonnin², Thierry Naas², Philippe Glaser¹

¹EERA, Institut Pasteur, Paris, France

²French NRC for Antibiotic Resistance, Le Kremlin Bicêtre, France

Introduction and objectives:

Carbapenems are considered as last resource antibiotics for the treatment of infections caused by Multi-Drug Resistant (MDR) Gram negative bacteria. The emergence and dissemination of Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae (CRE) is becoming one of the most urgent concerns among health authorities. Production of carbapenemases is the much-feared mechanism of resistance to carbapenems [1]. A large increase in the incidence of CP-*Ec* has been detected by the French National Reference Center (Fr-NRC) during the last years. Dissemination of CP-*Ec* clones in the community would be alarming. The main objective of the present study is to characterize the CP-*Ec* population isolated in France, and to shed light on the mechanisms underlying the emergence and dissemination of particular CP-*Ec* clones.

Methods:

A collection of 750 CP-*Ec* received by the Fr-NRC during the 2012-2015 period was Illumina sequenced, and analyzed by means of phylogenetics, and comparative, epidemiologic, and evolutionary genomics.

Results and conclusion:

The majority of the CP-*Ec* strains (66%) were obtained from rectal swaps on patients suspected of carrying CPE. The analysis of these sequences revealed a high diversity among CP-*Ec*, with 164 different Sequence Types (ST). However, the clonal complexes CC38, CC23, and CC10 accounted for 42% of the CP-*Ec* identified in France. OXA-48-like family carbapenemases were identified in 83% of the French CP-*Ec*, the alleles *bla*OXA-48 and *bla*OXA-181 being the first and second most prevalent carbapenemases, found in 491 and 104 isolates respectively. However, while the *bla*OXA-48 allele was widely distributed in different STs, *bla*OXA-181 was mainly found in ST410, ST90, and ST1284. These lineages show specific evolutionary trajectories we have characterized [3].

Our study shows that despite the diversity of CP-*Ec* in France, there are three clonal complexes that accumulate most of the isolates. ST410 and ST38 clones, which have been recently associated with the world-wide spread of CP-*Ec*, are included within these clonal complexes [2-4]. The fact that the majority of the samples came from regular screenings may suggest that some CP-*Ec* clones are already present in the community.

Mots clés : Carbapenemase - *Escherichia coli* - genomics.

Références :

1. Logan LK, Weinstein RA. 2017. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. *J Infect Dis.* 215: S28–36.
2. Roer L, Overballe-Petersen S, Hansen F, Schønning K, Wang M, Røder BL, et al. 2018. *Escherichia coli* Sequence Type 410 Is Causing New International High-Risk Clones. *mSphere.* 3(4): e00337-18.
3. Patiño-Navarrete R, Rosinski-Chupin I, Cabanel N, Gauthier L, Takisian J, Madec JY, et al. 2018. Stepwise evolution and convergent recombination underlie the global dissemination of carbapenemase-producing *Escherichia coli*. *bioRxiv.* 446195.
4. Meunier D, Turton JF, Perry C, Woodford N, Hopkins KL, Doumith M. 2016. Clonal expansion of *Escherichia coli* ST38 carrying a chromosomally integrated OXA-48 carbapenemase gene. *J Med Microbiol.* 65: 538–46.

Structural study of the two-component system response regulator ParR from *Pseudomonas aeruginosa*

Gilles Phan (gilles.phan@parisdescartes.fr), Karim Housseini-b-Issa, Michèle Salem, Marie-Bernard Lascombe, Isabelle Broutin

CNRS UMR 8038, Université Paris Descartes, Paris, France

Pseudomonas aeruginosa is the most problematic pathogens in chronic respiratory infection of cystic fibrosis (CF) patients. The high prevalence of hypermutable strains and the complex regulation of adaptive resistance lead to the use of polymyxins (colistin or polymyxin B) as the last resort treatment of hospital multi-resistant strains. In the last years, polymyxin resistant phenotype has increased in nosocomial and CF strains. Recent studies have revealed that the two-component system (TCS) ParRS efficiently orchestrates polymyxin resistance through three essential mechanisms, such as membrane modification of the lipopolysaccharide (LPS), overexpression of the MexXY efflux pump and repression of the OprD porin.

The TCS is composed of two protein partners: the sensor membrane receptor ParS and the cytosolic response regulator ParR. Upon colistin activation, the sensor ParS relays a phosphate group from ATP to the cognate ParR which regulates in turn the expression of target genes through its DNA-binding domain (DBD). Muller *et al.* (2011) have identified an intriguing gain-of-function mutant M59I of ParR from CF stains.

In order to understand the molecular mechanism of ParR activation, we are studying the structure of wild-type ParR together with the mutant M59I. Our results by SAXS (Small Angle X-ray Scattering) show that both wild-type and mutant are monomeric proteins made of two domains, presumably the receiver (REC) domain and the DBD domain. Besides, isolation of domains allows us to solve the crystal structure of the REC domain that carries the gain-of-function mutation. Structural details of the ParR wild-type, M59I mutant and that of the active form-like D57E mutant shed light on the molecular mechanism of ParR and the role of M59I mutant in the protein activation.

Références :

1. Muller C., Plésiat P., Jeannot K., 2011, Antimicrob. Agents Chemother., 1211-21.
2. Housseini B Issa K., Phan G., Broutin I., 2018, Front. Mol. Biosci., 5:57.

Projet ECHANGENE : Étude des échanges de gènes de résistance aux antibiotiques entre bactéries de différents biotopes

Matthieu Pot¹ (MPOT@pasteur-guadeloupe.fr), Yann Reynaud¹, Gaëlle Gruel¹, Séverine Ferdinand¹, Sébastien Breurec^{1, 2, 3}, Antoine Talarmin¹, Stéphanie Guyomard-Rabenirina¹

¹Institut Pasteur de la Guadeloupe, Abymes, Guadeloupe

²CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe

³Faculté de Médecine Hyacinthe Bastaraud, Université des Antilles, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe

Introduction et objectif :

L'environnement joue un rôle central dans la dissémination des bactéries résistantes *via* les déchets humains et animaux qu'il reçoit. Des échanges peuvent donc *a priori* survenir entre bactéries environnementales, elles-mêmes réservoir de gènes de résistance, et bactéries humaines et animales. Cependant malgré les nombreuses études environnementales portant sur l'antibiorésistance, la dynamique d'échange de gènes et d'éléments génétiques mobiles entre souches humaines, animales et environnementales est encore mal connue.

L'objectif principal de ce projet est d'étudier la dissémination de gènes d'antibiorésistance et leurs supports génétiques et bactériens entre 3 compartiments (homme-environnement-animal) en se focalisant sur le process d'épuration des eaux usées, interface entre les activités humaines et l'environnement.

Matériels et méthodes :

Entre 2018 et 2019, des souches d'entérobactéries (*Enterobacter cloacae* complex, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*) productrices de β LSE (EBLSE) ont été isolées de 266 patients hospitalisés au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Pointe-à-Pitre. En parallèle 9 campagnes de prélèvements des effluents en sortie du CHU et à différents niveau du process d'épuration ont été réalisées. Cent-vingt animaux vivant à proximité de la station d'épuration ont également été prélevés. Les souches d'intérêt ont été caractérisées selon leur profil de résistance aux antibiotiques. Des isolats présentant un antibiotype comparable et issu d'un continuum homme-environnement-animal ont été analysés après séquençage complet du génome.

Résultats, discussion et conclusion :

À partir des 3 compartiments étudiés, 905 souches d'EBLSE ont été isolées (292 souches humaines, 348 des effluents et 265 des animaux). La population animale échantillonnée dans le voisinage de la station présente une forte prévalence de souches résistantes (70%). Le séquençage complet est toujours en cours mais un premier panel de souches d'*E. coli* issues des 3 compartiments a pu être analysé (n=26). L'analyse Core MLST a montré une similarité génétique entre certains isolats issus des animaux et ceux des effluents. La majorité des souches étaient porteuses du gène *bla*_{CTX-M-15} (17/26). Les ST38 et 131 étaient les plus fréquemment retrouvés et parmi les plasmides, le type IncFII étaient prédominants (43%). Les isolats issus des activités humaines semblent étroitement liés à ceux retrouvés chez les animaux directement impactés par ces dernières.

Mots clés : Antibiorésistance - β LSE - entérobactéries - génome - One Health.

Two strategies to load bacterial replicative helicases

Sophie Quevillon-Cheruel¹ (sophie.quevillon-cheruel@i2bc.paris-saclay.fr), Stéphanie Marsin¹, Yazid Adam², Jessica Andreani³, Sonia Baconnais⁴, Pierre Legrand⁵, Ines Li de la Sierra-Gallay¹, Claire Cargemel¹, Hélène Walbott¹, Christophe Possoz², Françoise Ochsenbein³, Dominique Durand¹, Eric Le Cam⁴, Jean-Luc Férat²

¹ CNRS-I2BC, Orsay, France

² CNRS-I2BC, Gif-sur-Yvette, France

³ CEA-I2BC, Gif-sur-Yvette, France

⁴ IGR, CNRS, Villejuif, France

⁵ Synchrotron SOLEIL, Gif-sur-Yvette, France

Bacterial replicative helicases (DnaB) are homo-hexamers that unwind DNA in front of the replication fork, bringing speed and processivity to the DNA synthesis process. At the onset of the bacterial replication, the orderly assembly of the initiation protein (DnaA) at the unique origin of replication of the chromosome results in the unwinding of the DNA, where two helicases are recruited and loaded “tete-beche”. While the recruitment is ensured by DnaA, the loading of the replicative helicases is assisted by designated loaders, essentials, and belonging to two groups. The proteins belonging to the DnaC/I type were the best studied to date. Yet, their distribution is marginal in the bacterial domain. It was established phylogenetically that *dnaC/I* genes are domesticated phage elements that replaced several times through evolution the bacterial and ancestral gene, *dciA*. Although most bacteria specify DciA, the mechanism through which the replicative helicase is managed by DciA during replication initiation remains elusive, which prompted the present study.

We combined functional and structural analysis of the interaction between DnaB and DciA from *V. cholerae*. One position (the so called “module”) of the helicase appears to be diagnostic of each type of mediator. We obtained a crystal structure of a DnaB:DciA complex, which we compared to the DnaB:DnaC complex from *E. coli* (pdb id 6QEL). Except for the module, which is at contact distance in both complexes, the interaction of each mediator with the helicase results in major organization differences of the helicase:mediator complex. Altogether, our results indicate that bacterial replicative helicases are loaded according to two distinct mechanisms, each of which is driven by either of the two mediators. Molecular considerations justifying these two modes of loading will be presented, in light of the strategy adopted by phage mediators to hijack the host helicase. The structure resolution of the two types of complexes at the atomic level now allow us to consider the development of new therapeutic peptides, in order to interrupt the interaction between the helicase and its loader, with the consequence to prevent the bacterial replication.

Mots clés : DciA - replicative helicase - antibacterial peptides - structural biology.

Références :

1. Brezellec P, Vallet-Gely I, Possoz C, Quevillon-Cheruel S, and Ferat J-L (2016) DciA is an ancestral replicative helicase operator essential to bacterial replication initiation. Nature Communications. 7:13271.
2. Arias-Palomo, E., Puri, N., O’Shea Murray, V.L., Yan, Q., and Berger, J.M. (2019). Physical Basis for the Loading of a Bacterial Replicative Helicase onto DNA. Molecular cell.

A novel class of antibiotic with an unprecedented uptake mechanism in Gram negative pathogens

Stephane Renard¹ (stephane.renard@evotec.com), Cédric Couturier², Nelly Dubarry¹, Thierry Vermat¹, Sandra Silve¹, Corinne Geissler¹, Emilie Lessoud¹, Catherine Lapeyrere¹, Anouchka Fievet³, Astrid Rey³, Michael Mourez¹, Eric Bacqué², Lloyd Payne⁴, Laurent Fraise⁵

¹*Bacteriomics, Evotec ID, Marcy-l'Étoile, France*

²*Medicinal Chemistry, Evotec ID, Marcy-l'Étoile, France*

³*Severe Bacterial Infections, Sanofi R&D, Marcy-l'Étoile, France*

⁴*Bacteriomics, Evotec ID, Manchester, United Kingdom*

⁵*Direction, Evotec ID, Marcy-l'Étoile, France*

Severe hospital infections with truly multi drug resistant Gram negative bacteria are few but deadly. The discovery of antibiotics to answer this medical need is indeed challenging because of 2 main bottlenecks : finding novel targets and finding compounds able to penetrate through outer and inner membranes. An innovative way to overcome this penetration bottleneck is to hijack bacterial transporters, with the associated risk that transporter invalidation could be a cause of resistance. We will present a study with a novel antibiotic scaffold demonstrating with genetic invalidations and complementation studies that this molecule hijacks three transporters in *E. coli*, and we will show the consequences of transporter redundancy or preference for a single transporter on the risk of resistance, both in vitro and in infection models. Hijacking transporters is an innovative strategy to develop novel classes of antibiotics.

Mots clés : Antibiotic - Novel Class - Uptake - Permeability Barrier - Resistance.

Investigating bromodomains as a potential new antifungal drug target

Camille Sayou¹ (camille.sayou@univ-grenoble-alpes.fr), Kaiyao Wei^{1,2}, Flore Mietton^{2,3}, Morgane Champleboux³, Murielle Cornet⁴, Charles McKenna⁵, Carlo Petosa², Jérôme Govin¹

¹IAB, Grenoble, France

²IBS, Grenoble, France

³BIG, Grenoble, France

⁴TIMC-IMAG, Grenoble, France

⁵University of Southern California, Los Angeles, États-Unis

Systemic fungal infections are a major cause of mortality in immunocompromised individuals. *Candida* species are responsible for the majority of nosocomial fungal infections. There is increasing resistance to the limited repertoire of antifungal drugs available, which are also expensive and highly toxic. There is therefore an urgent need for novel therapeutic agents.

The laboratory has recently identified a fungal chromatin-interacting module, the bromodomain (BD), as a potential new target for antifungal therapy. We showed that Bdf1 protein, a member of the BET family, is essential in several *Candida* species and that mutations inactivating its two BDs result in a loss of viability *in vitro* and decreased virulence in mice. We reported small-molecule compounds that inhibit Bdf1 from *C. albicans* and *C. glabrata* with high selectivity over human BDs.

However, BET proteins possess two BDs with divergent ligand binding pockets that must both be inhibited in order to achieve a potent antifungal effect, an important obstacle to successfully translate BET inhibitors into antifungal therapeutics.

My project considers alternative BD-proteins with promising potential as antifungal targets. We have identified components of a chromatin remodelling complex, where the functionality of only a single BD is predicted to be essential for yeast viability. I propose to explore the functional role of these proteins, to characterize their mechanism of action and to identify small molecules impairing their function. This project aims to establish proof-of-concept that small-molecule inhibition of these BDs is a valid antifungal therapeutic strategy. This research involves four partner laboratories with combined expertise in fungal genetics/epigenetics, protein biochemistry, structural biology, chemical screening, medicinal chemistry and medical mycology.

This poster overviews the lab research on new antifungal strategy development and presents my recently started postdoctoral project.

Mots clés : *Candida* - antifungal drug targets - bromodomains - chromatin.

Characterization of a relaxase of the MOB_T family, a unique family of relaxases mediating the transfer of numerous Integrative and Conjugative Elements from Firmicutes

Nicolas Soler¹ (nicolas.soler@univ-lorraine.fr), Emilie Robert¹, Isaure Chauvot de Beauchêne², Philippe Monteiro¹, Bernard Maignet², Sophie Payot², Marie-Dominique Devignes², Nathalie Leblond-Bourget¹

¹UMR1128 DynAMic, Université de Lorraine, INRA, Nancy, France

²LORIA, Université de Lorraine, CNRS, Inria, Nancy, France

Introduction and objectives:

Integrated and Conjugative Elements (ICEs) are major players allowing horizontal gene transfer, especially mediating the spread of antibiotic resistance and virulence genes. Our analysis of 124 completely sequenced streptococcal genomes showed the high prevalence of ICEs belonging to the ICES_{t3}/Tn916 superfamily (Ambroset *et al*, 2016). The initiation of conjugative transfer is performed by relaxases, proteins encoded by ICEs that nick the DNA substrate at the origin of transfer (*oriT*), using a divalent cation as cofactor. ICES_{t3}/Tn916 superfamily encode relaxases belonging to a unique family called MOB_T, that is structurally related to Rolling Circle Replication (RCR) initiator proteins of the Rep-trans family (Carr *et al*, 2016). The aim of this study is to understand how relaxases of the MOB_T family function by the identification of their catalytic residues, and those involved in cation coordination. Our model is the MOB_T relaxase encoded by ICES_{t3} from *Streptococcus thermophilus*, RelSt3 (Soler *et al*, 2019).

Materials and methods:

In silico analysis and homology modeling allowed us to identify (i) the conserved motifs for MOB_T relaxases and (ii) putative residues within these motifs, which are supposed to be important for endonuclease activity. RelSt3 mutant proteins were generated accordingly by mutagenesis. Mutants and WT RelSt3 proteins were over-expressed and purified from *E. coli* and their relaxase activity was tested.

Results, discussion and conclusion:

Six conserved motifs were identified, five of which are also conserved with the Rep-trans proteins. The purified RelSt3 protein was shown to be dimeric and to harbor the expected cation-dependent single-stranded endonuclease activity. The analysis of the activity of the variant proteins indicated that (i) the conserved tyrosine is indeed essential for relaxase activity, and (ii) the 3 acidic residues homologous to the active site of the Rep-trans proteins known to coordinate a cation are also essential for relaxase activity of RelSt3. These data confirmed the evolutionary relationships between MOB_T and Rep-trans proteins, harboring an active site distinct from the one of the canonical relaxase families, which instead use a 'HxH' motif for cation coordination (Chandler *et al*, 2013).

Mots clés : Bacterial conjugation - antibiotic resistance spread - Integrative and conjugative elements - Tn916 - MOB_T relaxases.

Références :

- Ambroset C, Coluzzi C, Guédon G, Devignes M-D, Loux V, Lacroix T, Payot S and Leblond-Bourget N. 2016. New insights into the classification and integration specificity of *Streptococcus* integrative conjugative elements through extensive genome exploration. *Front Microbiol.* 6:e1483. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01483>
- Carr SB, Phillips SEV, Thomas CD. 2016. Structures of replication initiation proteins from staphylococcal antibiotic resistance plasmids reveal protein asymmetry and flexibility are necessary for replication. *Nucleic Acids Res.* 44:2417–28. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1539>
- Soler N, Robert E, Chauvot de Beauchêne I, Monteiro P, Libante V, Maignet B, Staub J, Ritchie DW, Guédon G, Payot S, Devignes M.-D, and Leblond-Bourget N. 2019. Characterization of a relaxase belonging to the MOB_T family, a widespread family in Firmicutes mediating the transfer of ICEs. *Mob DNA*, 10:18.
- Chandler M, de la Cruz F, Dyda F, Hickman AB, Moncalian G, Ton-Hoang B. 2013. Breaking and joining single-stranded DNA: the HUH endonuclease superfamily. *Nat Rev Microbiol.* 11:525–38. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3067>

Iron Import to Counter the Toxic effects of Copper or Cadmium Overload in Bacteria, a Delicate Balance

Anne-Soisig Steunou (anne-soisig.steunou@i2bc.paris-saclay.fr), Marion Babot, Anne Durand, Marie-Line Bourbon, Sylviane Liotenberg, Yoshiharu Yamaichi, Soufian Ouchane

Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), Université Paris Saclay, CEA, CNRS, Université Paris Sud, Gif-sur-Yvette, France

Copper (Cu^+) or cadmium (Cd^{2+}) can be toxic through diverse mechanisms, including [4Fe-4S] degradation and oxidative stress in both prokaryotes and eukaryotes. Iron (Fe) uptake could be involved in Cu^+ or Cd^{2+} response and toxicity; this has not been directly tested yet, however transcriptomic and proteomics data support this hypothesis. Here, we used a selection of Cu^+ and Cd^{2+} sensitive mutants of the purple bacterium *Rubrivivax gelatinosus* and showed that Cu^+ or Cd^{2+} tolerance relied on the expression of the Fur-regulated FbpABC iron transporter. To support this conclusion, inactivation of the FbpABC system in the Cu^+ or Cd^{2+} -ATPase-efflux mutants gave rise to hypersensitivity towards these metal ions. Moreover, Cu^+ or Cd^{2+} induced FbpA expression, suggesting that, although Fe uptake might increase Fe-based Fenton chemistry, it is a crucial response for bacterial survival under metal stress. Similar findings were also described in *Vibrio cholerae*. We also showed that the exposure of the efflux ATPase mutants to Cu^+ or Cd^{2+} in *R. gelatinosus* and *V. cholera* resulted in an increased expression of the Fe-Sod, likely in response to Fe uptake. Our data support a model in which metal excess induced Fe uptake following 4Fe-4S degradation and would induce SodB and ROS detoxification system.

Approaches to study persistence to bactericidal antibiotics in *E. coli*

Wei Lin Su¹ (wei-lin.su@inserm.fr), Marie-Florence Bredeche¹, Chantal Lotton¹, Ivan Matic^{1,2}

¹Institut Cochin, INSERM - Université Paris Descartes, Paris, France

²CNRS, Paris, France

Bacterial persisters are a sub-population of dormant cells that can transiently survive lethal antibiotic treatment, while they are genetically susceptible. When the antibiotic is removed, persisters can regrow, which might lead to infection relapse and treatment failure.

We aim to understand the mechanisms by which cells enter in persistence, maintain this phenotype and recover afterwards. Persisters' formation is a stochastic phenomenon, happening at very low frequency ($< 0,01$), making their study challenging.

Here, we optimized a method to enrich the population of interest. We study spontaneous persisters to bactericidal antibiotics in *Escherichia coli*, using genetic approaches, fluorescent reporters, flow cytometry coupled with sorting (FACS), and microfluidic coupled with microscopy.

Mots clés : persisters - antibiotic - flow cytometry - microfluidic.

Prevention of the horizontal transfer of antibiotic resistance genes: validation of the DNase effect of biocides used in research laboratories

Boutaina Habib¹ (habibboutaina93@gmail.com), Suzanne Loret²

¹Microbiologie & de Biologie Moléculaire, Université Mohammed V, Faculté Sciences, Rabat, Maroc

²SIPPT - URBM, Université de Namur, Namur, Belgique

In a previous study, we showed that plasmid-specific sequences were found in non-laboratory bacteria strains isolated from laboratory waste waters (oral communication at the 2018 SFM congress). This suggests that laboratory plasmids have been transferred to those bacteria species. Therefore one could question the efficacy of current decontamination methods to destroy bacterial DNA. To answer this question, we checked the DNase effect of current decontamination methods.

PCR was used to detect genes coding for (1) antibiotic resistance and (2) the origin of replication of frequently used laboratory plasmids (ORI), in bacteria from laboratories effluents. Selected isolates were identified using the 16S rRNA sequencing method. DNase effect of several physical and chemical decontamination methods has been evaluated using quantitative PCR of the plasmid marker gene (ORI). The tested chemicals included treatment by bleach or by a commercial product (P) - in combination or not with phosphoric or sulfuric acid (0,1 - 1,5 M).

A DNase effect is observed when H₂SO₄ is added to samples treated by 5-10% NaClO. The D value of sulfuric acid is 0,75 M. To reach the assurance of a 99,9% reduction of DNA, the H₂SO₄ final concentration should then be 2,25 M. The commercial chemical disinfectant (P) showed a DNase activity with a D value of 7,7% (v : v) and the assurance of a 99,9% reduction of DNA is reached with a 23% ponderal concentration.

Although NaClO is effective to inactivate a broad range of biological agents, it should not be used alone for treatment, since DNA - including synthetic constructs coding for antibiotic resistance genes - is not destroyed. The alternative approach is to replace (or complete) NaClO by a treatment with H₂SO₄. However, considering the high acid concentration needed (i.e., 2.25 M), this method is questionable in the general perspective of laboratory / environment safety. One can also replace NaClO by a biocidal mixture, presenting a DNase activity. However, such mixtures are hazardous for the environment too. To conclude, we recommend the incineration of small volumes of liquid wastes, while designing further treatment of large volumes of biocide-treated wastes to minimize their environmental toxicity.

Mots clés : antibiotic resistance - horizontal gene transfer - Waste water - D value (LOG reduction) - bio-safety.

Références :

1. Wichmann et al, 2017, Monitoring of genetically modified Escherichia coli in laboratory wastewater. Environ Sci Pollut Res 24:23725
2. Karkman et al, 2017, Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water, TIMI 1499, 9 pages
3. Russel AD, 2003, Biocide Use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations, The Lancet 3:794
4. von Wintersdorff et al, 2016, Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer, Front Microbiol 7:173
5. Pinilla-Redondo et al., 2018, Monitoring plasmid-mediated horizontal gene transfer in microbiomes: recent advances and future perspectives, Plasmid 99:56

Association antibiotiques - extraits d'huiles essentielles : effets antagonistes chez *Pseudomonas aeruginosa*

Alexandre Tetard¹ (alexandre.tetard@laposte.net), Catherine Llanes², Patrick Plésiat^{2,3}

¹UMR 6249, UBFC, Besaçon, France

²UMR 6249, UBFC, Besaçon, France

³Bactériologie, CHU Jean Minjoz, Besaçon, France

Introduction et objectifs :

La pression de sélection causée par les antibiotiques a fait augmenter le nombre de souches multi-résistantes, rendant les solutions thérapeutiques toujours plus complexes. C'est le cas de la bactérie *P. aeruginosa* qui, en plus de sa résistance naturelle, montre une capacité adaptative qui lui permet d'augmenter le spectre et le niveau de résistance. Face à ce constat, patients et cliniciens cherchent des alternatives thérapeutiques parmi lesquelles certaines huiles essentielles apparaissent comme un recours possible. Cependant, le stress induit par certains de ces composés naturels (aldéhydes) provoque la surproduction de pompes d'efflux capables d'exporter les antibiotiques hors de la bactérie. Dans ce travail, nous avons déterminé l'impact de deux aldéhydes naturels sur la résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques : le cinnamaldéhyde (CNA) et le citral (CIT).

Matériel et méthodes :

Le pouvoir bactéricide du CNA/CIT sur a été mis en évidence par la réalisation de courbes de croissance sur la souche de référence PA14. La résistance aux antibiotiques a été mesurée par la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices avec et sans CNA/CIT. En cas d'antagonisme, les mécanismes mis en jeu ont été explorés au cours du temps par RT-qPCR des gènes d'efflux (*mexB*, *mexC*, *mexE* et *mexY*). L'impact de l'efflux dans l'adaptation au CNA/CIT a été étudié sur des mutants de PA14 inactivés dans les pompes.

Résultats, discussion et conclusion :

A des concentrations sub-létales (256 et 512 µg/ml), le CNA induit la surexpression transitoire de 4 systèmes d'efflux (MexAB-OprM, MexEF-OprN, MexCD-OprJ et MexXY/OprM). Cette surexpression conduit à une diminution de la sensibilité (de 4 à 16 fois) à plusieurs antibiotiques anti-*Pseudomonas* (β-lactamines, aminosides, fluoroquinolones). Le CIT, non bactéricide à 5 mg/ml, provoque également une nette résistance aux aminosides et à la colistine ; mais, dans ce cas, la surproduction des 2 pompes MexEF-OprN et MexXY/OprM ne semble pas pouvoir expliquer à elle seule la résistance observée. Ces résultats soulignent que les aldéhydes extraits d'huiles essentielles, bactéricides ou non, peuvent générer une résistance transitoire aux antibiotiques. Ces effets antagonistes doivent être explorés plus en avant et diffusés auprès du public sachant que ces produits sont en libre accès.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa* - huiles essentielles - résistances antibiotiques - cinnamaldehyde - citral.

A broad-spectrum bacterial gyrase inhibitor with a novel scaffold

Aurélie Vassort (aurelie.vassort@evotec.com), Vincent Leroy, Laurence Conraux, Stéphane Yvon, Pierre Saint-Michel, Pierre Despeyroux, Cédric Couturier, Stéphane Renard, Eric Bacqué, Michaël Mourez

Evotec ID Lyon, Marcy-l'Étoile, France

A novel series was identified from a high throughput phenotypic screening of a focused small molecule collection against a panel of bacterial pathogens. This novel scaffold demonstrates good *in vitro* potency against both a large panel of Gram-negative bacteria, including *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*, and Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus*.

The compounds target gyrase and topo-isomerase IV, thereby inhibiting bacterial DNA synthesis. Although these proteins are already known as the targets of fluoroquinolones (FQ), the binding mode and the structure of the compounds differ from that of FQ. Indeed, some compounds of the series are active in whole bacteria against FQ-resistant strains of *Escherichia coli* and *in vitro* against mutated FQ-insensitive gyrase enzymes in a supercoiling assay. However, some compounds exhibit partial cross-resistance with FQ. The best compound (best *in vitro* activity and no cross-resistance) has also demonstrated good *in vivo* efficacy in a septicemia model, with a bacterial burden reduction similar to that obtained with tobramycin when administered intravenously at 30 mg/kg. Their physico-chemical and ADMET profiles are also acceptable at this stage. Taken together, these data suggest that there is still a chemical space to identify novel broad-spectrum gyrase/topo-isomerase inhibitors demonstrating no cross-resistance with FQ.

Mots clés : topo-isomérases - broad-spectrum - novel scaffold.

Inactivation of D-alanylation of teichoic acids sensitizes Gram+ pathogens to β -lactams

Nicolas Verneuil¹ (nicolas.verneuil@unicaen.fr), Delphine Coupri¹, Abdellah Benachour¹, Thierry Lequeux², Emmanuel Pfund², Axel Hartke¹, Aurélie Budin-Verneuil¹

¹UFR Sciences - U2RM, Université de Caen Normandie, Caen, France

²ENSICAEN - UMR 6507, Université de Caen Normandie, Caen, France

Background:

The dramatic increase of drug resistance in major human pathogens is a serious global problem. Enterococci and staphylococci are part of these critical pathogens for which new treatment strategies are urgently needed.

Objectives:

We explored in this work if the D-alanylation system of teichoic acids (TAs) could be a promising drug-gable target to fight infections caused by drug resistant enterococci and staphylococci. TAs are cell wall polymers decorated with D-alanine. Four enzymes (DltA to DltD) encoded by the *dlt*-operon are necessary for the addition of D-alanine.

Methods:

Growth and survival of clinical isolates of these Gram+ pathogens were analyzed after treatment with several clinically relevant antibiotics individually and in combinations. An inhibitor of DltA was synthesized and tested *in vitro* and in an infection model based on the larvae of the insect *Galleria mellonella* infected with *E. faecalis*, *E. faecium* and *S. aureus*.

Results:

Absence of D-alanylation does not impact the MICs towards the tested antibiotics in enterococci. Most cephalosporins had no impact on the parental strain survival but were lethal for the *dltA* mutant. Addition of a very low concentration of amoxicillin significantly increased killing of D-alanylation-deficient strains. The most spectacular effect was obtained with a combination of cefotaxime (1 μ g/mL) and amoxicillin (0.03 μ g/mL). In the presence of the synthesized inhibitor, the wild-type strain was as sensitive to this combinatory treatment as the *dltA* mutant. Interestingly, pharmacological inhibition of D-alanylation re-sensitized methicillin-resistant strains of *S. aureus* to oxacillin and imipenem. Moreover, we provide the proof-of-concept that inhibition of D-alanylation by the chemical inhibitor combined with an antibiotic treatment efficiently protected insect larvae against lethal infections by enterococci and staphylococci.

Conclusion:

Our combined data demonstrate that the D-alanylation system is a promising target to fight infections of major Gram+ pathogens resistant to clinically important antibiotics. The inhibitor phenocopies well the effects observed with the *dltA* null-mutant, but only at relative high concentrations. Therefore, new molecules with improved properties targeting Dlt-proteins are currently synthesized and tested.

Mots clés : Antibiotic resistance - Gram+ pathogens - β -lactams - D-alanylation inhibition.

Caractéristiques toxiques et diversité génétique des souches de *Clostridium perfringens* impliquées dans les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) en Ile-de-France

Abakabir Mahamat Abdelrahim (abakabair-mahamat.abdelrahim@anses.fr), Jacques-Antoine Hennekinne, Michel-Yves Mistou, Olivier Firmesse

Laboratoire de Sécurité des Aliments, Université Paris-Est/Anses, Maisons-Alfort, France

Introduction et objectifs :

Clostridium perfringens représente la quatrième cause des TIAC d'origine bactérienne en France. Les souches productrices de l'entérotoxine (CPE), synthétisée en phase sporulation sont actuellement connues comme étant les seules capables de causer des TIAC. Cependant, vingt-deux facteurs de virulence (toxines et enzymes digestives) sont décrits dans la littérature. Leur impact sur l'étiologie des TIAC reste inconnu d'autant plus que la norme EN-NF-ISO-7937 utilisée pour certifier la présence de *C. perfringens* dans les aliments impliqués dans des TIAC ne permet pas d'augurer de leur pathogénicité. L'objectif de notre travail est d'améliorer la caractérisation des souches de *C. perfringens* afin de mieux comprendre la survenue de TIAC.

Matériels et méthodes :

L'étude a porté sur 150 souches impliquées dans 44 TIAC survenues en Ile-de-France. Deux approches, d'une part par PCR en temps réel ciblant 17 gènes codant 15 facteurs virulence et d'autre part par BLAST (Basic Local Alignment Sequence Tool) à partir du séquençage du génome complet (WGS), ont permis de déterminer les profils de gènes de virulence (PGV) des souches, ainsi que les profils plasmidiques, phagiques et CRISPR. Les données WGS ont également permis d'inférer une phylogénie robuste basée sur les variations du polymorphisme nucléotidique (SNP) du core-génome. Les PGV et l'étude phylogénomique ont permis de définir une collection représentative sur laquelle des tests biologiques de cytotoxicité ont été réalisées.

Résultats, discussion et conclusion :

Une grande diversité des souches a été obtenue puisque 15 PGV ont été mis en évidence. La reconstruction phylogénomique a permis une séparation en deux clades distincts, des souches *cpe*-positif chromosomique d'une part des souches *cpe*-positif plasmidique et *cpe*-négatif d'autre part suggérant une origine distincte. Des effets cytotoxiques dont l'origine reste à déterminer ont été observés en particulier pour une souche *cpe*-négatif.

Ce travail a permis une meilleure caractérisation de *C. perfringens* au niveau toxinique, génomique et cytotoxique.

Mots clés : TIAC - *Clostridium perfringens* - WGS - Cytotoxicité.

***Campylobacter* thermotolérants en Algérie : Portage intestinal, contamination superficielle des carcasses réfrigérées et étude de la sensibilité aux antibiotiques**

Radia Bouhamed¹ (bouhamed.r@gmail.com), Leila Bouayad¹, Saliha Bounar-Kechih^{1, 2}, Mossadak Taha Hamdi¹

¹Laboratoire de recherche HASAQ, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, Alger, Algérie

²Laboratoire régional, Draa-Ben-Khedda, Tizi-ouzou, Algérie

Introduction et objectifs :

La campylobactériose est une zoonose occasionnée par des micro-organismes appelés *Campylobacter* thermotolérants, et principalement transmis à l'homme par l'ingestion ou bien par la manipulation de viandes de volaille contaminées. De même, ces micro-organismes ont acquis au fil du temps des résistances à divers antibiotiques ; ce qui représente un problème majeur de santé publique.

Ce travail a pour objectifs d'estimer la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans quelques établissements d'abattage de volaille situés dans la banlieue d'Alger, et d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées.

Matériels et méthodes :

133 échantillons résultant de 115 échantillons de peaux de cou et de 18 échantillons de contenus caecaux ont été réalisés à partir de 23 lots de volaille de 5 établissements d'abattage avicoles (4 abattoirs traditionnels et un abattoir moderne). Après recherche et identification des *Campylobacter* thermotolérants, une étude de la sensibilité à 13 antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé préconisée par le CA-SFM et par la méthode du E-test.

Résultats, discussion et conclusion :

A partir des différents prélèvements analysés, 28 souches de *Campylobacter* thermotolérants ont été isolées, soit une prévalence de 21,05%. Cette dernière se trouvait répartie entre les taux de détection de ces micro-organismes dans l'ensemble des abattoirs traditionnels (21,18%) et l'unique abattoir moderne visité (20,83%).

La lecture des diamètres d'inhibition des 28 souches testées a révélé que la plupart des isolats étaient résistants à l'acide nalidixique (96,43%), à la ciprofloxacine (92,86%), à la tétracycline (85,71%) et à l'ampicilline (75,00%). En revanche, aucune résistance à la gentamicine n'a été décelée. Par ailleurs, la méthode du E-test a révélé que la plupart des souches testées étaient résistants à la tétracycline (78,57%) et à la ciprofloxacine (82,14%).

Nos résultats corroborent ceux d'autres travaux réalisés à travers le monde, et indiquent que la viande de volaille réfrigérée représente un réel danger pour le consommateur à travers la dissémination de souches pathogènes de *Campylobacter*, mais aussi en favorisant l'extension de l'antibiorésistance tant en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine.

Mots clés : *Campylobacter* thermotolérants - Volaille - Abattoir traditionnel - Abattoir moderne - Antibiorésistance.

Évaluation des méthodes d'échantillonnage recommandées par la norme ISO 18593 pour la recherche des biofilms de *Listeria monocytogenes* sur les surfaces de transformation alimentaire

Thomas Brauge^{1, 2, 3} (thomas.brauge@anses.fr), Lena Barre^{3, 4}, Guylaine Leleu¹, Stéphane André^{2, 5}, Catherine Denis^{2, 6}, Aurélie Hanin^{2, 6}, Bastien Frémaux^{2, 7}, Morgan Guilbaud^{2, 8}, Jean-Marie Herry^{2, 8}, Nadia Oulahal^{2, 9}, Christophe Soumet^{10, 2}, Béatrice Anger Lemaitre¹⁰, Graziella Midelet^{1, 2, 3}

¹ Anses, Laboratoire de Sécurité des Aliments, Boulogne-sur-Mer, France

² RMT ACTIA CHLEAN, Paris, France

³ LRUE *L. monocytogenes*, Maisons-Alfort, France

⁴ Anses, Laboratoire de Sécurité des Aliments, Maisons-Alfort, France

⁵ CTCPA, EMaiRIT'S, Avignon, France

⁶ ACTALIA, Sécurité des aliments, Saint-Lô, France

⁷ IFIP, Pôle viande et Charcuterie, Maisons-Alfort, France

⁸ AgroParisTech, INRA, Univ Paris-Saclay, UMR GMPA, Massy, France

⁹ Univ Lyon 1, ISARA Lyon, BioDyMIA, Equipe Mixte 3733, Technopole Alimentec, Bourg-en-Bresse, France

¹⁰ Anses, Laboratoire de Fougères, Unité Ab2R, Javené, France

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*) est un pathogène alimentaire qui peut être responsable de toxi-infections alimentaires collectives. Il peut être retrouvé sur différentes surfaces présentes dans les ateliers de transformation des produits alimentaires car ce pathogène possède la capacité d'adhérer aux surfaces et de former des biofilms. Les biofilms confèrent aux cellules bactériennes une protection face aux agressions environnementales comme les procédures de nettoyage et désinfection (NaD). Pour vérifier l'efficacité de leurs procédures de NaD, les professionnels effectuent régulièrement des contrôles de surface à l'aide de méthodes de prélèvement.

En 2017, la norme EN ISO 11290-1 a été révisée et le nouveau champ d'application inclut explicitement la détection et le dénombrement de *L. monocytogenes* dans les échantillons environnementaux, en référence à la norme EN ISO 18593. Cette norme, qui décrit les techniques d'échantillonnage dans l'environnement de production alimentaire, a été révisée et publiée en 2018. La norme EN ISO 18593 préconise l'utilisation d'écouvillon, d'éponges, de lingette et de boîtes contact sur les surfaces.

Afin d'obtenir des informations sur les pratiques d'échantillonnage des environnements de transformation alimentaire, nous avons réalisé une enquête européenne, conçue pour collecter des informations sur les pratiques des opérateurs qui sont réalisées dans le but de détecter *L. monocytogenes* dans les ateliers. Cent trente-sept questionnaires provenant de 14 États membres de l'UE nous ont été retournés. Les résultats de l'enquête ont montré une grande variété de pratiques avec quelques pratiques inappropriées.

Nous avons ensuite réalisé une étude inter-laboratoire (8 participants) pour évaluer l'efficacité de différentes techniques de prélèvement pour détacher *L. monocytogenes* de deux surfaces les plus couramment retrouvées en atelier que sont l'acier inoxydable et le polyuréthane. Cette étude a montré qu'il n'y avait pas de différence significative entre les techniques de prélèvements étudiées pour détacher la population viable et cultivable de *L. monocytogenes*.

Mots clés : ISO 18593 - Sampling methods - Surfaces - Biofilms - *Listeria monocytogenes*.

Impact du stress biocide sur la viabilité des cellules de *Listeria monocytogenes* en biofilm et sur leurs transferts des surfaces vers l'aliment

Thomas Brauge¹ (thomas.brauge@anses.fr), Guylaine Leleu¹, Aurelie Hanin², Catherine Denis², Graziella Midelet¹

¹ANSES, Laboratoire de Sécurité des Aliments, Boulogne-sur-Mer, France

²ACTALIA Sécurité des aliments, Saint-Lô, France

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*) est un pathogène alimentaire fréquemment isolé en agro-alimentaire. Cette bactérie est capable d'adhérer aux surfaces et de former des biofilms qui sont composés d'une matrice extracellulaire. Cette matrice extracellulaire a pour fonction de protéger les cellules bactériennes des agressions environnementales comme les procédures de nettoyage et désinfection (NdD). Il est donc essentiel pour les professionnels d'avoir des biocides efficaces pour éliminer ces biofilms et pour limiter les transferts des cellules de *L. monocytogenes* des surfaces vers les aliments.

L'objectif de notre travail a été i) d'évaluer l'impact de deux biocides fréquemment utilisés en entreprise agro-alimentaire sur la viabilité cellulaire de *L. monocytogenes* en biofilm, ii) d'évaluer le potentiel de transfert de ces bactéries stressées d'une surface vers un aliment, iii) et de suivre l'évolution de la viabilité des bactéries transférées dans l'aliment.

Des biofilms mono-espèces et mixtes de *L. monocytogenes* associée ou non à *Carnobacterium maltaromaticum* et *Carnobacterium divergens* ont été cultivés pendant 24h à 8°C sur acier inoxydable. Des traitements statiques par des biocides (peroxyde d'hydrogène ou ammonium quaternaire) ou avec de l'eau (témoin) ont été appliqués sur ces biofilms. Les populations des biofilms traités ont été quantifiées par dénombrement sur des milieux gélosés de la population viable cultivable et, par qPCR et PMA-qPCR, respectivement pour les populations totales et viables de *L. monocytogenes*. Parallèlement, des transferts ont été réalisés entre les surfaces contaminées traitées vers des morceaux calibrés de hareng fumés ionisés. Les populations cultivables, totales et viables de *L. monocytogenes* ont ensuite été quantifiées dans ces aliments à J0 et à DLC.

Dans l'ensemble des conditions, l'application d'un traitement à l'eau (témoin) n'a pas modifié la viabilité cellulaire de *L. monocytogenes* en biofilm. Le traitement par les deux biocides testés n'a pas permis l'élimination des cellules de *L. monocytogenes* sur la surface mais a conduit à un changement dans la viabilité de la population avec majoritairement des cellules viables non cultivables (VNC). Ces cellules VNC se sont transférées dans les morceaux de hareng et ont repris leur cultivabilité à DLC.

Mots clés : Listeria - biofilm - biocides - transfert - produit de la pêche.

Comparaison de la toxicité du traitement par l'éthidium monoazide (EMA) et par le propidium monoazide (PMA) pour différencier les *Vibrio* viables par PCR en temps réel

Stéphanie Copin¹ (stephanie.copin@anses.fr), Julia Mougin², Virginie Ragueneau¹, Annick Robert-Pillot³, Marie-Laure Quilici³, Graziella Midelet-Bourdin¹, Thierry Grard², Maryse Bonnin-Jusserand²

¹B3PA, Anses, Boulogne-sur-mer, France

²BPA, ULCO, Boulogne-sur-mer, France

³CNR *Vibrio* et choléra, Institut Pasteur, Paris, France

L'éthidium monoazide (EMA) et le propidium monoazide (PMA) sont des dérivés du Bromure d'Ethidium, un agent intercalant couramment utilisé en biologie moléculaire pour la visualisation des acides nucléiques. Leur toxicité a été comparée sur plusieurs espèces de *Vibrio*, comprenant des souches de référence d'origine clinique et environnementale, ainsi que des souches isolées de produits de la mer. L'objectif de cette étude était de développer une PCR en temps réel permettant de distinguer les cellules viables des cellules mortes de *Vibrio* après un prétraitement avec un de ces agents intercalants. Les résultats ont montré que le PMA n'avait aucun effet antimicrobien, alors que l'EMA était toxique pour plusieurs espèces de *Vibrio* testées dans cette étude.

Mots clés : *Vibrio* - VBNC - EMA/ PMA - toxicity - real time PCR.

Evaluation de trois membranes filtrantes et de deux méthodes pour la détection de NoV et VHA dans les eaux de boisson

Océane Dehan (oceane.dehan@anses.fr), Catherine Hennechart-Collette, Audrey Fraisse, Sandra Martin-Latil, Sylvie Perelle

Virus entériques, ANSES, Maisons-Alfort, France

Parmi les virus entériques impliqués dans des épidémies d'origine hydrique, le norovirus humain (NoV) et le virus de l'hépatite A (VHA), respectivement responsables de gastro-entérites et d'hépatites aiguës, représentent un grave problème de santé publique. A ce jour, la norme européenne EN ISO (15216-1:2017) décrit une méthode de concentration par filtration pour la détection moléculaire des NoV et du VHA dans les eaux embouteillées. Cette méthode préconise l'utilisation d'une membrane filtrante chargée positivement avec une taille de pore de 0.45µm (47 mm de diamètre).

L'objectif de cette étude est d'évaluer trois membranes filtrantes ayant des caractéristiques différentes (deux filtres chargés positivement (de porosité 0,45 µm et 0,22 µm) et un filtre non chargé (de porosité 0,45 µm) pour la concentration des NoV et du VHA dans des eaux embouteillées et des eaux de réseau. La méthode adsorption-élution proposée par la norme EN ISO 15216 et une méthode d'extraction directe des virus des filtres ont été utilisées.

Les rendements d'extraction des virus (NoV, VHA et MNV-1) dans les eaux embouteillées et les eaux de réseau sont compris entre 6.67% et 67.5% et sont plus élevés avec la méthode d'extraction directe des virus des membranes filtrantes qu'avec la méthode adsorption-élution proposée par la norme EN ISO 15216. Les rendements d'extraction des virus obtenus pour le filtre électropositif ayant une porosité de 0,45 µm avec la méthode d'extraction directe des virus des membranes filtrantes étaient significativement plus élevés que ceux obtenus avec le filtre électropositif de porosité 0.22µm et le filtre non chargé de porosité 0.45µm.

En conclusion, le filtre électropositif 0.45µm testé lors de cette étude suivi d'une extraction directe des virus de la membrane, pourrait être utilisé pour concentrer les virus dans les eaux de boisson lors d'investigations virales.

Mots clés : Virus entériques - Eaux de boisson - Détection.

Utilisation du procédé Néose® pour le suivi aromatique de yaourts

Yann Demarigny¹ (ydemarigny@isara.fr), Elodie Legrand¹, Daniel Picque², Sami Slimani³, Thierry Livache³

¹Laboratoire de microbiologie alimentaire, ISARA, Lyon, France

²UMR GPMA, INRA, Thiverval Grignon, France

³Aryballes, Grenoble, France

Les yaourts sont des laits fermentés obtenus à partir de l'action commensale de *Streptococcus thermophilus* (ST) et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB). Ceci se traduit par une acidification (pH final <4,5), un changement d'état du lait par gélification (production d'exopolysaccharides) et une production d'arômes (notamment du diacétyle et de l'acétaldéhyde). Le processus de fabrication, parfaitement maîtrisé, se fonde sur un suivi du pH. Cependant, des modifications des rapports des deux microorganismes peuvent se produire, conduisant à des cinétiques de pH normales, mais des profils aromatiques différents. La mesure en temps réel de l'aromatisation des laits pourrait donc constituer un moyen plus fin de suivi de l'évolution de la fermentation du yaourt. Mais actuellement, les moyens disponibles ne permettent pas d'évaluer rapidement et à faible coût un profil aromatique.

La société Aryballe a développé un appareil original portable le Néose® permettant d'obtenir une empreinte en temps réel du profil aromatique d'un substrat. Nous avons utilisé ce système pour vérifier la pertinence de son utilisation en technologie yaourt.

Nous avons sélectionné deux mélanges de ST et LB dont les proportions ont été ajustées différemment avant ensemencement (1/99, 50/50, 99/1). Des yaourts ont été fabriqués avec ces différents ratios et suivis sur la base des niveaux cellulaires, du pH et de l'acidité. Une analyse Néose® a été effectuée à T=0 et à T=7h associée pour ce second point à une analyse en GC/MS.

Les résultats obtenus permettent de montrer qu'il est tout à fait possible de différencier le lait du yaourt sur la base de la mesure Néose®. Par contre, si l'effet des mélanges bactériens ne peut être mis en évidence sur la base d'une mesure à 7h, les laits fermentés apparaissent séparés sur la base des ratios. Ainsi, bien qu'à ce stade les deux microorganismes soient sensiblement au même niveau, les profils aromatiques des yaourts peuvent être discriminés.

Des essais sont donc prévus pour évaluer la discrimination des mélanges microbiens selon une approche dynamique sur les 7h que durent l'acidification.

Mots clés : Yaourt - Arôme - Bactéries lactiques.

Impact de l'utilisation de *Bacillus thuringiensis* au champ sur la contamination des végétaux frais prêts à l'emploi

Catherine Denis¹ (c.denis@actalia.eu), Aurélie Hanin¹, Estelle Sonnet¹, Antonin Gombert¹, Jacques-Antoine Hennekinne², Sabine Herbin²

¹Sécurité des aliments, ACTALIA, Saint Lô, France

²Laboratoire de sécurité des aliments, Anses, Maisons-Alfort, France

Bacillus thuringiensis (Bt), appartenant au groupe *Bacillus cereus* sensu lato, est utilisé en agriculture comme alternative ou en complément des pesticides synthétiques. Malgré l'autorisation d'épandage en France, les formulations à base de Bt sont peu utilisées et peuvent entraîner une augmentation de la prévalence des bactéries du groupe *B. cereus* sur les produits maraîchers et potentiellement sur les produits issus de leur transformation tels que les légumes de 4^{ème} gamme.

Méthode : le devenir de spores de Bt phytosanitaires au cours de la transformation et de la conservation de salades 4^{ème} gamme a été étudié pour la laitue, la mâche et le persil. Deux souches (Bt ssp. *aizawai* et ssp. *kurstaki*) ont étéensemencées à 10⁴ spores/g sur la matière première. Les produits contaminés ont ensuite été soumis aux étapes de lavage, chloration, rinçage et essorage en halle technologique. Des tests de croissance sur le produit fini conditionné ont été réalisés au cours de la conservation à 8°C, 10°C ou 15°C. La croissance des souches de Bt a été comparée à celle de trois souches du groupe *B. cereus* sensu lato : Bt non phytosanitaire isolée d'aliment, *B. weihenstephanensis* (Bw) et *B. cereus* sensu stricto (Bc) émétique. Pour cette dernière souche, des dosages de toxine émétique ont été effectués.

Les résultats montrent que le procédé entraîne un abattement de la population en Bt d'environ 1 log pour la mâche, 1,4 log pour la laitue et 1,6 log pour le persil. Les souches de Bt, Bw et de Bc étudiées ne se développent pas à 8°C et 10°C dans les matrices végétales. A une température « abusive » de 15°C, la croissance est modérée et aléatoire avec des potentiels de croissance allant de 0 à + 2 log. Pour Bc, aucune production de toxine émétique n'a été détectée en fin de conservation. Associé aux données de prévalence de Bt sur les matières premières, ce projet contribuera à évaluer l'exposition du consommateur à la présence de Bt dans les produits finis.

Ce projet Vegexpobt (2017- 2019) a bénéficié d'un financement par FranceAgriMer et le Syndicat des Végétaux Frais Prêts à l'Emploi.

Mots clés : *B. thuringiensis* - légumes frais prêts à l'emploi - croissance - procédé.

Discrimination entre *Bacillus thuringiensis* et les autres espèces du groupe *B. cereus* par la détection des gènes *cry* et la méthode HRM

Aurélien Hanin¹ (a.hanin@actalia.eu), Estelle Sonnet¹, Sabine Herbin², Catherine Denis¹

¹Sécurité des aliments, ACTALIA, Saint Lô, France

²Laboratoire de sécurité des aliments, Anses, Maisons-Alfort, France

Bacillus thuringiensis (Bt) est utilisé en agriculture comme alternative ou en complément des pesticides synthétiques. Malgré l'autorisation d'utilisation en France, les formulations à base de Bt sont peu utilisées. Les critères microbiologiques mis en place par certains membres de l'Union Européenne et relatifs aux *Bacillus cereus* présomptifs constituent un frein à l'utilisation de Bt sur les végétaux destinés à la filière 4^{ème} gamme. En effet, les spores de Bt peuvent subsister sur les végétaux après récolte parfois en nombre élevé. Or, à l'heure actuelle, la méthode de référence NF EN ISO 7932 ne permet pas de distinguer les différentes espèces du groupe *B. cereus* (Bc), notamment Bt. L'observation du cristal parasporal au microscope est actuellement la méthode de référence permettant de différencier Bt dans le groupe Bc. Mais cette méthode nécessite la sporulation de la souche qui peut être parfois longue et reste subjective et soumise à l'interprétation de l'opérateur. L'utilisation de méthodes plus rapides et plus fiables permettrait de pallier à ces inconvénients. Deux méthodes, la détection des gènes *cry* à l'origine de la synthèse des protéines insecticides par PCR et l'amplification d'une séquence intergénique et l'analyse de courbes de fusion à haute résolution (**HRM pour High Resolution Melt**), ont été optimisées puis testées sur 59 souches (9 souches de Bt phytosanitaires, 20 souches de Bt isolées d'aliment et 30 autres appartenant au groupe Bc provenant de la collection de l'Anses). Les pourcentages d'exclusivité et d'inclusivité sont de 93 % pour la détection du gène *cry* et de 90% pour la méthode HRM et apparaissent comme satisfaisants en comparaison aux autres méthodes existantes de discrimination des espèces appartenant au groupe Bc. Le gain de temps par rapport à la méthode microscopique de détection du cristal parasporal est de 48 heures.

Les deux méthodes ont ensuite été appliquées à des souches de Bc présomptifs isolées d'échantillons de persil, mâche et laitue naturellement contaminés et les résultats ont été comparés à ceux obtenus avec la méthode de détection du cristal parasporal.

Ce projet Vegexpobt (2017- 2019) a bénéficié d'un financement par FranceAgriMer et le Syndicat des Végétaux Frais Prêts à l'Emploi.

Mots clés : *Bacillus thuringiensis* - *Bacillus cereus* - gènes *cry* - High resolution melt - cristal parasporal.

Study of phage communities in Normandy ciders

Nathalie Desmasures (nathalie.desmasures@unicaen.fr), Céline Caillard, Marina Crétenet, Marion Dalmasso

UNICAEN, UNIROUEN, EA 4651 ABTE, Normandie Université, Caen, France

Introduction and objectives:

Bacteriophages (phages) are bacterial viruses that can attack and kill a target bacterium within minutes of infection. Phages are often sourced from complex communities of bacteria, where they presumably play a role in contributing to population structure and stability. Phage communities (phageomes) are starting to be described in complex microbial communities such as those of the human gut and aquatic environments 1,2, where they presumably play a major role in contributing to community structure and stability. However, the role of the phageome in influencing the temporal development, the equilibria and functionalities of bacterial communities has been under investigated. An obvious lack of data regarding the phageome in fermented foods exists with seldom literature available 3,4. Cider microbial communities, and more precisely phageomes, are especially under investigated to date. The aim of the present project RNAMB is to investigate the diversity and the structure of phageomes during cider production, in correlation with bacterial communities in cider.

Methods and scientific significance:

The first step of the work was to design a protocol for phageome DNA extraction from cider samples throughout the fermentation process based on existing protocols for virome DNA extraction⁵. Several protocols were established and tested in order to get the best quality of phageome DNA, with a particular attention given to getting rid of membrane vesicles that could pollute total viral DNA. Phageome DNA will then be sequenced using shot-gun Illumina sequencing. The metaphageome results will then be compared to the bacterial metagenomics data already available in the laboratory for the same samples in order to compare phage and bacterial diversity throughout the fermentation process. Such a large pool of cider samples has never been analyzed for their phageome diversity before. This step will lay the ground work for assessing the fluctuations in phage composition compared to bacterial diversity, in order to decipher the intricate relationships that exist between the two communities in fermented foods. This large scale phageome assessment will leave the door open for a better understanding of the constitution of food microbial ecosystems toward an improved control of fermented foods.

Mots clés : phage community - phageome - cider - diversity - fermented foods.

Références :

1. Borrel, G. et al., 2012, Unexpected and novel putative viruses in the sediments of a deep-dark permanently anoxic freshwater habitat. *ISME J.* 6, 2119–2127
2. Dalmasso, M., Hill, C. & Ross, R. P., 2014, Exploiting gut bacteriophages for human health. *Trends Microbiol.* 22, 399–405
3. Jung, M.-J. et al., 2018, Viral community predicts the geographical origin of fermented vegetable foods more precisely than bacterial community. *Food Microbiol.* 76, 319–327
4. Park, E.-J. et al., 2011, Metagenomic Analysis of the Viral Communities in Fermented Foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 1284–91
5. Shkoporov, A. N. et al., 2018, Reproducible protocols for metagenomic analysis of human faecal phageomes. *Microbiome* 6, 68

***Yersinia enterocolitica* dans le lait cru en Algérie, quel risque ?**

Emilie Esnault¹ (emilie.esnault@anses.fr), Khawla Zahra Hade^{1, 2}, Boumediene Moussa-Boudjemâa²

¹Laboratoire Ploufragan-Plouzané-Niort, ANSES, Ploufragan, France

²LAMAABE, Université de Tlemcen, Tlemcen, Algérie

Introduction et objectifs :

Yersinia enterocolitica est le troisième agent pathogène responsable de zoonoses alimentaire en Europe. Des épidémies dues à la consommation de lait ont été rapportées. En Algérie, comme dans d'autres pays à revenu intermédiaire, les normes d'hygiène ne sont généralement pas correctement contrôlées et le lait cru est jusqu'à présent consommé sans traitement thermique. Dans cette étude nous avons voulu estimer l'exposition à *Y. enterocolitica* lors de la consommation de lait cru en Algérie.

Matériels et méthodes :

La présence de *Y. enterocolitica* a été recherchée lors d'une enquête portant sur 100 échantillons dans l'ouest de l'Algérie. Les souches isolées ont été biotypées et la présence de 4 gènes de virulence (*ail*, *inv*, *ystB* et *virF*) a été recherchée. La diversité génétique et les relations possibles entre ces souches a été étudiée par PFGE en utilisant les enzymes NotI, Apal et XhoI.

Résultats et discussion :

L'enquête a permis d'isoler 17 souches de *Y. enterocolitica* de biotype 1A. Ce biotype est fréquemment isolé des animaux, des aliments, des eaux et de l'environnement et est généralement considéré comme non pathogène. Cependant, des souches 1A ont été isolées chez l'homme présentant un diagnostic clinique de yersiniose. Toutes les souches issues de notre enquête possèdent au moins un gène de virulence. Les souches de biotype 1A sont décrites comme formant une population génétique très hétérogène. Il est intéressant de noter que dans cette étude, seul quatre profils de PFGE ont été trouvés et certains profils reflètent une nette disparité régionale.

Conclusion :

Le risque lié à la présence de ces souches ne doit pas être ignoré et des études impliquant un plus grand nombre d'échantillons seraient nécessaires afin de déterminer si des souches de biotypes pathogènes sont retrouvées dans le lait cru en Algérie.

Mots clés : *Y. enterocolitica* - PFGE - gènes de virulence - lait cru.

Développement et standardisation d'une méthode miniaturisée pour le dénombrement de *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes pour l'homme dans les produits de la mer

Dominique Hervio Heath¹ (Dominique.Hervio.Heath@ifremer.fr), Stéphanie Copin², Evelyne Fénart³, Pascal Garry⁴, Solen Lozach¹, Nina Revoux², Claire Valla¹, Antoine Véron⁴

¹RBE/SGMM/LSEM, IFREMER, Plouzané, France

²Laboratoire de Sécurité des Aliments, ANSES, Boulogne, France

³CITPPM, Paris, France

⁴RBE/SGMM/LSEM, IFREMER, Nantes, France

Introduction et objectifs :

La mise en évidence de *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes pour l'homme dans les coquillages, les produits de la pêche (crustacés, poissons) et dans les eaux littorales françaises représente un risque sanitaire pour l'homme. La méthode utilisée pour la recherche de ces vibrions (ISO 21872-1:2017) est qualitative et ne permet pas d'apprécier les niveaux de contamination et le risque lié à leur présence dans l'environnement et les produits de la mer.

Une méthode « miniaturisée » en microplaque (NPP-PCR en temps réel), développée pour le dénombrement de *V. parahaemolyticus* totaux et entéropathogènes (*tdh* et *trh1/trh2*) dans les coquillages a été adaptée aux crustacés et appliquée au dénombrement de *Vibrio cholerae* et de *Vibrio vulnificus* dans les coquillages et les crustacés.

Matériels et méthodes :

Dans un premier temps, la sensibilité des amorces et des sondes a été testée pour chaque système de PCR en temps réel puis la spécificité a été contrôlée sur un grand nombre de souches de référence. La reproductibilité et les limites de quantification ont été déterminées sur des souches *Vibrio* spp. et sur des coquillages et crustacés contaminés artificiellement. La méthode « miniaturisée » a été appliquée au dénombrement de *V. parahaemolyticus* totaux et entéropathogènes, *V. cholerae* et *V. vulnificus* dans des coquillages et des crustacés contaminés naturellement.

Résultats, discussion et conclusion :

L'analyse de lots de crevettes crues d'importation (n=10) indique la présence de *V. parahaemolyticus* (*tdh*-, *trh1*- et *trh2*-) à de faibles concentrations entre 1,4 et 760 UFC/g; *Vibrio cholerae* était présent à des concentrations comprises entre 24 et 18000 UFC/g; *Vibrio vulnificus* n'a pas été détecté ni dénombré dans ces lots de crevettes crues.

L'analyse de lots de coquillages issues de zones conchylicoles françaises indique la présence de *V. parahaemolyticus* totaux et potentiellement entéropathogènes (*tdh*-, *trh1*- et *trh2*+) dans les coquillages prélevés en septembre et octobre 2017 et 2018. *V. cholerae* est présent dans deux lots de palourdes mais à de faibles concentrations (1,2 à 21 UFC/g). *V. vulnificus* n'a pas été détecté dans les coquillages. Cette méthode de dénombrement sera proposée au Comité Européen de Normalisation (CEN, WG27) et à l'ISO comme nouvelle spécification technique.

Mots clés : *Vibrio* spp. entéropathogènes - Homme - Risque sanitaire - Dénombrement - Produits de la mer.

Fermented milks, using *Lactobacillus casei* or *Propionibacterium freudenreichii*, prevent mucositis, a side effect of chemotherapy, in mice

Gwénaél Jan (gwenael.jan@inra.fr)

UMR STLO, INRA, Rennes, France

Introduction and objectives:

Mucositis, a common side effect of cancer chemotherapy, is a clinically important gastrointestinal inflammatory disease. It consists in a painful inflammation and ulceration of the digestive mucosa, which may compromise proper nutrition of the patient, as well as termination of the treatment. It thus increases mortality and morbidity and contributes to rising health care costs. Its treatment is mainly supportive and often fails to relieve symptoms. Probiotic bacteria may maintain homeostasis and reduce side effects of chemotherapy [1]. A major limit to probiotic bacteria anti-inflammatory effect is their susceptibility to digestive stresses and several studies indicate the key protective role of food matrices in increasing probiotics' effect via the protection of bacteria against digestive constraints. In this study, we investigated the role of fermented milk, using the immunomodulatory *Lactobacillus casei* BL23 [2] or *Propionibacterium freudenreichii* CB129 [3, 4] as a probiotic starter, and of its fortification via addition of whey proteins.

Materials and methods:

We evaluated the role of whey protein isolate (WPI), when added to skim milk fermented by *L. casei* BL23 or by *P. freudenreichii* 138, as a protective matrix against *in vitro* stress challenges. In addition, we investigated *in vivo* the therapeutic effect of these fermented beverages in a murine model of mucositis induced by 5-Fluorouracil (5-FU). The monitored outcomes included weight loss, ileum histopathological score, villus height, crypt depth and number of mucus-producing goblet cells.

Results:

This study demonstrated that milk supplementation with 30% (w/v) of WPI increases the survival rate of both strains when challenged with acid or bile salts, compared to fermented skim milk without the addition of WPI. Moreover, treatment with the probiotic beverages prevented weight loss and intestinal damages in mice receiving 5-FU. All symptoms of mucositis were drastically reduced by the consumption of developed probiotic fermented milks [5].

Conclusion:

This study evidenced the protective effect of selected strains of both lactic and propionic acid bacteria, in the context of induced mucositis. It confirmed that selected strains might be used both as starter and probiotic. It opens new avenues for the development of fermented functional foods for target populations.

Mots clés : Lactobacillus - Propionibacterium - cancer - mucositis - immunomodulation.

Références :

1. Jiang, C., Wang, H., Xia, C., Dong, Q., et al., A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics to reduce the severity of oral mucositis induced by chemoradiotherapy for patients with nasopharyngeal carcinoma. *Cancer* 2019, 125, 1081–1090.
2. Rochat, T., Bermúdez-Humarán, L., Gratadoux, J.-J., Fourage, C., et al., Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus casei* BL23 producing or not a manganese-dependant catalase on DSS-induced colitis in mice. *Microb. Cell Fact.* 2007, 6, 22.
3. Foligné, B., Deutsch, S.M., Breton, J., Cousin, F.J., et al., Promising immunomodulatory effects of selected strains of dairy propionibacteria as evidenced *in vitro* and *in vivo*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010, 76, 8259–8264.
4. Deutsch, S.-M., Mariadassou, M., Nicolas, P., Parayre, S., et al., Identification of proteins involved in the anti-inflammatory properties of *Propionibacterium freudenreichii* by means of a multi-strain study. *Sci Rep* 2017, 7, 46409
5. Cordeiro, B.F., Oliveira, E.R., Silva, D., H, S., et al., Whey Protein Isolate-Supplemented Beverage, Fermented by *Lactobacillus casei* BL23 and *Propionibacterium freudenreichii* 138, in the Prevention of Mucositis in Mice. *Front. Microbiol.* 2018, 9

Spices decontamination using a low-pressure microwave plasma source

Cristina Muja (cristina.muja@univ-jfc.fr), Abderrahmane Kais, Thomas Maho, Laurent Therese, Philippe Guillot

Laboratoire DPHE, I.N.U. Champollion, Albi, France

Introduction and objectives:

As the second largest market for seasonings, spices and herbs, the European Union market accounts up to €1.2 billion per year. Spices and herbs may experience conditions which favor microorganism's proliferation. Therefore, without decontaminating treatment, the herbs and spices can result in rapid spoilage of the products and even generate serious food-borne illnesses. Recent studies showed promising results in inactivating bacteria using cold plasma [1]. In this work, the biocidal efficiency of a microwave plasma source in the decontamination of black pepper (*Piper nigrum*) was studied.

Materials and methods:

The decontamination system used in this study is based on a 40-liter reaction chamber containing a coaxial microwave source (Hi-Wave, Sairem SAS) connected to a solid-state generator (2.45 GHz, 200 W max). The tests were made using air as discharge gas. The air pressure was 20 Pa.

The assessment of the biocidal efficacy was made using black pepper obtained in a retail store (Albi, France). Plasma treated and untreated samples were homogenized with sterile peptone water. The total aerobic mesophilic counts were determined on Plate Count Agar (PCA) (30°C/48 h). The results were expressed as the colony forming units per gram (CFU/g). In order to assess the impact of plasma treatment on the physicochemical properties of black pepper, the moisture content, pH, soluble pigment, color and piperine content were examined.

Results, discussion and conclusion:

Plasma treatment of black pepper for 60 minutes resulted in a 1log reduction of the total aerobic mesophilic count compared with the untreated samples. While inactivation efficacy increased with power in the range of 50 W and 80 W but remained stable in the range 80 W and 200 W. The plasma treatment had a minimal effect on the physicochemical properties of black pepper.

This work was supported by Occitanie Region and by Sairem SAS.

Mots clés : decontamination - spices - plasma source - air discharge.

Références :

1. Butscher D, Zimmermann D, Schuppler, von Rohr PR. 2016. Plasma inactivation of bacterial endospores on wheat grains and polymeric model substrates in a dielectric barrier discharge. Food Control. 60: 636-645.

Prevalence of *B. cereus* in Ivory Coast traditional produced flours

Elise N'Guessan¹ (enguessan@yahoo.fr), Bakayoco Souleymane², Mohamed Cissé¹, Prof Marianne Sindic³

¹Biochimie - génétique, Université Peleforo Gon Coulibaly, Korhogo, Côte d'Ivoire

²Microbiologie des aliments, Institut Pasteur Cote d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire

³Laboratoire QSPA Qualité et sécurité, Université de Liège (Gembloux Agro bio), Gembloux, Belgique

Introduction:

In Côte d'Ivoire, current dietary habits involve an increase in the consumption of traditionally produced flours. Unfortunately, there is little data on pathogenic microorganisms such as *B. cereus* on this commodity. In this study, we investigated the prevalence of *Bacillus cereus* in traditional flours, collected in several communes of Abidjan (Ivory Coast) followed by the detection for emetic *B. cereus* strains, which are potentially dangerous.

Material and methods:

Maize, millet and cassava flour, traditionally produced were used in this work. A state of contamination level of these products, relative to *B. cereus* was first assessed. Microbiological analyses were performed according to the EN ISO 7932: 2004 (and FCD microbiological criteria, 2016), then *Bacillus cereus* isolates from above cited flours were screened by PCR for the presence of cereulide-producing strains.

Results:

It was noted a variation in the presence of *B. cereus* by types of flour and by commune. The level of samples contamination differ from each other, within a same commune. The *B. cereus* contamination level being between ≤ 10 to $4 \cdot 10^2$. Furthermore, no emetic strain was detected at this stage of the work.

Discussion:

The most flours samples analyzed were found to be within microbiologically satisfactory limits defined by the FCD microbiology criteria 2016. High moisture content of insufficiently dried flours and artisanal production process could explain the presence of *B. cereus* beyond the defined criteria in certain samples (FAO, 1994; Berghofer *et al.*, 2003 ; N'goran-AW, 2018).

Mots clés : Bacillus cereus - Flour - Pathogen - emetic - strain.

Références :

1. Berghofer *et al.*, (2003). *Int. J. Food Microbiol*, 85:137-49.
2. FAO, (1994). *Codex alimentarius*, Rome, 7: 1-54.
3. N'goran-aw *et al.*, (2018). *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét*, 6 : 476-482.

Prevalence of *B. cereus* and emetic strains detection from Ivory Coast local flours

Elise N'Guessan¹ (enguessan@yahoo.fr), Bakayoko Souleymane², Cissé Mohamed¹, Marianne Sindic³

¹ University Peleforo Gon Coulibaly Korhogo, Korhogo, Côte d'Ivoire

² Pasteur Institute of Ivory Coast, food microbiology laboratory, Abidjan, Côte d'Ivoire

³ University of Liege, Gembloux, Belgique

Introduction:

Bacillus cereus (*B. cereus*) is a pathogen frequently associated with diarrheal and emetic type of food borne illness (Dierick *et al.*, 2005; Messelhäußer and Ehling-Schulz, 2018). Given the undeniable benefits of cereals flour in diet in the African population and the involvement of farinaceous foods in the vast majority of emetic outbreak, the investigation of the prevalence of *B. cereus* and emetic strains, associated to flours produced in Abidjan (Ivory Coast) is found necessary.

Material and methods:

100 samples of millet, maize and cassava flours were collected from five municipalities in Abidjan. Microbiological analysis were carried out in accordance with the standard EN ISO 7932: 2004, to enumerate the *B. cereus* count, susceptible to contaminate the flours collected. *B. cereus* strains isolated from flours were then screened by « polymerase chain reaction », for the presence of emetic strains.

Results:

Overall, 31 (31%) of flour samples were positive for *B. cereus*, at levels below 103 CFU/g. Comparing the five municipalities, the concentration of *B. cereus* was not significantly different ($P < 0,05$). Also, no significant difference was observed, regardless of the types of flour analyzed. Furthermore, no potentially emetic toxin-producing strains were detected in this work.

Discussion:

The prevalence of *B. cereus* in flours could be explained by the moisture contents of these foodstuffs and the abilities of *B. cereus* to survive under high temperature and dried conditions (Claus and Berkeley, 1986; Väisänen *et al.*, 1991; Amor *et al.*, 2018). The results also confirmed previous studies showing that cereulide-producing isolates are rare in the environment (Altayar and Sutherland, 2006).

Conclusion:

Although no emetic strain was detected in flours analysed, *B. cereus* was isolated from them. Even if in low levels, this bacterium is able to develop and cause foodborne illness, as indicated by reported outbreaks.

Mots clés : *Bacillus cereus* - Cereal flour - Pathogen - Emetic strain.

Références :

1. Amor MG, Siala M, Zayani M, Grosset N, Smaoui S, Messadi-Akrout F, Baron F, Jan S, Gautier M, Gdoura R. 2018. Isolation, Identification, Prevalence, and Genetic Diversity of *Bacillus cereus* Group Bacteria From Different Foodstuffs in Tunisia. *Front Microbiol.* 9:447.
2. Claus D, Berkeley RCW. 1986. Genus *Bacillus* Cohn 1872, 174AL. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* ed. P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt pp. 1105-1139. Baltimore: Williams & Wilkins.
3. Dierick K, Coillie EV, Swiecicka I, Meyfroidt G, Devlieger H, Meulemans A, Hoedemaekers G, Fourie L, Heyndrickx M, Mahillon J. 2005. Fatal family outbreak of *Bacillus cereus* associated food poisoning. *J Clin Microbiol.* 43: 4277-4279.
4. Messelhäußer U, Ehling-Schulz M. 2018. *Bacillus cereus* – a Multifaceted Opportunistic Pathogen. *Curr Clin Microbiol Rep* 5: 120-125.
5. Väisänen OM, Mentu J, Salkinoja-Salonen MS. 1991. Bacteria in food packaging paper and board. *J Appl Microbiol* 71: 130-133.

Devenir et caractérisation de *Campylobacter spp* au cours de la méthanisation mésophile d'effluents d'élevage

Elisabeth Repérant¹ (elisabeth.reperant@anses.fr), Bérengère Nagard¹, Laure Martin¹, Flora Carnet¹, Margaux Berrest¹, Céline Druilhe², Anne-Marie Pourcher², Martine Denis¹

¹Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Anses, Ploufragan, France

²UR OPAALE, Irstea, Rennes, France

En France, la plupart des installations de production de biogaz (méthaniseur) alimentées avec du lisier ou fumier fonctionnent dans des conditions mésophiles en convertissant les matières organiques en biogaz et en digestats. Ce dernier, qu'il soit post-traité ou non, est destiné à l'épandage. Parce que les animaux de rente sont reconnus pour être des réservoirs à *Campylobacter* et que ce pathogène peut survivre dans les lisiers, son devenir au cours du processus de méthanisation est un sujet de préoccupation pour la santé publique. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est d'estimer la prévalence de *Campylobacter* dans les lisiers et digestats bruts de méthaniseurs mésophiles agricoles et de caractériser d'un point de vue génétique les souches issues de ces matrices.

Trois méthaniseurs alimentés en lisier de porc (M1 et M3) ou de bovin (M2) ont été suivis sur un an à raison de 8 visites par site. A chaque visite, trois réplicats de lisier et de digestats bruts ont été collectés pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter spp*. Au total 419 isolats de *Campylobacter spp* ont été isolés. L'identification de l'espèce a été réalisée par PCR temps réel, 178 isolats de cette collection ont été génotypés par RFLP-PFGE avec l'enzyme *KpnI* et les profils comparés sous BioNumerics par la méthode UPGMA.

Campylobacter spp a été détecté dans 91,7% des lisiers et dans 37,5% des digestats. Aucun *Campylobacter* n'a été retrouvé dans les digestats du site M2. *Campylobacter coli* a été détecté sur les sites M1 et M3 pour les deux matrices, tandis que *C. jejuni* a été détecté uniquement dans le lisier du site M2. Le niveau de contamination décroît en moyenne de 2,1 Log10 entre les lisiers et les digestats. 39 génotypes ont été identifiés ; parmi ceux-ci, 13 ont été retrouvés dans les lisiers et dans les digestats, et 18 n'ont été retrouvés que dans les intrants.

Cette étude met en évidence que la méthanisation mésophile réduit la teneur en *Campylobacter* et suggère que *C. jejuni* et certains génotypes de *C. coli* seraient sensibles au process.

Mots clés : méthanisation - porc - bovin - *Campylobacter* - RFLP-PFGE.

Impact des propriétés de surfaces des bactéries sur la distribution spatiale de *Staphylococcus aureus* dans des matrices complexes émulsionnées

Samia Almoughrabie^{1,2} (samia.almoughrabie@inra.fr), Chrisse Ngari², Valérie Poulet²,
Florence Dubois-Brissonnet¹

¹UMR Micalis, INRA, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

²Laboratoire Clarins, Pontoise, France

Introduction :

Les matrices alimentaires et cosmétiques sont souvent des produits émulsionnés complexes. L'évaluation et le contrôle de la contamination microbienne dans ces produits demeurent un problème majeur. L'efficacité des systèmes de conservations est généralement évaluée par la méthode de Challenge-test. Cette méthode consiste à inoculer artificiellement un produit et à suivre au cours du temps l'évolution de la contamination microbienne. Le Challenge-test permet notamment de définir la durée de vie d'un produit. La fiabilité des résultats issus des Challenge-tests peut être impactée par différents paramètres tels que l'état physiologique des microorganismes, la composition et la structure de la matrice ainsi que par la distribution spatiale des bactéries.

Objectifs :

Le but de cette étude est de comprendre l'impact des propriétés de surfaces des bactéries sur la distribution spatiale de *Staphylococcus aureus* dans des matrices complexes émulsionnées de différentes viscosités afin d'évaluer l'impact de ces paramètres sur la fiabilité des Challenge-tests.

Méthode :

Dans un premier temps, une suspension calibrée de *S. aureus* marquée au Syto9 est inoculée dans plusieurs matrices cosmétiques industrielles. Puis, trois souches de *S. aureus* avec différents niveaux d'hydrophobicité et marquées au Syto9 sont inoculées dans des matrices modèles émulsionnées contenant différentes concentrations d'épaississant (de 0,4 à 1,6 % de copolymère acrylate). La distribution spatiale des bactéries est ensuite observée par Microscopie Confocale à Balayage Laser (MCBL).

Résultats :

Les résultats ont montré que plus la concentration d'épaississant est importante plus la distribution spatiale des bactéries est hétérogène. Egalement, plus les bactéries sont hydrophobes plus la distribution spatiale des bactéries est hétérogène. En conclusion, les propriétés d'hydrophobicités des bactéries et la viscosité de la matrice influencent la distribution spatiale des bactéries, ainsi il est nécessaire de prendre en compte ces paramètres lors de la réalisation des Challenge-tests.

Mots clés : Viscosité - Matrices émulsionnées - Propriétés de surface - Distribution spatiale des bactéries - Challenge-tests.

Organisation d'essai inter laboratoire International pour des MOT et Non-MOT : cas des entérotoxines staphylococciques

Yacine Nia (yacine.nia@anses.fr), Jacques-Antoine Hennekinne

Laboratoire de Sécurité des Aliments, Anses, Maisons-Alfort, France

Les entérotoxines staphylococciques (ES) représentent la première cause des toxi-infections alimentaires collectives (TIACs) en France. Aussi, environ 80% des TIACs déclarées chaque année à l'Autorité Européenne de la Sécurité des Aliments (EFSA) sont recensées en France.

Les essais inter laboratoires d'aptitude (EIL) sur la détection des ES sont organisés dans le cadre des activités du Laboratoire National de Référence (LNR) et le Laboratoire de Référence de l'Union Européenne (LRUE) sur prescription de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) du Ministère chargé de l'Agriculture et de la Commission Européenne, respectivement. Cependant, ces exercices ne sont réalisés que sur la détection des 4 ES (SEA, SEC, SED et SEE) sur les 5 détectables selon la méthode officielle (EN ISO 19020). En effet, toxine staphylococcique type B (SEB) est exclue de la gamme étudiée à cause de son application militaire et son appartenance à la liste fixée par l'article L. 5139-1 (MOT). L'utilisation de la toxine SEB dans des EIL est donc soumise au décret d'application de l'article L. 5139-2 du code de la santé publique.

L'organisation d'un EIL de toxines non MOT dans le cadre des mandants LNR et LRUE d'une part, et dans le cadre des projets EQuaTox et EuroBioTox (projet H2020, 2017 – 2022) dédiés aux 5 agents de la menace dont la toxine staphylococcique type B (SEB) d'autre parts, est développée dans ce travail. La mise en place du plan de campagne, l'invitation des participants, la procédure de déclaration et d'obtention des autorisations d'import et d'export de MOT, le transport en France et en Europe sont comparés pour chaque type de contaminant MOT et Non-MOT. En fin, une exposition des défis à relever lors de l'organisation d'un essai inter laboratoire international par un organisateur Français est développée.

Mots clés : MOT - Essais interlaboratoire.

Validation de la RT-qPCR en vue d'évaluer l'effet de stress sur l'expression génique de *Campylobacter jejuni*

Sandrine Rezé (sandrine.reze@oniris-nantes.fr), Benjamin Duqué, Albert Rossero, Jeanne-Marie Membré, Sandrine Guillou, Nabila Haddad

UMR Secalim, INRA, Oniris, Université Bretagne Loire, Nantes, France

Introduction et objectifs :

Campylobacter jejuni est un pathogène responsable de la majorité des entérites humaines d'origine alimentaire. Son réservoir principal est la volaille. Sa capacité de survie dépend des souches et des stress rencontrés au cours du procédé d'abattage.

L'analyse transcriptomique par RT-qPCR permet, par la mise en évidence de profils d'expression différentielle de certains gènes, de comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans le comportement des bactéries. Cette méthode quantitative permettrait d'identifier des biomarqueurs reflétant la capacité d'adaptation de ces germes.

Dans ce contexte, nous avons validé la robustesse et la fiabilité de différentes étapes de la méthode de RT-qPCR. Puis cette méthode a été appliquée à l'étude de la réponse de *C. jejuni* soumis à différents stress.

Matériels et méthodes :

L'optimisation de la RT-qPCR a nécessité plusieurs contrôles : linéarité et répétabilité de l'étape d'extraction des ARN totaux, absence d'inhibiteurs lors de la reverse transcription, efficacité des couples d'amorces.

La souche de *C. jejuni* RM1221 a subi consécutivement un stress chaud (46, 51 ou 54°C pendant 4 min) puis froid (-4°C pendant 2h). Les ARN totaux ont été extraits et analysés en RT-qPCR. L'analyse de l'expression différentielle de 40 gènes a été effectuée par rapport à une condition témoin (*C. jejuni* non stressé, maintenu à 42°C). Les gènes de référence ont été sélectionnés par la méthode GeNorm.

Résultats, discussion et conclusion :

La corrélation entre quantité d'ADN génomique et énumération bactérienne a permis de valider la méthode d'extraction. Les couples d'amorces testés avaient une efficacité comprise entre 87 et 110%. Les résultats d'expression génique ont été normalisés en utilisant les 2 gènes (*asd*, *ahpC*) dont l'expression était la plus stable ($M < 0.5$) dans les conditions testées.

Parmi les 40 gènes testés, *clpB*, *grpE*, *dnaK* codant pour des protéines chaperonnes et *hrcA*, pour un régulateur, sont les plus sur-exprimés après des stress combinés chauds (46 ou 51°C) puis froid (fold>5), tandis que *cosR*, *atpA*, *csrA*, *YciA* et *CJE1361* sont les gènes les plus sous-exprimés (stress à 54°C puis froid).

Ces gènes pourront être considérés comme des biomarqueurs, si leur expression s'avère corrélée aux comportements de survie de différentes souches de *C. jejuni*.

Mots clés : pathogène - transcriptomique - stress - biomarqueurs.

***Vibrio parahaemolyticus* : caractérisation de la virulence, inhibition de la croissance et atténuation de la virulence par des bactéries lactiques**

Marion Soree¹ (Marion.Soree@ifremer.fr), Solen Lozach¹, Fabien Anjoulat², Laetitia Kolypczuk³, Véronique Verrez-Bagnis³, Emilie Hadjiev¹, Estelle Jumas-Bilak², Christine Delbarre-Ladrat³, Delphine Passerini³, Dominique Hervio-Heath¹

¹ LSEM/SGMM/RBE, IFREMER, Plouzané, France

² UMR5569/Equipe Physe, Faculté de Médecine, Montpellier, France

³ EM3B/BRM/RBE, IFREMER, Nantes, France

Introduction et objectifs :

Les *Vibrio* spp. présents naturellement dans l'environnement marin et estuarien constituent un risque émergent en santé publique comme en santé animale. Parmi les vibrions potentiellement entéropathogènes pour l'homme, *Vibrio parahaemolyticus* (*Vp*) est la principale cause d'infections bactériennes associées à la consommation de fruits de mer crus ou insuffisamment cuits. La virulence de *Vp* est liée à la présence de deux hémolysines (TDH et TRH) mais des études récentes suggèrent l'implication d'autres facteurs dans la virulence de *Vp*.

L'objectif de ce projet est de caractériser plus précisément les facteurs impliqués dans la virulence de *Vp* par l'étude de génomes complets et, ultérieurement, de proposer de nouvelles stratégies de lutte contre *Vp* colonisant des produits à destination de l'alimentation comme les coquillages. Pour cela, des bactéries lactiques (LAB) d'origine marine ont été évaluées pour leur capacité à inhiber la croissance de souches de *Vp* et/ou à atténuer leur virulence.

Matériels, méthodes et résultats :

Dix souches de *V. parahaemolyticus* présentant des profils géniques variables de virulence ont été séquencées puis annotées sur la plateforme MaGe (Genoscope, Evry). Des analyses de caractérisation des facteurs de virulence ainsi que de la génomique comparative ont été réalisées et ont permis d'identifier des régions hypervariables contenant potentiellement des gènes de virulence.

L'utilisation d'une méthode miniaturisée a permis de mettre en évidence une inhibition de la plus ou moins contrastée croissance des 11 *Vp* par les 10 LAB testées. Des tests supplémentaires suggèrent que cette inhibition est due principalement à de l'acidification. Il semblerait cependant, que la croissance d'une des souches environnementales *Vp* soit inhibée par une souche de *Weissella* sp. via la production d'une molécule de type bactériocine.

Des pré-tests *in vivo* ont montré que les souches *Vp* sélectionnées sont virulentes chez *Caenorhabditis elegans*. L'évaluation de l'impact des LAB sur la virulence de *Vp* est actuellement réalisée par co-infection chez *C. elegans*. Selon les résultats, l'analyse des génomes de LAB et de *Vp* sera réalisée afin d'identifier les facteurs impliqués dans l'atténuation de la virulence. Si ces tests se montrent prometteurs, les LAB pourraient être utilisées en traitement des coquillages avant mise sur le marché.

Mots clés : *Vibrio parahaemolyticus* - Virulence - Génomique comparative - Bactéries lactiques - Inhibition.

Impact de la flore vaginale sur la production de la toxine TSST-1 par *Staphylococcus aureus*

Cédric Badiou¹ (cedric.badiou@univ-lyon1.fr), Tiffany Deborde¹, Anaëlle Muggeo¹, Claire Prigent-Combaret², Daniel Muller², Jean Thioulouse³, Gérard Lina¹

¹U1111, CIRI, Lyon, France

²UMR Ecologie Microbienne, Lyon, France

³Laboratoire de Biométrie et Biologie Evo, Lyon, France

Introduction et objectifs :

Le choc toxique staphylococcique d'origine menstruelle (CTSm) est une maladie systémique grave qui survient pendant les règles chez les femmes dont le microbiote vaginal comporte *Staphylococcus aureus* producteur de la toxine TSST- 1 et qui utilisent une protection périodique interne.

Cette maladie est rare malgré la fréquence du portage vaginal à *S. aureus* producteur de TSST- 1 et d'utilisation de protection interne.

L'objectif de notre étude a été d'explorer l'impact de ces bactéries composant le microbiote vaginal sur la production de TSST-1.

Matériel et méthodes :

Pour cela, nous avons déterminé le microbiote vaginal à partir de liquides menstruels extraits de 213 tampons périodiques de femmes en bonne santé par approche culturomique et l'identification par MALDI-TOF ou séquençage des gènes ARNr 16S. Parmi les 103 espèces différentes identifiées, nous avons sélectionné 18 souches aérobies, 8 souches anaérobies et 1 levure provenant du microbiote analysé. Après culture de ces souches, leurs surnageants ont été récupérés. Nous avons ensuite étudié l'impact de ces surnageants de culture sur la croissance (DO600nm), le pH de la culture et la production de TSST-1 (quantification par ELISA) de 6 souches de *S. aureus* de 4 complexes clonaux différents.

Résultats et conclusions :

Les résultats observés sont identiques quelque soit les complexes clonaux. Quinze des 26 bactéries du microbiote vaginal diminuent la production de TSST-1 en agissant directement sur l'acidification du milieu de culture et sur la croissance bactérienne. Les bactéries comme ceux des familles de *Bacteroides*, *Peptoniphilus* et *Propionibacterium* inhibent la production de TSST-1 de façon indépendante du pH et de la croissance bactérienne. Cette inhibition est observée spécifiquement dans les filtrats < 3KDa. Ces résultats suggèrent que ces espèces produisent de petites molécules capables d'interférer avec le système de régulation de la production de TSST-1. Contrairement aux bactéries, *Candida albicans* augmente la production de TSST-1 par *S. aureus*.

Mots clés : TSST-1 - Microbiote - *Staphylococcus aureus*.

Caractérisation du microbiote 16S de la flore digestive chez *Gorilla gorilla*

Pierre-Yves Moalic¹ (biologiste@labofarm.com), David Schikorski¹, Marion Courseaux¹, Milan Thorel^{2,3}, Nicolas Goddard^{2,3}, Océane Graillot^{2,3}, Cindy Braud^{2,3}, Antoine Leclerc^{2,3}, Baptiste Mulot^{2,3}

¹Labofarm-Finalab, Loudéac, France

²ZooParc de Beauval, Saint-Aignan, France

³Beauval Nature, Saint-Aignan, France

Introduction et objectifs :

La plasticité du microbiote intestinal, son aptitude à moduler le système immunitaire ou le métabolisme de l'hôte, ainsi qu'à contrôler la prolifération des agents pathogènes sont des facteurs essentiels à l'adaptation de l'hôte à son environnement et pourraient être des indicateurs du bien-être des animaux en captivité. Des facteurs de stress (modification du régime alimentaire, des enclos, météo...) peuvent être à l'origine de dysbioses chroniques sans étiologie infectieuse. Dans un contexte d'épisodes récurrents de diarrhées, les selles de 12 gorilles du ZooParc de Beauval ont été collectées et le microbiote 16S a été caractérisé.

Matériel et méthodes :

Les selles ont été prélevées moins de 4h après défécation et placées immédiatement à -20°C jusqu'à analyse. L'ADN, extrait à l'aide du kit DNEasy Power Soil (Qiagen) a été utilisé pour la préparation des bibliothèques selon le protocole de Thermo. Le séquençage a été réalisé sur le séquenceur NGS Ion Torrent S5 et les données brutes ont été analysées à l'aide du logiciel Metagenomic 16S disponible sur le site IonReporter et (Thermo).

Résultats et discussion :

Le profil des flores bactériennes de 12 gorilles issus de 2 groupes (un groupe reproducteur (8) et un groupe de mâles adultes(4)) vivant séparément a été déterminé.

Tous les échantillons sauf 1 contiennent plus de 37000 séquences pouvant être alignées avec les bases de données. Un seul individu présente 3 fois moins de séquences : il s'agit d'un individu solitaire, dominé au sein de son groupe, et ne consommant qu'une partie des aliments qui lui sont proposés. La diversité du microbiote semble plus importante au niveau des Familles qu'au niveau des Phyla. L'abondance de certains OTU (Operational Taxonomy Unit) pourrait être liée à l'alimentation ou au stress de certains individus en lien avec leur hiérarchie sociale.

Des études complémentaires, notamment le suivi longitudinal de la composition des flores digestives individuelles, permettraient de mieux caractériser les situations de dysbiose, d'en rechercher les facteurs déclenchant ou aggravant, et de mieux les anticiper par l'adaptation du régime alimentaire par exemple.

Mots clés : Microbiote - Gorille.

Fecal microbiota and antibiotic resistance determinants in calves undergoing amoxicillin treatment

Tony Rochegüe¹ (tony.rochegue@anses.fr), Jessica Nier¹, Véronique Métayer¹, Marisa Haenni¹, Jean-Yves Madec¹, Tristan Ferry², Agnese Lupo¹

¹ANSES Lyon, Lyon, France

²CHU de Lyon, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France

The use of antibiotics is the major driver of selection and dissemination of bacterial antibiotic resistance determinants (ARDs). Furthermore, antimicrobials therapy decreases the abundance of symbiotic species, allowing the development of others, less beneficial and possibly antimicrobial resistant bacteria (1). This project aims at elucidating the role of amoxicillin therapy on the fecal microbiota and ARDs of calves.

Stool samples were collected before (T0), at the end (T1), and one week after the end (T2) of the antibiotic treatment from 10 calves suffering from omphalitis. Serial dilutions from stools were cultivated on MacConkey agar at 37°C, during 24h and aerobic atmosphere. From the plate containing the highest number of distinct colonies, all those displaying a different morphology from each other were identified and analyzed for their antimicrobial susceptibility and their genetic relatedness by PFGE. Total DNA from stools was extracted using QIAamp DNA Stool kit (Qiagen) (2) and selected ARDs, together with 16S encoding gene, were analyzed by qPCR using TaqMan probes (Applied Biosystem) and the 2- $\Delta\Delta C_t$ method.

A preliminary analysis of the resistome kinetic was conducted on samples from one out of ten calves. Colonies with different morphologies were found (n=107) and 94 were *Escherichia coli*. Among these latter, nine, four and six PFGE profiles were highlighted in T0, T1 and T2, respectively. In these PFGE profiles the phylogroup determination and antibiotic susceptibility patterns discriminated unique isolates (n=24, T0; n=4, T1; n=9, T2). At T0, T1 and T2, resistance to amoxicillin was in 77, 100 and 70% of the isolates, respectively, and presented co-resistance to streptomycin, tetracycline and sulfonamides. In total DNA, at T1, ARDs for tetracycline (*tetA*), streptomycin (*strA* and *strB*) and sulfonamides (*sul2*) were more abundant compared to T0. However, only *strB* and *sul2* remained more abundant in T2 compared to T0.

Overall, this analysis suggests that amoxicillin therapy transiently decreases the *E. coli* clones' diversity and favors the selection of amoxicillin resistant clones, while restoration to an initial situation seems to occur one week after the end of therapy. The analysis of the complete set of samples will allow a generalization of these results.

Mots clés : antibiotic resistance - fecal microbiota - qPCR.

Références :

1. Malard F, Gasc C, Plantamura E, Doré J. 2018. Bone Marrow Transplant. 53:1493-1497.
2. Dore J, Ehrlich SD, Levenez F, et al. 2015. International Human Microbiome Standards. <http://www.microbiomestandards.org>. IHMS_SOP06V1

Microbiote : un nouveau paradigme en toxicologie ?

Christophe Rousselle^{1,2} (christophe.rousselle@anses.fr), Irene Amblard¹, Luc Belzunces^{2,3}, Nicolas Cabaton^{2,4}, Marie-Chantal Canivenc^{2,5}

¹DER-UESC, Anses, Maisons-Alfort, France

²ARET, Paris, France

³Laboratoire de Toxicologie Environnement, INRA, Avignon, France

⁴ToxAlim, INRA, Toulouse, France

⁵Centre des Sciences du Goût, INRA, Dijon, France

Les connaissances sur le microbiote et son rôle dans le développement de certaines pathologies ont largement évolué au cours des dernières années. Pour autant de nombreuses incertitudes persistent quant aux relations bénéfiques - risques relevant des interactions possibles entre les xénobiotiques et les différents microbiotes. S'il semble acquis désormais que le microbiote lui-même puisse être modifié par l'exposition à des substances chimiques (antibiotiques, nanoparticules, pesticides, métaux...), l'impact du microbiote sur le devenir des xénobiotiques dans l'organisme et ses conséquences sur la santé restent peu étudiés (NAC report, 2018). Or, les périodes de la vie (périnatale, péri pubertaire, sénescence...), le type d'exposition (exposition orale, cutanée, inhalation..), et des conditions alimentaires ou environnementales influencent le dialogue xénobiotique-microbiote et donc les conséquences métaboliques en termes de bioactivation ou de détoxification d'une substance. Par conséquent, il importe que des travaux de recherches soient menés de manière transversale et intégrative, avec le concours de compétences interdisciplinaires, d'une part pour mieux comprendre ces interactions entre microbiotes et xénobiotiques et, d'autre part, pour que les guides d'évaluation des risques, utilisés dans un contexte réglementaire par les agences sanitaires notamment, évoluent au fur-et-à mesure des nouvelles connaissances. L'objet de cette présentation sera justement d'illustrer, par des exemples concrets, comment une société savante à caractère multidisciplinaire comme l'ARET (Association pour la Recherche en Toxicologie) peut appuyer les différents acteurs de la recherche, de l'industrie et des pouvoirs publics pour œuvrer de manière concertée tant dans l'orientation des travaux que dans l'interprétation et la gestion des données : l'approche de l'évaluation des bénéfices-risques du microbiote ouvre un nouveau concept qui pourrait conduire à un changement de paradigme en matière d'évaluation et de détermination des valeurs toxicologiques de référence.

Mots clés : microbiote, toxicologie, xénobiotiques, métabolisme, interactions.

Références :

1. Jin Y, 2017, Environ Pollut.
2. Roca-Saavedra P, 2017, Front Cell Infect Microbiol.
3. National Academies Press, 2018, 122p

Mise en place d'une approche de qPCR pour l'analyse du microbiote intestinal des patients greffés de cellules souches hématopoïétiques

Emma Verstraete^{1,2} (verstraete.e19@gmail.com), Emanuelle Hologne¹, Lisiane Cunat¹, Alain Lozniewski^{1,3}, Marie-Thérèse Rubio^{2,4}, Corentine Alauzet^{1,3}

¹EA 7300 Stress Immunité Pathogènes, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

²UMR 7395 CNRS/UL, IMoPA – Equipe 6, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

³Laboratoire de Microbiologie, CHRU de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy, France

⁴Service d'Hématologie Clinique, CHRU de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy, France

Introduction et objectifs :

Les modifications du microbiote intestinal observées au cours de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (allo-HSCT) sont en corrélation avec le devenir des patients ^[1]. Les méthodes d'analyse actuelles, basées principalement sur le séquençage haut débit (NGS), ne peuvent pas s'intégrer à la routine clinico-biologique. Dans ce contexte, nous avons mis en place une approche de PCR quantitative en temps réel (qPCR) spécifique des taxons d'intérêt dans l'allo-HSCT.

Matériels et méthodes :

Une revue de la littérature a permis de sélectionner sept taxons d'intérêt de par leurs rôles dans la santé de l'hôte et/ou l'évolution de l'allo-HSCT : *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Blautia*, *Akkermancia muciniphila* et *Parabacteroides distasonis*. Les amorces ciblant les *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* spp., *Blautia* spp. et *A. muciniphila* ont été mises en place et validées au cours de cette étude. Entre mars 2018 et avril 2019, les selles de 13 patients hospitalisés dans un contexte d'allo-HSCT au CHRU de Nancy et de 5 témoins sains ont été recueillies et congelées. L'ADN génomique intestinal a été extrait des échantillons de selles. La charge bactérienne (CB) globale et l'abondance relative (AR) des groupes bactériens d'intérêt ont ensuite été quantifiées par qPCR. Les données ont été analysées selon la période de prélèvement par rapport à la greffe et la présence de maladie du greffon contre l'hôte aigue (GVHa).

Résultats, discussion et conclusion :

En comparaison aux témoins sains, le profil du microbiote des patients avant greffe est assez comparable exception faite de la baisse de l'AR des *Firmicutes* ($p=0,02$). En accord avec des précédents résultats de NGS ^[2], une dysbiose est observée à partir de J5-J15 caractérisée par une baisse de la CB globale ($p=0,02$), de l'AR des *Firmicutes* ($p=0,08$) et des *Blautia* spp. ($p=0,00005$) ainsi qu'une augmentation de l'AR des *Enterococcus* spp. ($p=0,027$). Chez les patients présentant une GVHa, nous observons une accentuation de ces modifications associée à la perte de *P. distasonis*. Cette approche rapide de qPCR ciblant des taxons pouvant être associés à l'évolution de la greffe devra être confirmée sur un panel plus large de patients avant de pouvoir être proposée dans le suivi des patients allogreffés.

Mots clés : microbiote intestinal - allo-HSCT - qPCR.

Références :

1. Taur Y, Jenq RR, Perales M-A, Littmann ER, Morjaria S, Ling L, et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 14 août 2014;124(7):1174-82.
2. Holler E, Butzhammer P, Schmid K, Hundsrucker C, Koestler J, Peter K, et al. Metagenomic analysis of the stool microbiome in patients receiving allogeneic stem cell transplantation: loss of diversity is associated with use of systemic antibiotics and more pronounced in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. mai 20

Improvement of metabolic phenotypes by drug combined action on inflammation and gut microbiota

Lise Volland¹ (lise.volland@gmail.com), Jean Debédât¹, Eugeni Belda², Florian Marquet¹, Véronique Pelloux¹, Camille Gamblin¹, Chloé Amouyal¹, Karine Clément^{1,3}

¹UMRS 1269 NutriOmique, Sorbonne Université/Inserm, Paris, France

²Integromics, ICAN, Paris, France

³Nutrition Department, Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris, France

Introduction:

Obesity is characterized by a systemic and tissue chronic low-grade inflammation, associated with a decrease in bacterial richness of the gut microbiota. Tissue inflammation is a key factor linking obesity to the development or at least the maintenance of insulin resistance. The decrease in bacterial richness was associated with alteration of glucose metabolism and type 2 diabetes in humans. The aim of this study is to examine whether a combined therapeutic action on the composition of the microbiota and on tissue inflammation would improve metabolic phenotypes in mice via a gut microbiota effect.

Materials and methods:

An anti-inflammatory drug and a prebiotic have been administered alone or combined to conventional mice fed with a high-fat diet (HFD). The weight, body composition and food intake were recorded and the feces collected each week. Glucose/Insulin tolerance tests were performed. Intestinal immune cell populations and gene expression in different tissues was assessed. Shot-gun sequencing of fecal material was performed.

Results, discussion and conclusion:

Each treatment administered separately limited the fat mass gain in comparison to placebo-treated animals. However, the effect was significantly stronger with the combined drugs. We observed no difference in food intake in all groups. In the combined treatment arm, fasting glycaemia reached that of control animals under chow diet (168 vs 162 mg/dl), and we also noticed an improvement in glucose tolerance in this co-treated group. The prebiotic administration had a major impact on the microbiota composition and drives the increase of Actinobacteria while limiting the burst of Firmicutes induced by HFD. Fecal transfer experiments are currently performed to examine the gut microbiota contribution in the improved metabolic phenotype. Moreover, we now explore in depth the changes in the gut microbiota composition in the animal groups, as well as in gene expression profiles in different tissues in order to understand the mechanisms involved.

Mots clés : Obesity - microbiome - inflammation.

ATCC® Site-Specific Mock Community Standards for Human Microbiome Applications

Romuald Menth¹ (romuald.menth@lgcgroup.com), Monique Hunter², Stephen King², Anna McCluskey², Briana Benton², Juan Lopera², Dev Mittar²

¹LGC-ATCC, Molsheim, France

²ATCC, Manassas, VA, États-Unis

A predominant limitation in microbiome studies is the lack of appropriate and relevant standards to control the technical biases introduced throughout the metagenomics workflow. To address this, we've developed a set of genomic and whole cell mock microbial communities from fully sequenced and characterized ATCC® strains that represent species found in the oral, skin, gut, or vaginal microbiome. Here, we demonstrate the utility of these standards as reference materials for analyses performed on long-read sequencing platforms. For this study, the microbiome standards were analyzed using full-length 16S rRNA sequencing kits and long-read shotgun metagenomic sequencing protocols (Oxford Nanopore Technologies®). The sequencing data were collected and examined at 60-minute intervals. For both the 16S rRNA and shotgun metagenomic sequencing assays, the time-course analysis of the data obtained during the first 60 minutes of sequencing was enough to detect all of the organisms in the mock communities at the species level. All runs were further progressed for 24 hours in order to increase the sequencing depth and call confidence. For example, an average sequencing depth of 7.8x (SD = 5.8) at 60 minutes and 142.7x (SD = 103.3) at 12 hours was obtained for all organisms in the gut microbiome standard. We also compared the long-read data with an amplicon-based 16S rRNA assay (V1/V2 region) and shotgun analysis on a short-read sequencing platform (Illumina®). Both platforms were in concordance and the percent of reads didn't show any significant differences (p value < 0.05) for the organisms within each mock community. To further enhance the utility of these standards, we developed an analysis module in collaboration with One Codex to deliver simple outputs in the form of true-positive, relative abundance, and false-positive scores. Further comparison of the One Codex data analysis module with other analysis platforms revealed significant variations, particularly in the relative abundance scores. The One Codex analysis tool generated relative abundance scores close to the expected values and exhibited minimal false-negative data. Overall, these results demonstrate that ATCC® Microbiome Standards are platform agnostic and can be used for development and optimization of assays performed on both short-read and long-read sequencing platforms.

Mots clés : Microbiome Standards - Skin microbiome - Gut microbiome - Vaginal microbiome - Oral microbiome.

Healthy carriage of colistin-resistant, ESBL/AmpC- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Lebanese workers

Hiba Al Mir^{1,2} (hiba.al.mir@hotmail.com), Marwan Osman², Jean-Yves Madec¹, Monzer Hamze², Marisa Haenni¹

¹ Université de Lyon - ANSES, Lyon, France

² Université Libanaise, Tripoli, Liban

Introduction:

The excessive and inappropriate use of antibiotics in human and veterinary medicine promoted antimicrobial resistance (AMR) in all sectors. In Lebanon, resistance to Extended-Spectrum Cephalosporins (ESC; ESBLs or AmpCs) and carbapenemase-producing Gram-negative bacilli (GNB) have been reported in humans, mostly in healthcare settings, but not *mcr-1*-mediated colistin-resistance. Data in the community are scarce and this study aimed at determining the prevalence and molecular features of ESC-, carbapenem- and colistin-resistant GNB in Lebanese healthy workers in the food sector.

Materials and methods:

A longitudinal study was performed on 84 healthy adults working in three major pastries in North-Lebanon. All workers were sampled twice at a 6 months' interval. Resistant GNB were isolated on media supplemented with ceftazidime, ertapenem, and colistin, and identified by MALDI-TOF. Antibiotic susceptibility was determined by disc diffusion. Resistance genes were characterized using PCR and sequencing. Characterization of the bacterial clones (PFGE, phylogroups) and plasmids (PBRT, S1-PFGE and Southern hybridization) is ongoing.

Results:

Twenty-six workers (31.0%) were negative for resistant GNB. ESC-R (mainly ESBLs) was detected in 31 workers (36.9%) and 39 (46.4%) from the first and second sampling, respectively. The carbapenemase OXA-48 was identified in 3 workers (3.6%) from the first sampling only. Finally, the *mcr-1* gene was detected in 5 and 1 *E. coli* from workers from the first and second sampling, respectively. Persistent carriage of resistant GNB was observed in 27 workers even though the same resistant GNB was very rarely found over the two samplings, which highlights transient carriage at individual level. Molecular characterization of the collected bacteria is ongoing.

Conclusions:

We report the first longitudinal study on ESBL/AmpC-, carbapenemase- and *mcr-1*-producing Enterobacteriaceae carriage in the community in Lebanon. A persistent and high prevalence of ESC-resistant Enterobacteriaceae (36.9% and 46.4%) was highlighted but the individual carriage was transient. We also showed incidental carbapenemase producers and the emergence of *mcr-1*-positive colistin. Cross-transfers of resistant GNB within pastries, including to foodstuff, is plausible. This highlights the peremptory necessity to reevaluate effective antimicrobial stewardship, enhance national surveillance systems and promote public awareness programs in order to limit the spread of AMR in Lebanon in a One Health perspective.

Mots clés : Antimicrobial resistance - molecular epidemiology - risk factors - ESBL - *mcr-1*.

Trois ans d'utilisation du système Panther Fusion® (Hologic, Tucson) pour la détection des IST bactériennes au CHRU de Nancy

Elodie Laugel¹ (e.laugel@chru-nancy.fr), Sibel Berger¹, Catherine Laurain¹, Sabine Pereyre², Bertille de Barbeyrac², Cécile Bébéar², Alain Lozniewski^{1,3}, Corentine Alauzet^{1,3}

¹Laboratoire de Microbiologie, CHRU de Nancy, Vandoeuvre-les-Nancy, France

²Laboratoire de Bactériologie, CHU de Bordeaux, CNR IST bactériennes, Bordeaux, France

³EA 7300 Stress Immunité Pathogènes, Université de Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy, France

Introduction et objectifs :

En raison de leur fréquence en nette augmentation, de leur risque de transmission, ainsi que des complications qu'elles peuvent engendrer, les infections sexuellement transmissibles (IST) constituent un problème de santé publique. Notre objectif est de dresser un bilan au CHRU de Nancy de la détection des IST bactériennes à l'aide du système Panther Fusion® (Hologic, Tucson).

Matériels et méthodes :

Entre le 01/08/2016 et le 31/07/2019, 25844 échantillons ont été testés pour recherche de *Chlamydia trachomatis* (CT) et *Neisseria gonorrhoeae* (NG). Entre le 01/01/2019 et le 31/07/2019, 1584 échantillons ont été testés pour recherche de *Mycoplasma genitalium* (MG). Ces échantillons (urinaires, génitaux, pharyngés ou rectaux) ont été prélevés à l'aide des dispositifs APTIMA dédiés et ont été analysés sur le système Panther Fusion® (Hologic, Tucson) par une approche d'amplification médiée par la transcription.

Résultats, discussion et conclusion :

Malgré une nette augmentation des prescriptions sur les 3 dernières années (65% entre août 2016 et juillet 2019), nous observons une tendance à la diminution du taux de positifs, passant de 5,9% à 4,5% pour les CT, et de 1,5% à 1,1% pour les NG. Le pourcentage de co-infection à CT/NG suit également cette tendance passant de 0,41% à 0,21%. Parmi les 34 prélèvements rectaux positifs à CT envoyés au CNR pour suspicion de LGV, seuls 2 d'entre eux appartenaient au sérotype L. Il est intéressant de souligner qu'en utilisant les écouvillons APTIMA Multitest pour réaliser un grattage oculaire, le système Panther nous a permis de confirmer un diagnostic de trachome chez un enfant de 13 jours probablement infecté lors du passage de la filière génitale, ainsi que chez une jeune femme de 18 ans infectée au cours de baignades en piscine. Mise en place début 2019, la recherche de MG montre un taux de positivité (5,6%) proche de celui de CT. Parmi les échantillons pour lequel une amplification a été obtenue, 30,4% étaient résistants aux macrolides, ce qui est inférieur au taux de résistance décrit dans l'étude MYCOMET 2018 menée par le CNR (43%) [1], cette différence pouvant s'expliquer par la population cible de notre étude.

Mots clés : IST bactériennes - Mycoplasma genitalium - trachome - Panther.

Références :

1. Rapport annuel d'activités 2018. CNR des IST bactériennes. https://www.cnr-ist.fr/ressources/editeur/rapport_CNR_IST_2018.pdf

Leukocyte inflammatory response in patients with severe Legionnaires' Disease: a preliminary study

Camille Allam^{1,2,3} (camille.allam@chu-lyon.fr), Hugo Testaert², Christophe Ginevra^{2,3}, Noémie Fessy², Ghislaine Descours^{1,2,3}, Laetitia Beraud^{1,2}, Johann Guillemot³, Annelise Chapalain³, Laurent Argaud⁴, Anne Conrad⁵, Florence Ader^{3,5}, Gérard Lina^{1,2}, Sophie Jarraud^{1,2,3}

¹Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

²CNR des Légionelles, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

³CIRI -Equipe Pathogénèse des Légionelles, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

⁴Réanimation Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁵Maladies Infectieuses et Transmissibles, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Introduction:

Legionnaires' disease (LD) is a severe pneumonia, fatal in 10 to 30% of cases depending on patient co-morbidities and immune status. LD, as a severe infection, could be comparable to sepsis regarding host immunological response. Septic patient present a first stage of cytokine storm followed by a stage of altered leukocyte functionality with low production of effector cytokines, and low expression of surface class II major histocompatibility complex or monocyte HLA-DR (mHLA-DR) (1). Our study aimed to assess if patients admitted for LD show functional defects in cytokine release and production that could be associated with the disease severity.

Material and methods:

Plasmatic blood samples were collected from 53 LD patients hospitalized in ICU or conventional medical department at D0 (n= 53) and D5 (n=15) after diagnosis and a total of 19 circulating cytokines were simultaneously dosed by Luminex technology. Expression of mHLA-DR was measured by flow cytometry for 18 LD patients at D2 or D4. For 24 age matched healthy donors (HD) and 15 LD patients at D0 (n=15) – D2 (n=15) – D8 (n=7), whole blood was incubated with a *Legionella* antigen (HSP60) and a lymphocyte stimulant (ConA). IFN γ and TNF α were quantified with an ELISA technique in supernatants after a 37°C overnight incubation. Severity was assessed by SOFA score.

Results:

Severe patients having highest SOFA score tend to release more pro-inflammatory cytokines in blood circulation. After ConA and HSP60 stimulation, IFN γ levels were significantly lower for LD patients than HD. TNF α was significantly lower for LD after ConA stimulation but not after HSP60 stimulation. Median mHLA-DR was decreased (7770 site/monocyte) Plasmatic TNF α and IFN γ levels were still low at D8 suggesting a persistent leukocyte dysfunction.

Conclusion:

Our preliminary results suggest that patients' white blood cells are impaired. Most severe patients release high levels of pro-inflammatory cytokines. Furthermore, cell stimulation causes a lower effector cytokine production, indicating a leukocyte anergy during Legionellosis. As described in sepsis induced immunosuppression, LD patients also presented monocyte dysfunctions with a weak expression of mHLA-DR. We then have to assess if those LD induced alterations may be related to pejorative clinical outcomes.

Mots clés : Legionella - sepsis - Immunosuppression - Pneumonia - Biomarkers.

Références :

1. Hotchkiss Richard S., Monneret G., Payen D., 2013 Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. Nature Reviews Immunology 862-874.

Détection rapide et simultanée du génotype et de la résistance aux antibiotiques chez *M. tuberculosis* grâce au Genelead VIII combiné au Deeplex-MycTB

Isabelle Bonnet^{1,2} (isabelle.bonnet2@aphp.fr), Jérémy Jaffré^{1,2}, Gérald Millot¹, Jérôme Robert^{1,2}, Alexandra Aubry^{1,2}, Wladimir Sougakoff^{1,2}

¹CNR des Mycobactéries, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

²INSERM, U1135, CIMI, Sorbonne Universités, Paris, France

Introduction et objectifs :

La technologie Genelead VIII (Diagenode) permet l'extraction de l'ADN de *Mycobacterium tuberculosis* complexe (MTBC) de façon simple, rapide et automatisée à partir de prélèvements cliniques. Deeplex-MycTB (Genoscreen) est une approche basée sur une nouvelle technique de séquençage de génome capable de déterminer simultanément la résistance à 13 antituberculeux et le spoligotype. L'objectif de ce travail était d'évaluer les performances de cette nouvelle stratégie combinant la technologie Genelead VIII et Deeplex-MycTB en condition de « routine ».

Matériels et méthodes :

53 prélèvements cliniques avec un examen direct positif ou négatif et 69 souches de MTBC adressés au CNR-MyRMA de mai 2018 à juin 2019 ont été inclus de manière prospective. Les résultats ont été comparés à ceux obtenus avec les techniques classiques, génotypiques (PCR hybridation, séquençage Sanger, MIRU) et phénotypique (antibiogramme par la méthode des proportions).

Résultats, discussion et conclusion :

La stratégie Genelead VIII/Deeplex-MycTB a permis de détecter et de déterminer le spoligotype et la résistance aux antibiotiques de MTBC pour 89% des prélèvements avec un examen microscopique positif (> 1 BAAR/champ), et pour 96% des cultures solides ou liquides. Le taux de réussite n'était pas influencé par le profil de résistance de la souche (87% pour les souches MDR/XDR contre 78% pour les souches multi-sensibles, $p = 0.3$). Le délai moyen pour obtenir un résultat complet à partir de prélèvements cliniques ou de souches était de 10 jours. La concordance avec l'antibiogramme phénotypique et le MIRU est en cours d'évaluation et sera finalisée lorsque tous les antibiogrammes seront disponibles. En conclusion, l'approche Genelead VIII/Deeplex-MycTB apparaît comme un outil prometteur pour la détermination rapide et combinée du génotype et du profil de résistance aux antibiotiques chez MTBC.

Mots clés : Genelead VIII - Deeplex-MycTB - résistance - tuberculose - spoligotype.

Molecular identification of clinical species *Candida* through the application of PCR RFLP

Zahia Boucherit-Otmani¹ (z_boucherit@yahoo.fr), Ouassila Benhabib-Bekkal Brikci², Kebir Boucherit³

¹Antibiotiques Antifongiques, University of Tlemcen, Tlemecen, Algérie

²Centre University Belhadj Bouchaib, Ain Témouchent, Algérie

³University of Tlemcen, Tlemecen, Algérie

Introduction and objectives:

The majority of clinically isolated fungal infections are attributed to *Candida species*. It has been observed that the rapid identification of *Candida yeasts* responsible for these infections is necessary for the proper management of the patient, as well as the administration of appropriate antifungal treatment to reduce complications in patients.

Material and methods:

In this study, the PCR/RFLP method was used in transcribed space polymorphisms (ITS1/ITS4) of ribosomal genes to identify and differentiate *Candida sp.* clinically isolated. PCR analysis was performed from genomic DNA with specific oligonucleotides to amplify the ITS1/ ITS4 region of the ribosomal RNA.

Results, discussion and conclusion:

The PCR amplifications were characterized by the analysis of the fragments with restriction enzymes. Therefore, it has been determined a physical map of the *Candida sp* rDNA region showed the positions of the rRNA genes, the NTS region, and the direction of rRNA transcription. This Map of the region showing the Alul restriction enzyme sites, the positions of the primers used in the PCR and the predicted sizes of the amplified products.

Mots clés : *Candida sp.* - Molecular identification - PCR/RFLP.

Impact de l'ensemencement systématique de géloses sélectives sur l'étude microbiologique des liquides péritonéaux

Simon Gravier¹ (simon.gravier@ch-colmar.fr), Pierre Boyer², Antoine Grillon², Emilie Talagrand-Reboul², Christelle Koebel², Benoît Jaulhac², Philippe Riegel²

¹MIT, Hôpitaux Civils de Colmar, Colmar, France

²Lab Bactério, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Introduction :

Les liquides péritonéaux sont souvent polymicrobiens, il est recommandé (REMIC V6) de discuter avec le clinicien de la pertinence de la réalisation des antibiogrammes. De plus, l'incidence des bactéries multirésistantes [BMR] est en constante augmentation.

L'objectif est d'évaluer l'apport de l'ensemencement systématique de deux géloses sélectives (géloses BLSE et CNA) pour la documentation microbiologique des liquides péritonéaux.

Matériel et méthodes :

Une étude monocentrique prospective de 2 mois a été réalisée. Pour chaque liquide péritonéal adressé au laboratoire de bactériologie du CHU de Strasbourg, une gélose BLSE et une gélose CNA ont été ensemencées en plus des milieux standards. Les cultures ont été interprétées de manière indépendante en parallèle : un bras culture conventionnelle [CC] et un bras culture sélective [CS].

La détection des BMR et des bactéries à Gram positif de la CS par rapport à la CC a été évaluée, ainsi que le gain de temps dans le délai de rendu du résultat (DRR) de la CS par rapport à la CC.

Résultats, discussion et conclusion :

Au total 106 liquides péritonéaux ont été analysés (40,5 % positifs). En moyenne, 1,6 bactéries [min=1-max=4] ont été identifiées par échantillon, 35 % de ces échantillons étaient polymicrobiens (≥ 2 bactéries en culture).

La gélose BLSE a permis l'isolement de BMR non détectées en CC pour 7 % (3/43) des prélèvements positifs, soit 20 % des prélèvements polymicrobiens dont l'examen direct montrait au moins 2 morphologies bactériennes différentes.

La gélose CNA a permis la détection d'espèces à Gram positif, non détectées en CC, pour 9,3 % (4/43) des prélèvements. De plus elle a permis pour 18,6 % (8/43) des prélèvements de réduire de 24 heures le DRR des espèces à Gram positif.

La gélose BMR présente un intérêt pour les prélèvements polymicrobiens et pourrait être ensemencée systématiquement en cas d'examen direct montrant au moins 2 morphologies bactériennes différentes. La gélose CNA peut être utilisée en systématique pour faciliter l'isolement des bactéries à Gram positif et ainsi réduire le DRR.

L'emploi de ces géloses permet de fournir une réponse pertinente au clinicien en un temps réduit, lui permettant d'adapter l'antibiothérapie de manière plus précoce.

Mots clés : Milieux sélectifs - Résistance aux Antibiotiques.

Caractérisation d'agents infectieux par spectrométrie de masse MALDI-TOF : application à l'espèce pathogène des poissons marins *Tenacibaculum maritimum*

Sébastien Bridel¹ (sebastien.bridel@inra.fr), Frédéric Bourgeon², Arnaud Marie³, Denis Saulnier⁴, Sophie Pasek⁵, Pierre Nicolas⁶, Jean-François Bernardet⁶, Eric Duchaud⁶

¹INRA/Labofarm, Jouy-en-Josas, France

²BioChêneVert, Châteaubourg, France

³Labofarm, Loudéac, France

⁴Ifremer, Taravao, Tahiti

⁵MNHN, Paris, France

⁶INRA, Jouy-en-Josas, France

Introduction et objectifs :

Parmi les pathologies retrouvées en pisciculture marine, celles regroupées sous le terme générique de ténacibaculoses (ou flexibactérioses marines) frappent régulièrement de nombreux élevages dans le monde entier. Les espèces bactériennes responsables, appartenant au genre *Tenacibaculum*, sont aujourd'hui mal décrites et leur identification est encore difficile. Notre étude avait pour objectif de proposer un outil de diagnostic fiable, rapide et bon marché permettant d'une part d'identifier l'espèce responsable d'un épisode infectieux et d'autre part de caractériser plus finement les isolats au sein de l'espèce la plus prévalente, *T. maritimum*.

Matériels et méthodes :

Nous avons mis au point un outil d'identification des espèces appartenant au genre *Tenacibaculum* reposant sur la spectrométrie de masse MALDI-TOF. Un schéma de typage des souches de l'espèce, *T. maritimum*, a été développé sur la base des génomes complets de 24 souches de collections. Cette stratégie a permis d'établir des liens forts entre certaines protéines ribosomiques et la présence de certains pics dans les spectres MALDI-TOF. Les protéines ne présentant pas de polymorphisme au niveau de la séquence d'acides aminés ont été sélectionnées comme biomarqueurs propres à l'espèce (correspondant à 18 pics dans les spectres) alors que celles qui présentaient un polymorphisme ont été sélectionnées comme biomarqueurs de typage (correspondant à 9 pics dans les spectres).

Résultats, discussion et conclusion :

Sur cent cinquante d'isolats de terrain provenant d'épisodes infectieux, notre méthode a permis de caractériser l'espèce bactérienne responsable (validé par le séquençage du rDNA 16S et/ou par MLSA). Pour ceux appartenant à l'espèce *T. maritimum*, notre méthode a permis d'identifier formellement 20 MALDI-Types, ainsi que 4 complexes clonaux. Nos données suggèrent une association entre le génotype et l'origine géographique des isolats. La méthode développée devrait permettre de faciliter la gestion des agents pathogènes dans les élevages et de proposer des outils pour de futures études épidémiologiques. La stratégie développée pourrait également être transposée à d'autres espèces bactériennes.

Mots clés : tenacibaculose - pisciculture - *Tenacibaculum* - génomique - protéomique.

Caractérisation moléculaire de deux souches de *Escherichia coli* entérohémorragiques O80 de pathotype hybride produisant une bêta-lactamase à spectre étendu et implication thérapeutique

Aurélie Cointe^{1,2} (aurelie.cointe@aphp.fr), André Birgy^{1,2}, Antoine Bridier-Nahmias², Patricia Mariani-Kurkdjian^{1,2}, Philippe Bidet^{1,2}, Stéphane Bonacorsi^{1,2}

¹Microbiologie, Hôpital Robert Debré, APHP, CNR *Escherichia coli*, Paris, France

²Université de Paris, IAME, Inserm, Paris, France

Introduction et objectifs :

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) producteurs de Shiga-toxine (Stx) sont responsables de diarrhées pouvant se compliquer en syndrome hémolytique et urémique (SHU). L'EHEC de séro-groupe O80, qui a récemment émergé en Europe et plus particulièrement en France, présente un plasmide mosaïque combinant des facteurs de virulence extra-intestinale et de résistance aux antibiotiques [1]. Ce pathotype hybride est associé à des infections invasives nécessitant l'usage d'antibiotiques classiquement contre-indiqués dans les infections à EHEC en raison du risque accru de survenue de SHU. Nous avons récemment identifié deux souches de EHEC O80 avec une résistance atypique en lien avec la production de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE). Ces souches ont été caractérisées sur le plan génétique et le traitement le plus approprié pour la prise en charge d'une éventuelle infection invasive a été déterminé.

Matériels et méthodes :

Le séquençage complet du génome de deux souches isolées d'un porteur asymptomatique d'une part et d'un patient présentant un SHU d'autre part a été réalisé en combinant les technologies Illumina et Nanopore. L'antibiothérapie la plus appropriée a été déterminée en comparant la production de Shiga-toxine par la technique CLIA (Diasorin) en présence d'antibiotiques à concentrations subinhibitrices isolement ou en association.

Résultats, discussion et conclusion :

Les 2 souches de EHEC O80 présentent les caractéristiques génétiques du clone émergent, appartenant au séquence-type ST301 et présentant les gènes *stx2d*, *eae-ξ*, *ehxA* ainsi que les gènes caractéristiques du plasmide de virulence extra-intestinale pS88. Le séquençage Nanopore a permis d'identifier, pour chacune des souches, la présence d'un plasmide additionnel différent arborant un gène codant une BLSE, *bla*CTX-M-14 et *bla*CTX-M-1. L'azithromycine décroît de façon significative la production de Shiga-toxine pour les deux souches alors que la ciprofloxacine induit leur production et que l'imipénème ne présente pas d'effet significatif. La combinaison azithromycine-imipénème réduit significativement la production de Shiga-toxine.

L'acquisition d'un plasmide supplémentaire codant une BLSE au sein du clone émergent EHEC O80 représente un risque surajouté de diffusion de ce clone et peut devenir un problème majeur de santé publique. L'association azithromycine-imipénème est une option possible pour le traitement d'une infection invasive à EHEC O80 producteur de BLSE.

Mots clés : *Escherichia coli* - Shiga-toxine - BLSE - antibiothérapie - plasmide.

Références :

1. Cointe A, Birgy A, Mariani-Kurkdjian P, Liguori S, Courroux C, Blanco J, et al. Emerging Multidrug-Resistant Hybrid Pathotype Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O80 and Related Strains of Clonal Complex 165, Europe. *Emerging Infect Dis.* déc 2018;24(12):22629.

Epidémiologie génétique de l'infection à *Helicobacter pylori* dans une population Algérienne

Majda Dali-Sahi (majda.sahi@mail.univ-tlemcen.dz), Medjati-Dennouni Nouria

Université de Tlemcen, Tlemcen, Algérie

La recherche d'*Helicobacter pylori* dans les biopsies antrales de patients présentant des pathologies gastroduodénales connues ou des patients présentant une symptomatologie similaire a permis l'isolement et l'identification de souches de 177 *H. pylori*. Ces souches présentaient des particularités régionales, grâce à leurs caractéristiques biochimiques et à la présence d'une activité nitrate réductase dans 20 % des souches isolées. Une telle activité se retrouve dans des souches isolées de patients présentant principalement des ulcères gastriques (90%) ou dans de rares cas d'association antrale-gastrique et ulcère bulbaire.

Dans notre cas, la culture a été réalisée avec une sensibilité et une spécificité de 100% sans faux positif en raison de la morphologie particulière du germe. D'autre part, la détection de *H. pylori* a été réalisée directement par PCR sur des biopsies antrales, ciblant les gènes *UreB* et *HtrA*. La dernière méthode produit une spécificité et une sensibilité identiques à celles de la culture directe. La méthode PCR reste avantageuse pour être plus rapide et ne nécessite pas de bactéries vivantes. La comparaison moléculaire des isolats a été réalisée à l'aide de deux méthodes : (a) étude du polymorphisme des gènes *UreB* et *HtrA* et (b) étude du polymorphisme de longueur de fragment de restriction PCR (RFLP) du chromosome total. En ce qui concerne la première méthode, un fragment d'environ 0,4 ko est constamment présent dans tous les isolats, qui se trouve dans le gène *HtrA* de diverses souches de *H. pylori*. De plus, un autre fragment d'environ 0,150 kb a été isolé et s'est révélé présent uniquement dans les souches nord-africaines de *H. pylori*. En ce qui concerne la deuxième méthode cependant, dix profils différents ont été générés, dont six ont été trouvés deux fois.

Mots clés : *Helicobacter pylori* - gastroduodénales - PCR (RFLP) - *UreB* et *HtrA* - population Algérienne.

Première description de gastroentérite à rotavirus génotype G12 au CHU de Dakar (Sénégal)

Mouhamadou Lamine Dia¹ (lamedia2004@yahoo.fr), Amadou Diop¹, Roughyatou Kâ²,
Mouhamadou Abdoulaye Sonko³, Mamadou Bâ⁴, Ahmad Iyane Sow¹, Moussa Fafa Cissé³

¹Bactériologie-Virologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal

²Bactériologie-Virologie, Université de Thiès, Thiès, Sénégal

³Bactériologie-Virologie, Hôpital d'enfants Albert Royer, Dakar, Sénégal

⁴Pédiatrie, Hôpital d'enfants Albert Royer, Dakar, Sénégal

Introduction :

Les rotavirus constituent le principal agent étiologique des gastroentérites infantiles. Ce travail est le premier qui rapporte l'isolement dans les selles de rotavirus appartenant au génotype G12 au CHU de Dakar.

Matériel et méthodes :

L'étude a été menée entre février 2011 et février 2012 soit 13 mois consécutifs.

Nous avons exploré les selles de tout enfant âgé de zéro à cinq ans, souffrant d'une gastroentérite aiguë (GEA) ayant motivé une hospitalisation dans l'une des trois structures retenues pour l'étude: l'hôpital d'enfants Albert-Royer (HEAR), l'Institut pédiatrique de Pikine et l'hôpital Abass Ndao. Les échantillons positifs étaient détectés par ELISA, suivi d'une analyse par PAGE et d'un génotypage au Noguchi Memorial Institute For Medical Research (NMIMR) au Ghana.

Résultats :

Cent trois (103) échantillons positifs ont été détectés par ELISA parmi lesquels soixante-cinq (63,10%) positifs en PAGE constitués de 50 électrophorétypes courts et 15 électrophorétypes longs.

Le génotype G12 était largement majoritaire (58,25%) avec un nombre important de souches non typables (GNT) (40,77%). Le génotypage VP4 a montré deux génotypes différents: P[8] (84,8%) et P[6] (15,2%) ainsi que des génotypes mixtes [P8P6] (2,17%). L'association G12P[8] était prédominante (54,34%) suivie des associations G12P[6] (9,78%) et G1P[8] (2,17%).

Conclusion :

Les rotavirus de génotype G12 circulent au Sénégal à côté des génotypes mixtes qui pourraient favoriser l'émergence de nouvelles souches, motivant ainsi une surveillance régulière des génotypes circulant dans le pays.

Mots clés : Rotavirus - Diarrhée - Génotypes G12 - Sénégal.

Mécanismes de la résistance aux β -lactamines de souches de *Staphylococcus aureus* isolées au CHU de Dakar (Sénégal)

Mouhamadou Lamine Dia¹ (lamedia2004@yahoo.fr), Khadim Diongue², Rokhaya Diagne³, Amadou Diop², Beydi Dieye², Rouhyatou Kâ³, Mouhamadou Abdoulaye Sonko², Moussa Fafa Cissé², Ahmad Iyane Sow¹

¹Bactériologie-Virologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal

²Bactériologie-Virologie, Hôpital d'enfants Albert Royer, Dakar, Sénégal

³Bactériologie-Virologie, Université de Thiès, Dakar, Sénégal

Introduction :

Au Sénégal, peu de données sont disponibles sur la protéine PLP2a ou son gène (gène *mecA*) chez les souches de *Staphylococcus aureus*. Pour pallier cette insuffisance, nous avons entrepris ce travail dont l'objectif principal était la recherche des mécanismes de la résistance de cette bactérie aux β -lactamines dans un hôpital pédiatrique dakarais.

Matériel et méthodes :

Deux cent (200) souches de *S. aureus* ont été collectées entre 2010 à 2012 dans deux Laboratoires de Bactériologie du CHU de Dakar. Leur sensibilité a été déterminée en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé (Mueller Hinton). La recherche de la PLP2a a été réalisée sur toute souche exprimant un bas niveau de sensibilité à l'Oxacilline et/ou à la Céfoxitine. La modification des PLP constitutives a été recherchée grâce à l'Oxacilline, l'Impipénème, le Céfotaxime et la Céfoxitine.

Résultats :

Treize souches étaient phénotypiquement résistantes à la Céfoxitine; parmi elles, seules 6 ont été détectées par l'Oxacilline. Sur ces 13 souches méti-R, 11 produisent la PLP2a. Vingt six souches MODSA ont été retrouvées: 2 ont leur PLP4 modifiée et 24 leur PLP2 modifiée. La production d'une pénicillinase a été retrouvée sur 184 isolats.

Conclusion :

Le mécanisme de la résistance aux β -lactamines des souches de *S. aureus* à Dakar est varié : production de PLP2a (5,5%), modification d'une PLP (13%) et sécrétion de pénicillinase (92%). L'usage du disque de la Céfoxitine permet d'améliorer la détection en routine des souches méti-R lors de l'antibiogramme.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* - Résistance - β -lactamines - Sénégal.

Présence de *Y. enterocolitica* chez les animaux de compagnie en France : étude préliminaire

Emilie Esnault (emilie.esnault@anses.fr), Emmanuelle Houard, Martine Denis

Laboratoire Ploufragan-Plouzané-Niort, ANSES, Ploufragan, France

Introduction et objectifs :

Yersinia enterocolitica est le troisième agent pathogène responsable de zoonoses alimentaires en Europe. Si la contamination se fait généralement par ingestion de viande de porc, la transmission peut également avoir lieu par contact direct avec un animal de compagnie. La prévalence de *Y. enterocolitica* a été estimée chez les animaux de compagnies dans plusieurs pays d'Europe et au Japon mais pas en France. Cette étude est la première ayant pour but de rechercher la présence de *Y. enterocolitica* chez des animaux de compagnie sains, en France.

Matériels et méthodes :

La présence de *Y. enterocolitica* a été recherchée par microbiologie classique sur 27 animaux de compagnies dont 21 chiens, 4 chats et 2 chevaux. Les souches isolées ont été identifiées par galerie Api 20 et seule la souche identifiée comme étant une souche de *Y. entérocolitica* a été séquencée.

Résultats et discussion :

Les précédentes investigations ont montré que pour *Y. enterocolitica*, la prévalence chez les animaux domestiques pouvait atteindre 30%. Notre pré-enquête a permis d'isoler 4 souches dont une seule s'est avérée être une souche de *Y. enterocolitica*. Les souches de *Y. enterocolitica* fréquemment isolées d'animaux sains, d'aliments, des eaux et de l'environnement sont généralement des souches de biotype 1A et sont donc considérées comme non pathogènes. La souche isolée dans notre étude est une souche de biotype pathogène de type 2, biotype principalement rencontré dans les cas cliniques de yersiniose humaine. Le génome de la souche de biotype 2 est en cours d'analyse et sera comparé aux génomes des souches de *Y. enterocolitica* présents dans les bases de données publiques.

Conclusion :

L'isolation d'une souche de *Y. entérocolitica* de biotype pathogène 2 à partir d'un chien porteur sain amène à se demander si le rôle des animaux domestiques dans la transmission de la yersiniose n'est pas sous-estimé. Une étude impliquant un plus grand nombre d'échantillons serait nécessaire afin de déterminer la prévalence des souches de biotypes pathogènes chez les animaux domestiques.

Mots clés : *Y. entérocolitica* - biotype 2 - animaux domestiques.

Tests alternatifs pour le diagnostic de la borréliose de Lyme : revue systématique de la littérature

Alice Raffetin¹ (alice.raffetin@chiv.fr), Aurélie Saunier², Kevin Bouiller³, Pauline Caraux-Paz¹, Carole Eldin⁴, Sébastien Gallien⁵, Romain Jouenne⁶, Anna Belkacem¹, Jérôme Salomon⁷, Olivier Patey¹, Emilie Talagrand-Reboul⁸, Benoit Jaulhac^{8,9}, Antoine Grillon⁸

¹ Maladies infectieuses, CH Lucie et raymond Aubrac, Villeneuve-Saint-Georges, France

² Médecine interne, CH Périgueux, Périgueux, France

³ Maladies infectieuses, CHU Besançon, Besançon, France

⁴ IHU, CHU Aix-Marseille, Marseille, France

⁵ Immunologie clinique, CHU Henri Mondor, Créteil, France

⁶ Médecine interne, CH Lucie et raymond Aubrac, Villeneuve-Saint-Georges, France

⁷ Maladies infectieuses, CHU Raymond Poincaré, Garches, France

⁸ Bactériologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

⁹ CNR *Borrelia*, Strasbourg, France

Introduction et objectifs :

Le diagnostic biologique de la borréliose de Lyme (BL) repose actuellement sur les tests sérologiques et la biologie moléculaire ainsi que dans de très rares cas sur la culture. A côté de ces tests bien évalués et recommandés, d'autres tests non conventionnels à visée diagnostique ont été développés et donnent lieu à une littérature protéiforme.

Nous avons analysé de façon systématique l'ensemble de la littérature disponible dans PubMed publiée entre 1983 et 2018 portant sur ces tests biologiques. La qualité de chaque étude a été évaluée par l'échelle QUADAS-2.

Résultats :

Quarante études ont été incluses : deux méta-analyses; 25 études prospectives contrôlées; cinq études prospectives non contrôlées; six études rétrospectives et contrôlées et deux « case reports ».

Ces tests biologiques non conventionnels ont pu être classés comme suit : (i) Tests reconnus utiles au diagnostic de la BL et disponibles sur le marché mais manquant de standardisation (CXCL-13 dans la neuroborréliose); (ii) Tests non utilisables en diagnostic et nécessitant une évaluation clinique plus poussée (CCL-19, OspA et interféron- α); (iii) Tests possédant une utilité incertaine en raison de résultats controversés et / ou de la mauvaise qualité méthodologique des études les évaluant (test de transformation lymphocytaire, interféron- γ , ELISPOT); (iv) Tests ayant une sensibilité et / ou une spécificité insuffisantes pour être utilisés en diagnostic (cellules CD57+ et tests de diagnostic rapide); et (v) Tests utilisables uniquement à des fins de recherche (microscopie et xénodiagnostic).

Conclusions :

L'évaluation de la qualité par l'échelle QUADAS-2 a montré un risque de biais élevé dans 25/40 études et une incertitude quant à leur applicabilité dans 32/40 études. Ces résultats montrent qu'en dehors de la sérologie, la biologie moléculaire et la culture, les autres tests développés actuellement manquent d'évaluations de bonne qualité, et ne peuvent donc pas être recommandés à ce jour pour le diagnostic de la BL.

Mots clés : Borréliose de Lyme - Tests diagnostic - *Borrelia burgdorferi* - Evaluation clinique.

Dépistage de *Helicobacter pylori* responsable de la maladie ulcéreuse en Algérie

Hassina Guetarni^{1, 1} (kmhg2009@yahoo.fr), Zeyneb Driouche, Sarah Rabahi

Université Djilali Bounaama, Khemis Miliana, Algérie

Introduction et objectifs :

La maladie ulcéreuse est causée par *Helicobacter pylori*. Le présent travail vise à dépister la fréquence de l'ulcère gastrique et de déterminer sa prévalence en Algérie en utilisant une étude rétrospective étalée sur une durée de 3 ans.

Matériel et méthodes :

La présence de *Helicobacter pylori* chez des patients Algériens (n=8) (Ain Defla, Chlef et Kolea) a été déterminée par le test rapide à l'uréase, qui a été entamé dans la salle d'endoscopie après prélèvement des biopsies gastriques et l'examen anatomopathologique et cytologique. Sur huit cas, sept patients ayant *H.pylori* avec une uréase très active. Un examen anatomopathologique et cytologique a été effectué après coloration à l'Hématoxyline Eosine et Giemsa lent des coupes histologique réalisées.

Résultats, discussion et conclusion :

Différentes pathologies ont été trouvées, dont : 77.54% sont des gastrites chroniques à *Hp*, 13.36% gastrites légères et 8.55% ulcères supérieur liées à *H.pylori*.

Mots clés : Algérie - *Helicobacter pylori* - Test rapide à l'uréase - Hématoxyline Eosine - Giemsa lent.

Est-il possible de quantifier les mycoplasmes génitaux à partir d'un eSwab par la technique PCR BioGX sur BD MAX ?

Gwendoline Pot (gwendoline.pot@yahoo.com), Thomas Gueudet, Anne Trens, Jean-Marc Rousse

Microbiologie, Laboratoire Schuh Bio67, Strasbourg, France

Introduction et objectifs :

Les recherches de mycoplasmes génitaux sont fréquentes au laboratoire. Notre étude a un double objectif :

- obtenir une semi-quantification des mycoplasmes génitaux en déterminant les CT cibles pertinents (cycle d'amplification correspondant à la détection) d'une technique de biologie moléculaire qualitative.
- comparer notre milieu de transport usuel (eSwab) avec celui recommandé par le fournisseur.

La mise en place de cette PCR multiplexe nous a permis de regrouper les analyses de *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* et *Mycoplasma hominis* qui sont actuellement réalisées en trois techniques.

Matériels et méthodes :

Les tests ont été réalisés d'avril 2019 à juin 2019 sur deux BD MAX à l'aide des kits BD MAX ExK DNA-1 et BioGX Mycoplasma Ureaplasma. Les contrôles utilisés pour mettre en place la semi quantification sont des souches de mycoplasmes lyophilisées (Mycoplasma Control, Elitech Microbio®). A l'aide de ces contrôles nous avons réalisé des dilutions en cascade afin d'obtenir les titres suivants : $>10^5$ $>10^4$ $>10^3$ $>10^2$ UCC/ml. Les seuils retenus ont été vérifiés sur des échantillons de patients.

La comparaison des milieux s'est faite en partenariat avec des gynécologues qui ont prélevés sur milieux UTM et eSwab. Ces échantillons ont été analysés à J0 et à 72h pour comparer la stabilité des milieux.

Résultats, discussion et conclusion :

- Semi quantification :

Après analyse de 60 patients et de 20 dilutions de souches lyophilisées, nous avons déterminé les CT suivant pour les différentes bactéries aux concentrations décisionnelles :

M. hominis = 10^4 UCC/ml : CT à 27.5

U. urealyticum = 10^3 UCC/ml CT à 33.4

U. urealyticum = 10^4 UCC/ml un CT à 30.1

Avec ces seuils, nous obtenons plus de 92% de concordance avec les deux autres méthodes du laboratoire (gélose A7 et galerie Mycoplasma duo de Biorad).

- Comparaison milieu UTM et eSwab :

100% des résultats sont concordants entre les milieux eSwab et UTM à J0 et à 72h.

Notre étude valide la semi-quantification avec cette technique qui peut remplacer la culture en galerie. L'utilisation des milieux eSwab est également validée et sera ajoutée dans la fiche technique par le fournisseur.

Mots clés : PCR - BD MAX - Mycoplasmes - Semi-quantification - eSwab.

Positionnement du kit Sepsityper en routine dans un laboratoire

Thomas Gueudet (t.gueudet@bio67.fr), Vanessa Cocquerelle, Angéline Chabaud

Microbiologie, Laboratoire Schuh Bio67, Strasbourg, France

Introduction et objectifs :

L'identification bactérienne rapide, directement à partir d'un flacon d'hémoculture est possible par spectrométrie de masse MALDI-TOF avec le kit Sepsityper. L'étude a pour objectif de positionner ce réactif dans le workflow du laboratoire en tenant compte du temps technique, du coût réactif et du contexte clinico-biologique. Le but est également de vérifier les performances du kit, de trouver un *modus operandi*, et de réaliser une phase d'essai pour évaluer la stratégie choisie.

Matériels et méthodes :

De septembre 2018 à février 2019, 100 flacons d'hémocultures ont été analysés selon les recommandations du fabricant. L'analyse des résultats a permis de définir une conduite à tenir qui a été évaluée sur la période de mars à juin 2019. Le nombre de succès d'identifications avec cette technique et le temps gagné pour rendre le résultat au clinicien ont ainsi été évalués.

Résultats, discussion et conclusion :

Lors de la première phase, le délai moyen d'application du protocole Sepsityper était d'environ 30 minutes. 80% des bactéries ont pu être identifiées (entérobactéries, staphylocoques, entérocoques principalement) et 20% n'ont pas donné de résultats fiables (6 streptocoques, 3 non fermentants, 4 anaérobies, 1 *Campylobacter*, 1 *Moraxella* et 2 *Actinobaculum*). Dans plus de 80% des cas, les résultats étaient concordants avec les identifications de la culture standard. La détection d'un seul germe dans les flacons polymicrobiens et la détection à tort de mélanges sont à l'origine des discordances.

Lors de la 2ème phase, nous avons choisi de continuer à réaliser les identifications sur culture précoce (6h), et d'y ajouter le kit Sepsityper pour toutes les hémocultures sans subculture précoce. 26 patients sur 41 testés ont pu avoir une identification précoce en utilisant cette procédure. L'habilitation de l'ensemble des techniciens a permis une diminution du temps moyen d'exécution à 10 minutes. Ces résultats ont été transmis au médecin avant 18h pour une première adaptation du traitement antibiotique, avec un gain de temps possible de 12h.

Au final, nous avons gardé ce protocole d'identification avec la possibilité d'utiliser en urgence le kit Sepsityper à n'importe quel moment de la journée, y compris en garde.

Mots clés : sepsityper - hémoculture - maldi-tof - identification - rapide.

Etude de la sensibilité et de la spécificité de la détection de *Mycobacterium leprae* par amplification de la séquence RLEP par PCR en temps réel

Stéphanie Henry (stephanie.henry@aphp.fr), Emmanuel Lecorche, Fabienne Meunier, Faiza Mougari, Hervé Jacquier, Emmanuelle Cambau

CNR Mycobactéries, Laboratoire Bactério, Hôpital Lariboisière (APHP), Paris, France

Introduction et objectifs :

La détection de *Mycobacterium leprae*, agent responsable de la lèpre, se fait classiquement par microscopie optique après coloration de Ziehl-Neelsen et par amplification de l'élément répétitif RLEP, dont 37 copies sont observées par génome.

Cette étude évalue les performances analytiques de la qPCR RLEP en mesurant (i) la sensibilité par la réalisation d'une courbe standard à partir de dilutions de plasmides recombinants et sur (ii) la spécificité en analysant l'ADN d'autres espèces de mycobactérie.

L'obtention de plusieurs amorces et de sondes reconnaissant différentes régions de la séquence RLEP et la construction des plasmides respectifs ont introduit un aspect comparatif.

Matériels et méthodes :

18 extraits d'ADN provenant de différentes espèces mycobactériennes ont été utilisés dans l'expérience. Quatre couples d'amorces, et sonde associée, ont été comparés : trois couples dessinés à partir de l'alignement des copies RLEP (MRLEP3701,-3702, MRLEP) et le couple d'amorces déjà publié (MLRLEP¹). Les plasmides recombinants ont été construits en insérant l'amplicon d'intérêt avec le kit TOPO TA Cloning (Invitrogen). Une gamme de dilutions de 3 à 3.10⁵ copies RLEP a été effectuée pour établir une courbe standard.

Les échantillons ont été analysés par le Rotor Gene 3000 (Corbett Research).

Résultats, discussion et conclusion :

La sensibilité mesurée est de 100% avec une robustesse satisfaisante ($R^2 \approx 0,99$).

Tous les couples ont détecté l'ADN de *M. leprae* dans des cycles assez précoces mais certains ont aussi amplifié tardivement l'ADN des autres espèces de mycobactérie. Bien que la qPCR soit une technique sensible, le risque de faux positifs est présent. L'utilisation de ces différentes amorces permettant de partiellement reconstituer la séquence RLEP pourrait la rendre plus spécifique.

Mots clés : détection - *Mycobacterium leprae* - qPCR RLEP - sensibilité - spécificité.

Références :

1. Araujo S, Goulart LR, Truman RW, Goulart IMB, Vissa V, Li W, et al. 2017. qPCR-High resolution melt analysis for drug susceptibility testing of *Mycobacterium leprae* directly from clinical specimens of leprosy patients. PLoS Negl Trop Dis 11(6): e0005506. <https://doi.org/10.1371/>

Stratégie de diagnostic des infections respiratoires à *Streptococcus pneumoniae* chez l'enfant à l'aide d'un test immunochromatographique dans les prélèvements respiratoires

Johan Joly¹ (jolyjohan@icloud.com), Cyrille Haddar^{2,3}, Anne Carricajo^{1,2}, Paul O. Verhoeven^{1,2}, Florence Grattard^{1,2}, Olivier Mory⁴, Evelyne Begaud³, Yves Germani³, Aymeric Cantais⁴, Bruno Pozzetto^{1,2}

¹Laboratoire Agents Infectieux et Hygiène, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

²GIMAP EA 3064, Université de Lyon, Saint-Etienne, France

³BioSpeedia, Paris, France

⁴Urgences pédiatriques, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

Introduction :

Les pneumopathies sont une cause majeure de morbidité et de mortalité au niveau mondial, notamment chez les enfants [1-2]. *Streptococcus pneumoniae* est souvent incriminé dans les pneumopathies acquises communautaires. La confirmation microbiologique peut être difficile et risque de retarder l'antibiothérapie adaptée [3]. L'objectif de ce travail a été d'évaluer l'impact de l'utilisation d'un test de diagnostic rapide (TDR) ciblant des antigènes de *S. pneumoniae* (trousse PneumoResp, BioSpeedia) directement dans les expectorations selon une stratégie de diagnostic originale utilisant une éventuelle dilution de l'échantillon.

Matériels et méthodes :

Entre octobre 2017 et juillet 2018, 202 prélèvements respiratoires d'enfants admis au CHU de Saint-Etienne ont été collectés. Ils ont été testés avec le TDR, une culture bactériologique semi-quantitative et des PCR semi-quantitatives (gènes *lytA* et *ply*) à partir d'échantillons fluidifiés. Lorsque le TDR était positif, l'échantillon dilué au 1/100 a été de nouveau testé avec le même test. L'analyse des données cliniques a été conduite *a posteriori*.

Résultats :

Pour 65 patients avec un TDR négatif sur sécrétions pures, l'analyse clinico-radiologique couplée à une culture négative de *S. pneumoniae* a permis d'exclure d'emblée le diagnostic de pneumopathie à *S. pneumoniae* (définie sur des critères cliniques évocateurs, une image parenchymateuse anormale et une culture $\geq 10^7$ UFC/ml de *S. pneumoniae* [4]) [sensibilité de 100 % (73/73), valeur prédictive négative (VPN) de 100 % (65/65)]. Aucun des 58 enfants avec un TDR positif sur échantillon non dilué puis négatif sur échantillon dilué ne présentait de pneumopathie à pneumocoque, confirmant l'excellente VPN de cette stratégie. Les 29 patients dont le diagnostic retenu est une pneumopathie à pneumocoque ont été trouvés positifs avec le TDR sur échantillon dilué. Les tests PCR ont confirmés ces résultats.

Conclusion :

L'excellente VPN du TDR sur sécrétions non diluées permet d'exclure un portage ou une infection. L'excellente sensibilité du TDR sur sécrétions diluées permet de suspecter dès le premier jour une infection invasive à pneumocoque et de proposer une antibiothérapie adaptée et précoce. En cas de TDR positif sans dilution et négatif après dilution, la culture est nécessaire pour trancher entre portage et infection invasive.

Mots clés : *Streptococcus pneumoniae* - TDR - pneumopathie aiguë communautaire - pédiatrie.

Références :

1. Global Burden of Disease Child and Adolescent Health Collaboration, Kassebaum N, Kyu HH, Zoeckler L, Olsen HE, Thomas K, et al. 2017. Child and Adolescent Health From 1990 to 2015: Findings From the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors 2015 Study. *JAMA Pediatr.* 171(6):57392.
2. Freymuth F, Leven M, Wallet F. 2012. Lower respiratory tract infections. p.153-61. In Cornaglia G, Courcol R, Herrmann JL, Kahlmeter G, Peigue-Lafeuille H, Vila J (ed). EMCM, 1st ed. SFM, ESCMID, Eprenay, France.
3. Bénet T, Sánchez Picot V, Messaoudi M, Chou M, Eap T, Wang J, et al. 2017. Microorganisms Associated With Pneumonia in Children <5 Years of Age in Developing and Emerging Countries: The GABRIEL Pneumonia Multicenter, Prospective, Case-Control Study. *Clin Infect Dis.* 65(4):60412.
4. Botterel F, Cattoen C, Pozzetto B. 2018. Infections broncho-pulmonaires. p199-212. In Bouchara J-P, Bourlet T, Galinier J-L, Herrmann J-L, Lachaud L, Lamy B, Laudat P, Marque juillet S (ed). REMIC, 6th ed, vol1. SFM, Paris, France.

La transmission croisée des agents infectieux et les risques liés aux soins dentaires

Meryem Lachachi (meriemplachachi@yahoo.fr)

Centre universitaire Ain Temouchent, Département des sciences, Ain Temouchent, Algérie

Introduction et objectif :

Les soins dentaire nécessitent une large quantité d'eau pour irriguer et refroidir les instruments, les pièces a main sont branchés aux unités dentaires par un réseau de fines tubulures de petit calibre ce qui augmente la surface de contact avec l'eau conjugué à la stagnation répétée de l'eau (le soir, les vacances), à des températures de 20-25°C, à la taille des tubulures **(1)**, ce phénomène physique crée les conditions propices à la formation d'un biofilm **(2)**. Le biofilm en lui-même ne pose pas de problème de contamination, ce sont les bactéries qui s'en échappent et qui quittent la conduite d'eau peuvent être la source de sérieuses infections nosocomiales**(3)**. L'objectif de ce travail est d'isoler les différentes espèces de staphylocoque à partir des tubulures liés aux pièces a main et de mettre en évidence la capacité de ces souches à former un biofilm par différentes méthode.

Matériel et méthodes :

Les prélèvements ont été effectuées a l'unités dentaire CHU de Tlemcen et se sont fixés sur les tubulures des fauteuils dentaire, 32 souches de staphylocoque ont été isolées à partir de 20 tubulures, la détection de la formation de biofilm a été testé par la méthode de plaque de culture de tissu (TCP), la méthode du rouge congo (RCA) et par la recherche des gènes icaABCD .

Résultats et conclusion :

Sur les 32 staphylocoques isolées,30 sont à coagulase négative avec une prédominance de *Staphylococcus warneri* (71.87%), *Staphylococcus hominis* (15.62%), *Staphylococcus saprophyticus* (6.25%), *Staphylococcus aureus* (6.25%). La methode RCA a montré que 30/32 souches sont productrices de slime bactérien. La technique TCP montre que 16/32 souches sont productrices d'un forte biofilm,10/32 souches sont des productrices modérés et 5/32 souches ne forme pas de biofilm. La capacité génotypique pour former un biofilm a été identifiée chez 14/32 souches. Les instruments rotatifs doivent être stérilisés après chaque utilisation, et la purge de celle-ci entre chaque patient.

Mots clés : Tubulures d'eau dentaire - biofilm - infection associées aux soins dentaires.

Références :

1. Barbeau J. (2000). Les films biologiques d'origine hydrique et la dentisterie : la nature changeant du contrôle des infections. Journal de l'Association dentaire canadienne. 66:10-12.
2. Barbeau J. (2007). Un monde merveilleux. Journal de l'Ordre des dentistes du Québec. 44: 517-524.
3. Richaud-Morel B., Boudot E., Arlin L.R., Perrin C., Faoro B. (2011). Prévention des infections associée aux soins en chirurgie dentaire dans les établissements de santé. CCLIN Sud- Ouest. 1-12.

Arcobacter butzleri et mécanismes de résistance aux antibiotiques

Philippe Lehours (philippe.lehours@u-bordeaux.fr), Quentin Jehanne, Lucie Bruhl, Astrid Ducournau, Alice Buissonnière, Francis Mégraud, Emilie Bessède

CNR Campylobacters, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

Contexte :

Les données du CNR des Campylobacters ont montré que *A. butzleri* était après *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* et *Campylobacter fetus*, la bactérie la plus fréquemment isolée de selles de patients atteints de gastroentérite bactérienne. La catégorisation des souches repose actuellement sur l'utilisation des seuils recommandés pour les Entérobactéries.

But :

Le but de cette étude a été d'analyser les différents mécanismes de résistance retrouvés chez *A. butzleri* et de déterminer des « cut-off » épidémiologiques plus spécifiques à cette bactérie permettant une meilleure catégorisation de sa sensibilité aux antibiotiques.

Matériels et méthodes :

Le génome de 30 souches de *A. butzleri* a donc été séquencé. Les marqueurs de résistance à l'ampicilline, la ciprofloxacine, les tétracyclines et les macrolides ont été étudiés. La présence de ces marqueurs a été vérifiée expérimentalement (antibiogrammes par diffusion, CMI en milieu gélosé, PCR, séquençage) à partir des 72 autres souches de *A. butzleri* des collections du CNR.

Résultats :

L'étude bioinformatique des 30 génomes a permis de mettre en évidence la présence d'une β -lactamase (BLAOXA-464) présente sous deux formes : un gène entier (762 pb) et sa forme tronquée (~50% du gène). Les souches possédant le gène entier ont des CMI plus élevées par comparaison aux souches présentant le gène tronqué. Nous proposons les « cut-offs » épidémiologiques suivants : R si diamètre < 16 mm ou R si CMI > 8 mg/L.

Une mutation dans le gène de la sous unité A de la gyrase a été identifiée en position 256 et est associée *in vitro* à la résistance à la ciprofloxacine. Nous proposons les « cut-offs » suivants : R si diamètre < 19 mm ou R si CMI > 0,25 mg/L.

Aucun gène de résistance aux tétracyclines et au macrolides n'a été déterminé.

Enfin, plusieurs pompes d'efflux ont pu être mise en évidence sans pour autant être reliées à un profil de résistance identifiable *in vitro*.

Conclusion :

De nouveaux seuils pour catégoriser la sensibilité *in vitro* de *A. butzleri* vis-à-vis de l'ampicilline et la ciprofloxacine peuvent être proposés. L'utilisation d'un macrolide ou de la tétracycline pour le traitement d'une infection entérique pourrait être proposée de manière probabiliste.

Mots clés : Arcobacter - antibiogramme - génome - cut-off.

Evaluation de la spécificité du kit Biotoxis pour *Francisella tularensis* sur des échantillons hospitaliers

Cecilia Lorient¹ (cecilia.lorient@bertin.fr), Karine Bizet¹, Max Maurin², Hélène Batina³, Virginie Nouvel³, Fabienne Gas³

¹Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, France

²Institut de Biologie et de Pathologie, Grenoble, France

³SPI Li2D, CEA, Bagnols-sur-Cèze, France

Introduction et objectifs :

La tularémie est une infection causée par *F. tularensis*. Cette bactérie est extrêmement contagieuse et qui est considérée comme un agent potentiel du bio-terrorisme. Une détection rapide et fiable est primordiale pour la mise en place des traitements par antibiothérapies.

En partenariat avec le CEA, Bertin Technologies a développé un kit de détection par qPCR multiplexe, Biotoxis, qui permet de détecter les 3 principaux agents du bio-terrorisme (*Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis* et *Francisella tularensis*). Durant son développement, ce kit a été validé sur quelques souches de référence (vérification de la spécificité et réactions croisées). Une étude est en cours pour valider la spécificité de ce kit pour *F. tularensis* sur un plus grand nombre de souches isolées de cas hospitaliers.

Matériels et méthodes :

Dans un premier temps, le kit Biotoxis a été utilisé pour des tests sur des souches de *Francisella spp.* (*F. tularensis* et *Francisella philomiragia*) pour vérifier sa spécificité. Puis, des échantillons de patients atteints de tularémie ou de bartonellose ont été testés en parallèle avec le kit Biotoxis et la méthode interne utilisée au laboratoire hospitalier de Grenoble.

Résultats, discussion et conclusion :

Les résultats montrent que le kit permet de détecter spécifiquement *F. tularensis*.

Des premiers résultats sur des échantillons provenant de patients avec une suspicion de bartonellose ou de tularémie montrent que le kit Biotoxis permet de différencier les cas de tularémie et de bartonellose de manière similaire à la méthode utilisée en routine au sein du laboratoire hospitalier.

Mots clés : Biotoxis - *Francisella tularensis* - détection - qPCR.

Méningites nosocomiales, service de neurochirurgie du CHU de Batna

Meriem Makhloufi (mary.mak85@gmail.com), Faiza Bouziane, Sonia Benamar, Sarah Kouda, Messaoud Benmehidi

Laboratoire de Microbiologie, CHU Batna, Batna, Algérie

Introduction et objectif :

L'infection du liquide céphalorachidien (LCR) chez les patients du service de neurochirurgie, est l'une des causes des infections nosocomiales. Elle engendre une mortalité et une morbidité importante.

La connaissance des profils de résistance des germes liés aux méningites nosocomiales (MN), au niveau du service de neurochirurgie, est essentielle pour une meilleure prise en charge, d'autant plus qu'il y a une antibiorésistance croissante des bactéries impliquées dans ce genre d'infections.

Objectif du travail : Etude du profil bactériologique et antibiotypique des MN au niveau du service de neurochirurgie.

Matériels et méthodes :

- Etude rétrospective descriptive effectuée au sein du laboratoire de microbiologie du CHU de Batna, portant sur les différents micro-organismes isolés du 1er Mars 2016 au 28 Février 2019, provenant de malades hospitalisés au niveau du service de neurochirurgie.
- Analyse du LCR selon les méthodes consensuelles.
- Identification bactérienne et test de sensibilité par méthode de diffusion d'antibiotiques sur milieu gélosé selon les recommandations et interprétations du CLSI 2018.

Résultats, discussion et conclusion :

Notre étude porte sur 418 souches, isolées à partir du LCR, de patients hospitalisés dans le service de neurochirurgie.

- Le *Pseudomonas aeruginosa* occupe la 1^{ère} place des germes en cause avec un taux de 23%. 33% des souches expriment une résistance à la fosfomycine.

Une résistance à l'imipénème est observée chez 8% de ces souches.

La ciprofloxacine garde une sensibilité satisfaisante de 97,4%.

- Les cocci gram positifs ont une place tout aussi importante, représenté en premier lieu par les Staphylocoques à coagulase négative et le *Staphylococcus aureus*, avec des taux respectivement de 11% et 9%.
- Les entérobactéries: à leur tête la *Klebsiella pneumoniae* (12%) suivie de l'*Enterobacter cloacae* (9%) et l'*Escherichia coli* (7%)

La résistance aux carbapénèmes est de 1,35% représenté exclusivement par les *Klebsiella pneumoniae*. Un état des lieux s'impose pour une meilleure prise en charge des patients du service de neurochirurgie, et ce afin de freiner l'antibiorésistance et de privilégier l'utilisation des molécules dont la sensibilité est conservée avec une bonne diffusion méningée.

Mots clés : méningites nosocomiales - neurochirurgie - antibiorésistance - *Pseudomonas aeruginosa*.

Profil bactériologique et antibiotypique des infections urinaires au niveau du service de Néphrologie du CHU de Batna durant les années 2017, 2018

Meriem Makhloufi (mary.mak85@gmail.com), Faiza Bouziane, Sonia Benamar, Assia Lounis, Messaoud Benmehidi

Laboratoire de Microbiologie, CHU Batna, Batna, Algérie

Introduction et objectifs :

La prise en charge des infections urinaires chez les patients hospitalisés au niveau du service de néphrologie est délicate en raison de la gravité de leur pathologie et de leur statut immunitaire.

Les entérobactéries occupent la première place des germes responsables d'infections urinaires.

La connaissance de leurs profils de résistance est essentielle pour une meilleure prise en charge, d'autant plus qu'il y'a une antibiorésistance croissante des bactéries impliquées dans ce genre de pathologie.

Matériels et méthodes :

- Etude rétrospective descriptive effectuée au sein du laboratoire de microbiologie du CHU de Batna, portant sur les différents micro-organismes isolés du 1er Janvier 2017 au 31 Décembre 2018, provenant de malades hospitalisés au niveau du service de néphrologie.
- Analyse des urines selon les méthodes consensuelles.
- Identification bactérienne et test de sensibilité par méthode de diffusion d'antibiotiques sur milieu gélosé selon les recommandations et interprétations du CLSI 2018.

Résultats, discussion et conclusion :

Nous avons colligé 81 souches provenant essentiellement de patients hospitalisés dans le service de néphrologie.

Les résultats de notre étude ont montré la prédominance des entérobactéries (72,83%)

Il s'agit principalement d'*Escherichia coli* (36) et de *Klebsiella pneumoniae* (12)

La résistance globale des entérobactéries est élevée à l'Amoxicilline (94%) et au Cotrimoxazole (76%).

La résistance aux céphalosporines de 3ème génération est de 52% par production de BLSE (Bétalcatamase à spectre élargi), un taux élevé lié à une diffusion des résistances acquises.

La résistance aux carbapénèmes a touché une seule et unique souche d'*Escherichia coli*.

La Fosfomycine et les Nitrofurantoines gardent une excellente sensibilité de 96% et 87% et occupent donc une place de traitement de choix au cours de l'infection urinaire non compliquée.

Mots clés : Infections urinaires - Néphrologie - Entérobactéries.

Génomique et protéomique : les nouveaux outils pour la caractérisation en routine des souches bactériennes d'intérêt vétérinaire

Pierre-Yves Moalic¹ (biologiste@labofarm.com), David Schikorski¹, Frédéric Bourgeon², Arnaud Lebreton³, Hubert Gantelet⁴, Eric Lewandowski⁴, Sébastien Bridel^{1, 5}

¹Labofarm-Finalab, Loudéac, France

²BioChêneVert-Finalab, Chateaubourg, France

³Porc.Spective, Noyal Pontivy, France

⁴CEVA-Biovac, Beaucozézé, France

⁵INRA, Jouy-en-Josas, France

Introduction et objectifs :

La mise en place de mesures prophylactiques comme la vaccination a permis de réduire le recours aux antibiotiques en élevage. En plus des vaccins commerciaux disponibles sur le marché, les auto-vaccins concourent à la mise en place d'une protection immunitaire efficace des animaux de rente. Dans ce contexte, le choix de la (ou des) souche(s) à inclure dans la solution vaccinale est fondamental.

L'objectif de cette étude vise à rechercher la similarité de la souche de *Streptococcus suis* 1 entrant dans la composition du vaccin avec celle isolée de porcelets cliniquement atteints issus de truies vaccinées : différents outils allant du plus simple (sérotypage) au plus complexe (séquençage complet) ont été mis en œuvre pour conforter le choix des souches vaccinales.

Matériel et méthodes :

La détermination de l'homologie entre les empreintes moléculaires MALDI-TOF et l'attribution de MALDI-types ont été réalisées parallèlement au sérotypage par agglutination et à la caractérisation du séro-groupe par PCR. Enfin, le génome de chacun des isolats a été séquencé en NGS et les données brutes ont été analysées via les outils du CGE (Center for Genomic Epidemiology) : analyse MLST et analyse phylogénétique basée sur l'existence de SNPs de haute qualité.

Résultats et discussion :

Le sérotypage par agglutination et le « géno-sérogroupe » par PCR ont confirmé l'appartenance des 4 isolats au séro-groupe 1 de *S. suis*. L'analyse par spectrométrie de masse ne permet pas de différencier les 4 souches (homologie supérieure à 99%) qui sont classées dans le MALDI-type 1. L'analyse MLST montre une identité parfaite des 7 allèles étudiés et l'appartenance des 4 isolats au Sequence Type 1. Le polymorphisme SNP repose sur un minimum de 6 et un maximum de 19 positions discordantes.

Les différents outils déployés en routine ont confirmé que les souches de *S. suis* utilisées pour la vaccination sont très similaires à celles isolées dans l'élevage. L'auto- vaccin semble donc tout à fait adapté. D'autres investigations, menées en parallèle, montrent que les troubles cliniques seraient en fait liés à un déficit de prise colostrale par les porcelets.

Mots clés : Streptococcus suis - WGS - MALDI-TOF - auto-vaccin.

Coïnfection hépatite B et Delta : prévalence et caractéristiques sérologiques chez une population Mauritanienne

Mohamed Lemine Ould Salem El Moctar Ely (medleminesalem@yahoo.fr)

Laboratoire, CHN Nouakchott, Nouakchott, Mauritanie

Introduction :

L'infection par le VHB est la dixième cause de décès dans le monde, représentant entre 520.000 et 1,2 million de décès par an et environ 5% de tous les porteurs du VHB dans le monde sont co-infectés par le virus de l'hépatite delta (VHD). En Afrique, environ un quart des 65 millions de porteurs chroniques de VHB sont soupçonnés d'être co-infectés par le VHD.

Objectif : d'évaluer la prévalence de l'infection VHB et VHD.

Matériel et méthodes :

Il s'agit d'une étude prospective à visée descriptive, menée du 1 janvier au 30 novembre 2016 dans les deux laboratoires d'analyses médicales à Nouakchott. Etaient inclus les patients tous les patients des deux sexes, de tous les âges porteurs d'AgHBs se présentant aux deux laboratoires d'analyses médicales pendant cette période.

Résultats :

En 1 mois, 211 patients porteurs d'AgHBs ont été notifié sur un total de 1675 patients dépistés, soit une prévalence de 12,59%. La coïnfection VHB/VHD est de 31,30%. L'âge moyen était de 36ans avec des extrêmes [8 et 66]. Le sex-ratio homme/femme était de 1,45. La charge virale du VHB moyenne était de $2,68 \pm 1,31$ log UI/ml [extrêmes : 478,63UI/ml \pm 20,41]. La majorité (94,9%) des patients avaient l'AgHBe négatif.

Conclusion :

La coïnfection VHB/VHD reste très élevée dans notre pays. Cette étude indique que l'importante morbidité des deux virus associée à des connaissances limitées sur le mode transmission, constituent des facteurs de vulnérabilité.

Mots clés : VHB -VHD - Coïnfection - Nouakchott - Mauritanie.

Les infections génitales chez la femme : caractéristiques cliniques et microbiologiques chez une population Mauritanienne

Mohamed Lemine Ould Salem El Moctar Ely¹ (medleminesalem@yahoo.fr), Zineb Habib², Sidi Med Ghaber¹

¹Laboratoire, CHN Nouakchott, Nouakchott, Mauritanie

²Gynécologie, CHN Nouakchott, Nouakchott, Mauritanie

Objectif de l'étude :

Étudier le profil clinique et biologique des infections génitales chez la femme à Nouakchott (Mauritanie); Identifier les germes responsables et déterminer leur sensibilité aux antibiotiques.

Matériel et méthodes :

Il s'agit d'une étude prospective qui a été conduite sur une période de 6 mois allant du 1er mai au 30 octobre 2017. Une fiche de recueil a été remplie pour chaque patiente au niveau de trois laboratoires : laboratoire du Centre Hospitalier National de Nouakchott, et deux laboratoires privés : Medilab et Maurilab.

Résultats :

Notre étude prospective a porté sur 256 patientes sur une période de 6 mois. Les leucorrhées étaient le motif fréquent de consultation et sont présentes dans plus de 80% dans notre étude, associées ou non à des signes urinaires. Seules 32% de nos patientes ont d'antécédents d'IST. Les germes les plus fréquents retrouvés sont les Entérobactéries principalement les *Escherichia coli*, les Streptocoques, les Staphylocoques, *Gardenerella vaginalis*.

La résistance aux antibiotiques usuels est importante chez la majorité de ces germes en rapport probablement avec l'antibiothérapie probabilistes d'où la nécessité de demander un prélèvement vaginal devant toute suspicion d'infection génitale pour diminuer le risque de l'émergence des bactéries multi-résistantes.

Conclusion :

Le prélèvement vaginal est un examen anodin qui doit être pratiqué chez toute patiente en état de grossesse ou présentant un facteur de risque d'infection génitale. Tout en sensibilisant sur le danger de l'automédication et de la prescription abusive et non ciblée des antibiotiques.

Mots clés : Infection génitale - Prélèvement vaginal - Antibiogramme - Mauritanie.

BL-Detect tool: A Device for Rapid and Direct Detection of CTX-M and carbapenemases in Biological Samples

Thierry Naas¹ (thierry.naas@aphp.fr), Julie Takissian², Herve Boutal³, Clara Ballesté-Delpierre⁴, Dora Szabo⁵, Sandrine Bernabeu², Stéphanie Simon³, Eszter Ostorhazi⁵, Jordi Vila⁴, Jordi Bosch⁴, Herve Volland³

¹EA7361, UPSud, Hoôpital Bicêtre, Bactériologie, Le Kremlin-Bicêtre, France

²Hôpital Bicêtre, Bactériologie, Le Kremlin-Bicêtre, France

³CEA, Gif-sur-Yvette, France

⁴ISGlobal, Barcelone, Espagne

⁵Semmelweis University, Budapest, Hungary

The increasing rates of infections caused by broad-spectrum β -lactamases-producing Enterobacteriaceae is a major concern. The value of immunochromatographic tests for the detection of ESBL- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) from bacterial isolates has already been demonstrated. In this study, we have validated a device (BL-Detectool), integrating an immunochromatographic test, which allows a fast and user-friendly detection of the 5 CTXM groups and 5 main carbapenemases (NDM, KPC, Oxa-48, VIM and IMP) directly from biological samples, in less than 30 minutes for urine and blood culture samples.

The device is made of a sample processing (filtration, concentration, extraction and incubation) and an immunochromatographic detection part. A European multicenter validation (prospective study) was made at three university hospitals (Paris, Barcelona and Budapest). Detection of ESBL-producers was performed directly on clinical samples (urine, blood culture and rectal swab) from patients. Due to the low prevalence of CPEs, we also prepared spiked samples of urine and blood cultures. A 16h enrichment culture (with cefotaxime or ertapenem 0.5 mg/L) was performed for rectal swabs before the direct testing.

During the test of 154 blood cultures, 141 urines and 170 rectal swabs for ESBL (CTXMs) we obtained a sensitivity of 98%; 97% and 94% respectively and a specificity of 100%; 94% and 91% respectively. During the test of 141 blood cultures, 106 urines and 121 rectal swabs for CPEs we obtained a sensitivity of 100%; 94% and 91% respectively and a specificity of 100% for the three biological media.

For rectal swabs, direct detection is possible (80% of sensitivity), but to obtain strong signals with a sensitivity of 100%, a 16h enrichment is recommended.

Overall, for the 833 tests performed during this validation study 3 false positives and 10 false negatives were observed.

Our device is a new tool allowing a fast and simple clinical sample processing that allows direct detection of β -lactamases in less than 30 min. Our tests showed excellent biological performances with a sensitivity and specificity between 91 and 100%. In conclusion, these tests are specific, sensitive, easy to use, cost-effective, equipment free and could be implemented in any microbiology laboratory around the world.

Mots clés : detection - ESBLs - Carbapenemase - LFIA.

Portage asymptomatique de *Neisseria gonorrhoeae* et de *Chlamydia trachomatis* chez des sujets adultes à Abidjan, Côte d'Ivoire

Timothée Ouassa^{1,2} (timouassa@yahoo.fr), Yesse Zinzendorf Nanga^{1,3}, Thérèse Kouassi-Agbessi^{1,4}

¹Département de Bactériologie-Virologie, UFR Sces Pharmaceutiques et Biologiques, Abidjan, Côte d'Ivoire

²CeDReS, CHU de Treichville, Abidjan, Côte d'Ivoire

³Laboratoire National de Santé Publique, Abidjan, Côte d'Ivoire

⁴Institut National de Santé Publique, Abidjan, Côte d'Ivoire

Introduction :

C. trachomatis et *N. gonorrhoeae* sont les bactéries les plus impliquées dans les infections sexuellement transmissibles (IST) et font partie des agents d'IST les plus répandus dans le monde et particulièrement en Afrique. Les affections dont ils sont à l'origine sont asymptomatiques chez certains sujets qui en constituent des réservoirs potentiels. La présente étude est menée dans le but de déterminer la prévalence de leur portage asymptomatique dans une population de sujets adultes à Abidjan.

Matériel et méthodes :

Une étude transversale a été réalisée sur 6 mois, de juillet 2018 à janvier 2019. Au cours de cette période, les urines de premier jet des sujets ont été recueillies et analysées par la technique Xpert CT/NG réalisée sur la plateforme GeneXpert (Cepheid) selon les recommandations du fabricant.

Résultats :

Sur la période d'étude, les échantillons de 553 sujets ont été analysés. Le sex ratio était de 0,85 et la plupart des sujets âgés de 20 à 39 ans avec une majorité d'étudiants. *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* ont été détectés avec des prévalences respectives de 4,52% (25/553) et 0,54% (3/553) avec 0,36% de cas de co-infections (2/553). L'analyse de la prévalence en fonction des facteurs sociodémographiques n'a pas révélé de lien avec la plupart d'entre eux, y compris le sexe. Cependant, le principal facteur de risque semblait être le jeune âge (moins de 30 ans), associé au fait d'être élève ou étudiant.

Conclusion :

Le portage asymptomatique de *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis* est plus important chez les sujets jeunes, indiquant la nécessité de mettre l'accent sur les actions préventives contre les IST dans cette population. Par ailleurs, la mise à disposition des méthodes de PCR réalisés sur des prélèvements non invasifs pourraient faciliter leur diagnostic et le suivi du traitement et donc améliorer leur prise en charge.

Mots clés : Xpert CT/NG - *Chlamydia trachomatis* - *Neisseria gonorrhoeae* - Prévalence - Portage asymptomatique.

Performance du VITEK®2 et de l'Advanced Expert System v8.01 dans la détection de la méticilline résistance chez les staphylococcus à coagulase négative

Laurence Pagès Monteiro¹ (laurence.pagesmonteiro@biomerieux.com), Margaux Chapel¹, Martine Olléon¹, Rita Griffith², Géraldine Durand¹, Gilles Zambardi¹

¹Département R&D microbiologie, bioMérieux, La Balme-les-Grottes, France

²Département R&D microbiologie, bioMérieux, Saint-Louis, États-Unis

Introduction :

La détection phénotypique de la résistance à l'Oxacilline (OR) reste délicate chez les staphylocoques à coagulase négative (SCN). Depuis 2017, les cut-off définis par l'EUCAST et le CA-SFM ont été modifiés quant à l'utilisation des disques de Cefoxitine. L'objectif a été d'évaluer les performances du système VITEK®2 face à l'utilisation du disque de Cefoxitine suivant l'EUCAST/CA-SFM dans la détection de l'OR.

Matériel et méthode :

Cette étude inclut 153 SCN appartenant à 11 espèces. La détection de l'OR par VITEK®2 a été effectuée à partir de l'antibiogramme VITEK®2 (carte AST P-631, CMI Oxacilline (V2-OX) et Cefoxitin Screen Test (V2-CST)) associé au système avancé d'expertise (AES V8.01 paramétré suivant l'EUCAST). La limitation produit a conduit à la suppression des résultats positifs au CST pour l'espèce *S. saprophyticus*. Les tests de diffusion avec des disques de Cefoxitine (DD-FOX) ont été effectués selon les recommandations de l'EUCAST 2018. La détection des gènes *mecA* et *mecC* par PCR a servi de référentiel.

Résultats :

Le VITEK®2-AES (V2-CST + V2-OX) a montré une sensibilité de 100% (58/58) légèrement supérieure à celle de la DD-FOX (Se=95% (55/58)). 3 SCN (1 *S. haemolyticus*, 1 *S. warneri* et 1 *S. hominis*) ont présenté des diamètres d'inhibition compris entre 22 et 24 mm catégorisant ces souches à tort sensibles. Les 95 SCN *mecA* négative ont été classées sensibles par la DD-FOX (spe= 100%). La spécificité de VITEK®2-AES a été de 86% (82/95) due principalement à la présence de souches de *S. saprophyticus* présentant des CMI V2-OX borderline à 2 mg/L. Par exclusion de 20 *S. saprophyticus* CST positif, le VITEK®2-AES et la DD-FOX ont présenté des sensibilités (100% et 95% respectivement) et des spécificités (97% et 100% respectivement) similaires.

Conclusion :

En excluant *S. saprophyticus* CST positif, Le système VITEK®2-AES apparait équivalent à la méthode DD-FOX de l'EUCAST dans la détection de l'OR au sein des SCN. Les *S. saprophyticus* dont la CMI à l'oxacilline est égale à 2mg/L devront être considérés sensibles. L'intégration de nouvelles gammes de CMI pour l'Oxacilline dans la version 9.02 de l'AES, permettront de les rendre automatiquement Méticilline sensible.

Mots clés : VITEK2- AES - Méticilline Resistance - Staphylococcus coagulase negative - Cefoxitine.

Amélioration du remplissage des hémocultures après acquisition d'un VirtuO® et formation à l'utilisation des flacons BacT/Alert® à l'IMM

Chantal Pierre¹ (chantal.pierre@imm.fr), Benjamin Gutehrle¹, Valérie Colas², Isabelle Grebaut¹, Raphael Demarty¹, Malik Al Nakib¹, Marie Lavollay¹

¹Laboratoire, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France

²Biomérieux, Craonne, France

Introduction et objectif :

En janvier 2019, le laboratoire de biologie de l'IMM a acquis un automate d'hémoculture VirtuO® (Biomérieux) en remplacement du système Bactec® (BD). Les critères les plus importants garantissant un diagnostic rapide et précis d'une bactériémie ou fongémie sont l'absence de contamination lors du prélèvement et le remplissage des flacons par un volume de sang suffisant (8-10 mL par flacon) [4]. La nouvelle génération d'automate VirtuO® est capable de détecter plus précocement les flacons positifs que les anciennes générations [1-3] et permet également de mesurer le volume de sang dans les flacons d'hémoculture. Pour améliorer les pratiques de prélèvement, un IDE mandaté par la société Biomérieux a formé l'ensemble du personnel soignant de l'IMM et de la clinique Edouard Rist à l'utilisation des flacons BacT/Alert®. L'objectif de l'étude présentée ici est d'évaluer la qualité de remplissage des flacons d'hémoculture avant et après cette formation.

Matériels et méthodes :

Les volumes de remplissage de 618 flacons d'hémoculture provenant de 25 services de l'IMM et de la clinique Edouard Rist ont été évalués par pesée avant et après formation (Avant formation ; déc. 2018 ; 100 BACTEC Plus Aerobic/F et 100 BACTEC Plus Anaerobic/F. Après formation ; fév. 2019 ; 209 flacons BacT/Alert® FA Plus et 209 flacons FN Plus).

Résultats, discussion et conclusion :

La formation a permis de faire passer les volumes moyens de remplissage de 5 à 9 ml par flacon. Le pourcentage de flacons contenant un volume ≥ 8 ml a progressé de 26% à 62% et le pourcentage de flacons contenant un volume ≤ 1 ml est passé de 19% à 3%. En conclusion, la formation a permis une amélioration significative du volume de remplissage des flacons d'hémoculture tout en permettant la mise en place du protocole de ponction unique de 3 paires d'hémocultures concomitantes recommandé par le REMIC [4]. Enfin, sous réserve d'un étiquetage correct, l'automate VirtuO® évalue le volume de remplissage de chaque flacon grâce à une lecture optique.

Mots clés : Hémoculture - qualité - remplissage - VirtuO - formation.

Références :

1. Somily AM, Habib HA, Torchyan AA, Sayyed SB, Absar M, Al-Aqeel R et al.. Time-to-detection of bacteria and yeast with the BACTEC FX versus BacT/Alert Virtuo blood culture systems. *Ann Saudi Med.* 2018 May-Jun;38(3):194-199.
2. Park J, Han S, Shin S. Comparison of Growth Performance of the BacT/ALERT VIRTUO and BACTEC FX Blood Culture Systems Under Simulated Bloodstream Infection Conditions. *Clin Lab.* 2017 Jan 1;63(1):39-46.
3. Menchinelli G, Liotti FM, Fiori B, De Angelis G, D'Inzeo T, Giordano L et al.. In vitro Evaluation of BACT/ALERT® VIRTUO®, BACT/ALERT 3D®, and BACTEC™ FX Automated Blood Culture Systems for Detection of Microbial Pathogens Using Simulated Human Blood Samples. *Front Microbiol.* 2019; 10: 221.
4. Accoceberry I, Cornet M, Lamy B. Bactériémies et fongémies – hémocultures. REMIC, 6th ed, vol1. P137-152 SFM, Paris, France.

IST : Impact du passage à une méthode de PCR multiplexe

Grégoire Potiron (gregoire.potiron@laborizon.fr), Florent Tomasi, Geoffroy de Gastines

Laboratoire Biorylis, La Roche-sur-Yon, France

Dans le cadre du dépistage/diagnostic des IST « bactériennes », le laboratoire a mis en place en Avril 2018 une méthode de PCR Multiplexe temps réel Allplex STI Essentiel-Eurobio Seegene : Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma genitalium, Trichomonas vaginalis, Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum. Le laboratoire se compose de 10 sites répartis en Vendée, sur un territoire regroupant 200 000 à 250 000 habitants.

Notre objectif a été d'évaluer l'impact du passage de la PCR Biplexe (CT/NG) à la PCR multiplexe via le nombre de patients dépistés et le nombre de cas diagnostiqués. Matériel et méthodes : Comparaisons du nombre de demandes globales/résultats positifs entre le 2nd semestre 2017 et le 2nd semestre 2018 Etude rétrospective des données à disposition : PCR biplexe CT/NG GeneXpert (Cepheid) entre le 01/07/2017 et le 31/12/2017 puis PCR multiplexe Seegene Eurobio entre 01/07/2018 et le 31/12/2018. Choix de période : adaptation après le changement de technique, saisons identiques et activité stable du laboratoire sur deux ans (croissance démographique seulement).

Résultats Observations suite au passage à la technique de PCR multiplexe : - Hausse du nombre global de patients dépistés (+207,7%) - Elévation relative et non proportionnelle du nombre de cas positifs (CT:+110,7% et NG:+137,9%) - Détection d'un pathogène jusqu'ici non recherché au laboratoire : Mycoplasma genitalium - Nouvelle approche pour les recherches d'autres pathogènes : TV, Mh et Uu A noter pour la lecture de ces résultats : - Intégration de la recherche de NG par PCR (acte 5301) avec la recherche de CT à la NABM (mise en application du 29/06/2018) - L'organisation d'une réunion d'information sur la thématique des IST au laboratoire le 27/09/2018 (présence de 80 prescripteurs)

Conclusion Le passage à la PCR Multiplexe s'est accompagné d'une nette élévation de la proportion de patients dépistés pour ces IST, en partie liée à une communication étoffée vis-à-vis des praticiens (élévation du nombre de prescriptions). Ceci favorise le dépistage plus précoce des patients asymptomatiques, renforçant le rôle du laboratoire comme acteur de prévention. Autre bénéfice majeur : la détection des pathogènes TV et MG par PCR (plus d'échantillons positifs que NG dans cette étude)

Mots clés : PCR Mutiplexe - IST - Dépistage - Mycoplasma genitalium.

Pertinence des prescriptions hospitalières d'Examens Cyto-Bactériologiques des Urines

Jean-Baptiste Lainé (jblaine87@hotmail.com), Céline Ramanantsoa, Cyril Hoche, Aurélie Beaudron, Jean Thomin, Pascale Penn

Microbiologie, Centre Hospitalier du Mans, Le Mans, France

Introduction :

On constate quotidiennement au laboratoire de Microbiologie qu'un grand nombre d'Examens Cyto-Bactériologiques des Urines (ECBU) prescrits dans notre établissement (centre hospitalier de plus de 1600 lits) sont rendus stériles ou polymicrobiens (4277 antibiogrammes réalisés pour 15204 ECBU envoyés en 2017 soit seulement 28%).

Dans ce cadre, nous avons mené une étude rétrospective afin d'analyser la stratégie diagnostique des Infections Urinaires (IU) au sein des différents services dans l'objectif d'identifier les prescriptions d'ECBU non-justifiées.

Matériels et méthodes :

Nous avons inclus rétrospectivement toutes les demandes d'ECBU entre le Samedi 1er Décembre et le Mercredi 5 Décembre 2018 provenant des services de notre établissement.

Nous avons ensuite réalisé un relevé des informations suivantes : sexe, âge, service demandeur, réalisation et résultats de la Bandelette Urinaire (BU), mode de prélèvement, terrain, signes cliniques, résultats rendus. L'analyse de la pertinence des prescriptions d'ECBU a été réalisée selon les recommandations actuelles [1].

Résultats :

Au total, 157 patients ont été inclus dans notre étude entre le Samedi 1er Décembre et le Mercredi 5 Décembre 2018. 64% des demandes concernaient des femmes (101/157). L'âge moyen de nos patients était de 54 ans, la médiane d'âge de 57 ans. Parmi l'ensemble des prélèvements, on retrouvait une culture mono-microbienne dans 31% des cas (48/157).

Après recueil des données cliniques, il apparaissait que 29% des patients (46/157) ne présentaient pas de signe clinique motivant la réalisation d'un ECBU. La BU n'était réalisée que chez 47% des patients (74/157). Malgré l'envoi des prélèvements au laboratoire, 47% des BU réalisées chez les patientes de notre échantillon étaient négatives (23/49). Au minimum, 38% des prescriptions d'ECBU n'étaient pas justifiées (60/157).

Discussion et conclusion :

On observe dans cette étude un taux élevé (38%) d'ECBU adressés au laboratoire sans indication selon les recommandations officielles avec un impact économique important.

Afin de limiter les prescriptions inutiles, plusieurs interventions peuvent être proposées : e-learning, formations des personnels médicaux et paramédicaux, mise en place de protocoles au sein des services.

Mots clés : Bonnes pratiques - Pertinence - ECBU.

Références :

1. Caron F, et al. Practice guidelines for the management of adult community-acquired urinary tract infections. *Med Mal Inf.* 2017

Infections à *Vibrio* non cholériques en France, 23 ans de surveillance

Alexandre Descamps¹ (descamps.alexandre@orange.fr), Annick Robert-Pillot², Jean Rauzier², Alain Guénolé², Perrine de Crouy-Chanel¹, Jean-Michel Fournier², Harold Noel¹, Marie-Laure Quilici²

¹Santé publique France, Saint-Maurice, France

²CNR des Vibrions et du Choléra, Institut Pasteur, Paris, France

Les vibrions sont des bactéries à Gram négatif vivant dans les environnements marins et estuariens. La variation de leur densité et les risques sanitaires qu'ils représentent pour l'homme ont été associés au réchauffement climatique. Les vibrions non cholériques (VNC) peuvent être à l'origine d'infections intestinales ou extra-intestinales faisant suite à la consommation de fruits de mer crus ou non cuits, ou à l'exposition d'une plaie à de l'eau de mer ou de l'eau douce contaminée. Nous rapportons les résultats du système de surveillance microbiologique des infections à *Vibrio* en France, mis en place depuis 1995 par le Centre national de référence des vibrions et du choléra (CNRVC) de l'Institut Pasteur (Paris, France).

Méthodes :

Tous les isolats reçus des laboratoires médicaux ont été analysés par des méthodes biochimiques et sérologiques. Les gènes des facteurs de virulence connus (*ctxA* et *ctxB*, *tcpA*, *tdh* et *trh*, *toxRS* et *orf8*, *hly*) ont été recherchés par PCR pour chaque espèce. Des analyses statistiques ont été effectuées sur les données cliniques et les caractéristiques sociodémographiques. Les variables physicochimiques, température et salinité de surface de la mer, ont également été mesurées.

Conclusion :

Au total, 229 cas d'infections à VNC ont été recensés de 1995 à 2017. Cette étude a permis d'identifier les quatre principales espèces à l'origine de 95% des infections, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* et *V. vulnificus*, et de déterminer les principaux symptômes qui leur sont associés, gastro-entérites, infections de la peau ou des plaies, et septicémies primaires ou secondaires particulièrement graves chez les patients immunodéprimés ou souffrant d'affections sous-jacentes. *V. parahaemolyticus* et *V. alginolyticus* ont été retrouvés principalement chez les hommes d'âge moyen et plus jeunes, alors que *V. cholerae* non-O1/non-O139 et *V. vulnificus* chez les hommes plus âgés, d'âge médian supérieur à 65 ans. Nos données ont également mis en évidence un tropisme probable des infections à *Vibrio* pour la côte atlantique française, en partie lié à des facteurs environnementaux, notamment la température de l'eau et la salinité. Un renforcement de la surveillance épidémiologique et écologique devrait aider à améliorer la prévention des cas d'infections à VNC en France.

Mots clés : Vibrions non cholériques - Infections - France - surveillance.

Métagénomique clinique : conclusions du groupe de réflexion Paris-Genève

Étienne Ruppe (etienne.ruppe@inserm.fr)

UMR 1137 IAME, Université de Paris, France

Introduction et objectifs :

La métagénomique clinique (MgC) est définie comme l'application des nouveaux outils de séquençage (next-generation sequencing, NGS) à des échantillons cliniques en vue d'établir un diagnostic microbiologique, notamment l'identification d'agents potentiellement pathogènes et la prédiction de leur sensibilité aux antimicrobiens. En parallèle de la mise à disposition des séquenceurs de nouvelle génération dans les établissements de soins, la MgC est actuellement en plein essor. De nombreuses séries de cas sont rapportées dans la littérature, montrant le potentiel de la MgC comme outil diagnostique complémentaire aux méthodes conventionnelles. Ainsi nous avons créé un groupe de réflexion comprenant des experts franciliens et genevois provenant de différents horizons, avec comme objectif d'établir un consensus en vue de l'utilisation de la MgC en routine.

Matériels et méthodes :

Le groupe de MgC Paris-Genève comprend 18 experts en bactériologie, virologie, mycologie, parasitologie, maladies infectieuses, wet-lab et bioinformatique, travaillant dans 6 établissements de l'AP-HP et aux Hôpitaux Universitaires de Genève. A ce jour (juin 2019), 5 réunions de travail ont été tenues sur les thématiques suivantes : état des lieux des pratiques locales en MgC, préparation des échantillons, séquençage, informatique et bioinformatique.

Résultats, discussion et conclusion :

A travers les différentes réunions, un consensus a pu être dégagé sur les points suivants. La MgC est pour le moment effectuée sur séquenceur Illumina (San Diego, Californie). Tous les échantillons peuvent être considérés pour application de la MgC. Afin de capturer l'ensemble des informations de l'échantillon, il a été convenu d'analyser en parallèle l'ADN et l'ARN. La déplétion en ADN humain a semblé indispensable dans certaines situations (échantillons riches en cellules humaines, comme les échantillons purulents). Un minimum de 2x5 millions de séquences (150 bases) par échantillon a été établi, avec possibilité de séquencer avec une plus grande profondeur dans un second temps, et tout particulièrement en cas de suspicion d'infection virale. Un travail spécifique sur les bases de connaissance (nettoyage de la base RefSeq) et sur les stratégies d'analyse bioinformatique est toujours en cours.

Mots clés : NGS - Diagnostic - Métagénomique - Bioinformatique.

Évaluation des performances du nouveau kit ID now Strep A2 (Abbot, USA) en comparaison à la culture pour la recherche du *Streptococcus pyogenes* dans les frottis de gorge

Isabelle Ruth (isabelle.ruth@chu-charleroi.be), Barbara Marchetti, Lydwine Defourny, Danielle Govaerts, Salah Eddine Lali

CHU de Charleroi, Charleroi, Belgique

Introduction :

Un diagnostic rapide des angines à *Streptococcus pyogenes* permettrait de limiter le développement de lésions suppuratives, et d'éviter une prescription inutile d'antibiotiques. [1] Actuellement, la mise en culture des frottis de gorge est la technique de référence pour le diagnostic des angines à *Streptococcus pyogenes*. Un temps d'incubation de minimum 24h est nécessaire à l'isolement de ce pathogène.

Le nouveau kit ID now Strep A2 (Abbott, USA) utilise une technique moléculaire d'amplification isothermique des acides nucléiques permettant la détection en moins de 6 min du génome du *Streptococcus pyogenes* directement à partir d'un frottis de gorge.

Matériel et méthode :

L'ensemble des frottis de gorge collectés dans les tubes eSwab™ (COPAN, Italy) pris en charge au sein du laboratoire du CHU de Charleroi entre mars et avril 2019 (N=40), ont été analysés avec ce kit. Une mise en culture sur milieu Trypticase™ Soy Agar et Columbia CNA Agar (BD Beckton Dickinson GmbH, Germany) a été réalisée parallèlement. L'identification des *Streptococcus pyogenes* à partir des cultures a été analysée par le MALDI-TOF MS Microflex (Bruker, USA).

Résultats :

Sur les 40 échantillons analysés, 7 se sont révélés positifs en culture et 9 après analyse moléculaire. La sensibilité et la spécificité du kit était égale à 100% et à 93.9% respectivement. Le manque de spécificité découle des deux cas de discordance entre la technique moléculaire (positive) et la culture (négative). Pour l'un des cas, un contrôle des colonies hémolytiques sur la culture a pu être réalisé. L'identification par le MALDI-TOF MS a permis de montrer la présence de colonies de *Streptococcus pyogenes* d'aspect atypique en culture. Ceci améliore la spécificité du kit (96.9%).

Conclusion :

Le kit ID now Strep A2 montre de bonnes performances dans le diagnostic des angines à *Streptococcus pyogenes*. Selon la littérature, ce test semble être plus sensible que les tests immuno-chromatographiques. Il permettrait une prise en charge plus rapide des patients et éviterait des traitements antibiotiques inutiles.

Mots clés : *Streptococcus pyogenes* - Biologie moléculaire - Test rapide.

Références :

1. Cohen DM, Russo ME, Jaggi P, Kline J, Gluckman W, Parekh A. Multicenter clinical evaluation of the novel Alere i Strep A isothermal nucleic acid amplification test. J Clin Microbiol. 2015;53(7):2258–2261. doi: 10.1128/JCM.00490-15.

Accréditation de l'activité de mycobactériologie : retour d'expérience du CHU de Strasbourg

Frédéric Schramm (frederic.schramm@chru-strasbourg.fr), Emilie Talagrand-Reboul, Pierre Boyer, Benoît Jaulhac, Céline Ménard, Christelle Koebel

Laboratoire de bactériologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

Contexte :

L'ensemble de l'activité de mycobactériologie du CHU de Strasbourg (à l'exception des hémocultures mycobactéries) a été présentée à l'accréditation en juin 2019, et a été évaluée par le COFRAC selon la norme 15 189. L'objet de la communication est d'en faire un retour d'expérience, avec un focus particulier sur la structuration du dossier de validation de méthode, et les points clés de l'analyse de risque ayant permis de présenter l'ensemble du dossier sous la forme d'une vérification de méthode (portée flexible standard A) pour l'ensemble des échantillons habituellement pris en charge pour le diagnostic clinique.

Résultats :

Le dossier de vérification de méthode a été structuré comme un processus complexe comprenant 5 sous-processus : i) examen microscopique après coloration (coloration automatisée à l'auramine et coloration manuelle de Ziehl), ii) culture (milieux solides et milieux liquides MGIT), iii) identification présumptive du complexe tuberculosis par test immunochromatographique MPT64 ; iv) identification d'espèce des mycobactéries tuberculeuses et non-tuberculeuses et détection des mutations de résistance aux antituberculeux (tests Genotype Hain) ; v) antibiogramme phénotypique en milieu liquide MGIT ; PCR du complexe tuberculosis couplée à la recherche de mutation de résistance à la rifampicine (Xpert MTB/RIF Ultra). L'analyse de risque, l'analyse bibliographique, ainsi que l'expérience rétrospective du laboratoire ont permis la présentation du dossier de vérification de méthode en portée A, y compris pour l'application de nos techniques à des échantillons « non endossés » par les recommandations des fabricants correspondants, et notamment i) l'utilisation du milieu MGIT pour les échantillons urinaires, et ii) l'utilisation de la PCR Xpert MTB/RIF Ultra sur les échantillons extra-pulmonaires.

Conclusions :

L'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon la norme 15 189 étant obligatoire, le partage d'expérience sur des secteurs aussi spécialisés que l'activité de mycobactériologie pourrait permettre l'émergence d'un « consensus » profitable à tous les laboratoires.

Mots clés : mycobactéries - accréditation - dossier de validation de méthode - norme 15189.

Antibiogrammes des bactéries dépourvues de concentrations critiques cliniques : retour d'expérience du CHU de Strasbourg

Frédéric Schramm (frederic.schramm@chru-strasbourg.fr), Antoine Grillon, Emilie Talagrand-Reboul, Pierre Boyer, Benoît Jaulhac, François Jehl

Laboratoire de bactériologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

Contexte :

L'EUCAST propose une conduite à tenir pour la réalisation et l'interprétation des antibiogrammes des bactéries dépourvues de concentrations critiques cliniques [1].

Le profil de « sensibilité » repose sur la confrontation des CMI mesurées avec les breakpoints PK/PD lorsqu'ils existent, ou à défaut avec les ECOFF existants pour les couples antibiotiques/bactéries étudiés, voire avec les ECOFF de microorganismes apparentés en l'absence d'ECOFF établi.

L'objet de la communication est de faire un retour d'expérience sur la mise en place en routine d'un système de réalisation, d'interprétation et de gestion informatique de ce type d'antibiogrammes.

Résultats :

Le travail initial a été orienté vers les « plus fréquents des genres/espèces rares » isolées au laboratoire (ex : *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Nocardia*...). Une recherche bibliographique de leurs résistances naturelles et des molécules habituellement actives a permis d'établir pour chaque genre/espèce concerné une liste restreinte d'antibiotiques proposés en test. Pour chaque couple antibiotique/bactérie dépourvu de breakpoint PK/PD et d'ECOFF « officiel », un ECOFF consensuel a été fixé de manière à harmoniser les réponses validées par les différents biologistes du laboratoire. S'agissant de microorganismes rarement isolés, les antibiogrammes à effectuer sont systématiquement réalisés « sur mesure » : le choix des quelques molécules à tester est discuté directement avec le clinicien en charge du patient. Un algorithme informatique traduit les réponses S/I/R saisies dans le SIL par les mentions respectives « utilisable avec précaution (à dose standard), utilisable avec précaution (à forte dose), utilisation déconseillée ». Un commentaire généré automatiquement sur le compte-rendu indique que l'interprétation est basée sur les concentrations critiques PK/PD et/ou épidémiologiques des souches sauvages, et donne le lien intranet vers le tableau des posologies (doses standard et fortes doses) à partir desquelles ces concentrations critiques ont été établies.

Conclusions :

L'antibiogramme oriente le clinicien dans le choix des antibiotiques. Pour les microorganismes dépourvus de concentrations critiques cliniques, ce choix peut être délicat. Le partage d'expérience multisite sur les modalités techniques, organisationnelles et interprétatives élaborées pour gérer cette question pourrait permettre l'émergence d'un « consensus » profitable à tous les laboratoires.

Mots clés : Antibiogramme - Bactéries dépourvues de concentrations critiques cliniques - PK/PD - ECOFF.

Références :

1. EUCAST. Antimicrobial susceptibility tests on groups of organisms or agents for which there are no EUCAST breakpoints (8 May 2016).

Identification par séquençage haut débit de signatures moléculaires en lien avec la pathogénicité et les modes de transmission du virus de l'hépatite E

Cédric Hartard^{1,2} (c.hartard@chru-nancy.fr), Honorine Fenaux^{1,2}, Alexis De Rougemont³, Elodie Laugel¹, Bronowicki Jean-Pierre⁴, Christophe Gantzer², Isabelle Bertrand², Evelyne Schvoerer^{1,2}

¹ *Virologie, CHRU Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*

² *LCPME UMR7564 CNRS-UL, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*

³ *CNR virus des gastro-entérites, Dijon, France*

⁴ *Hépatogastro-entérologie, CHRU Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*

Introduction et objectifs :

Les manifestations hépatiques associées au virus de l'hépatite E sont variables, allant de l'infection bénigne/asymptomatique à des atteintes sévères. Des formes chroniques sont également décrites chez l'immunodéprimé. Le VHE présente une importante variabilité génétique, peu de données sont cependant disponibles concernant les caractéristiques moléculaires des souches associées aux différentes formes cliniques. Ce virus circule sous la forme d'une quasi-espèce chez les individus infectés. Cette variabilité génétique offre potentiellement des avantages aux virus, en termes de virulence ou de comportement dans l'environnement (propriétés physiques influençant leur devenir et les modes de transmission).

L'objectif de notre travail est d'identifier au sein de la quasi-espèce virale (chez des patients et dans l'environnement) des signatures moléculaires qui seraient associées à un évènement donné (retentissement clinico-biologique et/ou voie de contamination).

Matériels et méthodes :

Des prélèvements cliniques (sang [n=19] et selles [n=6]) et environnementaux (eaux usées d'abattoir [n=6], de station d'épuration [n=2], selles/foies de sangliers [n=3]) positifs pour la recherche de VHE ont été analysés par séquençage haut débit (MiSeq® Illumina). La zone d'étude correspond au chevauchement ORF2/ORF3.

Résultats, discussion et conclusion :

La majorité des échantillons cliniques (24/25) est caractérisée par un variant majoritaire (65 à 96% de la quasi-espèce virale). Parmi 3 patients atteints d'hépatite E chronique, 1 seul se distingue par une forte variabilité génétique (variant majoritaire < 10% de la quasi-espèce). Un second patient infecté de façon chronique présente une séquence génétiquement proche de celles circulant chez le lapin (génotype 3ra), en faveur d'une contamination d'origine animale directe ou indirecte. L'analyse prédictive des profils antigéniques (AnTheProt) des souches majoritaires et minoritaires des quasi-espèces montre que la souche d'origine lapine est caractérisée par une baisse de l'antigénicité au niveau de la région étudiée (acides aminés 67-D/GPHPGS-72 sur ORF2 et 87-PNPGSQ-92 sur ORF3).

Parmi les échantillons environnementaux, les eaux de stations d'épuration sont caractérisées par une variabilité génétique importante (variant majoritaire < 20%).

En plus d'analyses bio-informatiques prédictives, des analyses fonctionnelles sont en cours (hydrophobicité et propriétés de surface) : elles permettent de mieux caractériser les mutations identifiées par séquençage haut débit, qu'elles soient associées aux variants majoritaires ou minoritaires.

Mots clés : Virus de l'hépatite E - variabilité génétique - séquençage haut débit.

La paragonimose chez les tousseurs chroniques à Cotonou au Bénin

Yolande Sissinto Savi de Tové¹ (yolande.sissinto@yahoo.com), David Aka², Murielle Malété³, Abel Wakpo^{4, 5}, Dixou Affolabi³, Jean-Phillipe Bouchara⁶, Aurore Hounto¹, Achille Massougbodji¹, Dorothee Kindé Gazard¹

¹Service de Microbiologie du CNHU, Faculté des Sciences de la Santé Cotonou, Cotonou, Bénin

²Laboratoire de Microbiologie, Institut Pasteur de Cote d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire

³CNHU-PP Cotonou, Faculté des Sciences de la Santé Cotonou, Cotonou, Bénin

⁴Service de Microbiologie du CNHU, Centre Hospitalier Universitaire Cotonou, Cotonou, Bénin

⁵Centre Hospitalier Universitaire Cotonou, Cotonou, Bénin

⁶Laboratoire de Parasitologie- Mycologie, CHU Angers, Angers, France

Introduction et objectif :

La paragonimose est une trématodose due à des douves du genre *Paragonimus* par l'ingestion de crustacés crus ou peu cuits. C'est une maladie tropicale négligée simulant une tuberculose pulmonaire, très peu évoquée devant des examens de crachats négatifs [1]. Notre objectif était de déterminer la fréquence de la paragonimose parmi les tousseurs chroniques à Cotonou au Bénin.

Matériel et méthodes :

Une étude transversale descriptive était menée d'août à décembre 2018 chez 177 tousseurs chroniques venus consulter au CNHU-PP ayant bénéficié d'un examen des crachats à l'aide de la technique moléculaire GeneXpert®. Les œufs de *Paragonimus sp.* ont été recherchés par un examen microscopique direct du culot de centrifugation après une liquéfaction des expectorations à la soude à 3%.

Résultats, discussion et conclusion :

La fréquence de la paragonimose était de 6,8 % dans la population étudiée. 91,5% des patients consommaient des crabes d'eau douce et des crevettes. L'ébullition était le mode de cuisson des crustacés le plus utilisé par les patients (96%). Tous les participants présentaient une toux grasse, des expectorations purulentes (83,3%) et hémoptoïques (16,7%). La prévalence de la co-infection paragonimose-tuberculose était de 41,66%. Cette affection simulatrice devrait être évoquée de nos jours devant tout cas de tuberculose pulmonaire non confirmée par la biologie.

Vingt années après le premier cas dépisté en 1998 au Bénin [2], il importe de signaler que la paragonimose sévit au Bénin. Un traitement précoce au praziquantel aboutit à un pronostic favorable.

Mots clés : paragonimose - tuberculose pulmonaire - crustacés - Bénin,.

Références :

1. Sirol J, Kerfelec J, Papinutto JP. La paragonimose pulmonaire en Afrique. A propos de 26 observations colligées au Cameroun occidental. Enoncé des faits parasitologiques, anatomopathologiques, épidémiologiques et cliniques. Bull Soc Pathol Exot, 1967, 60: 533.
2. Aka NAD, Allabi ACE, Dreyfuss G, Kinde-Gazard D, Tawo L, Rondelaud D Bouteille B, Avodé G, Anagonou SY, Gninafon M, Massougbodji A & Dumas M. Observations épidémiologiques sur le premier cas de paragonimose humaine et les hôtes intermédiaires potentiels de *Paragonimus sp.* au Bénin. Bull Soc Pathol Exot, 1999, 92(3) : 191-194.

Cellulose fonctionnalisée par un heptyl-mannose : un nouvel outil thérapeutique et diagnostic ciblant les *Escherichia coli* adhérents et invasifs

Adeline Sivignon¹ (adeline.sivignon@uca.fr), Madeleine Cauwel², Clarisse Bridot³, Medy C Nongbe², David Deniaud², Benoit Roubinet⁴, Ludovic Landemarre⁴, François-Xavier Felpin², Julie Bouckaert³, Nicolas Barnich¹, Sébastien G Gouin²

¹ M2iSH, U1071, Inserm, INRA, Univ. Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

² CEISAM, UMR CNRS 6230, Université de Nantes, Nantes, France

³ UGSF, UMR8576 CNRS, Université de Lille 1, Lille, France

⁴ Glycodiag, Orléans, France

Introduction :

Les souches de *Escherichia coli* adhérentes et invasives (AIEC) isolées de patients atteints de maladie de Crohn (MC) adhèrent fortement aux cellules épithéliales intestinales (CEI) via leur pili de type 1. Ces structures fimbriales possèdent à leur extrémité une lectine à mannose, l'adhésine FimH. Cette propriété d'adhésion au mannose a été ciblée pour développer un traitement antimicrobien spécifique et un outil diagnostique dans la MC.

Matériel et méthodes :

L'heptyl-mannose (HMan), puissant antagoniste de FimH, a été greffé sur des nanofibres de cellulose (CN) et sur papier de cellulose (CP) par 'click chemistry'. Les capacités antiadhésives de HMan-CN ont été étudiées *in vitro* lors de tests d'adhésion de la souche AIEC de référence LF82 aux CEI T84 et en modèle murin colonisé par les bactéries AIEC (2 administrations de 30 mg/kg *per os*). Pour le test de détection, les bactéries AIEC LF82 retenues sur le papier greffé ou non par HMan ont été quantifiées. La souche de *E. coli* K12-C600 et le mutant LF82- Δ fimH ont été utilisés comme contrôles.

Résultats :

Alors que la nanocellulose seule ou modifiée par de l'heptylglucose n'ont pas d'effet sur l'adhésion bactérienne, HMan-CN diminue drastiquement l'adhésion des bactéries aux cellules dès 10 μ M. Cet effet est similaire à celui du composé HMan indiquant que les nanofibres n'interfèrent pas dans les propriétés inhibitrices. L'administration de HMan-CN à des souris préalablement colonisées par des bactéries AIEC LF82 a permis de diminuer significativement la charge bactérienne dans les fèces.

Concernant le test de détection, 12,65% des bactéries LF82 en solution ont été retenues sur papier/HMan, comparativement à 1,11% pour le papier seul. Le mutant LF82- Δ fimH et la souche K12-C600 adhèrent très peu au HMan-CP (1,27% et 1,87% respectivement).

Conclusion :

La technologie de fonctionnalisation de nanofibres ou de fibres avec un ligand de FimH a permis de développer un outil thérapeutique et une méthode de détection simple et rapide des bactéries AIEC en les discriminant de souches de *E. coli* non pathogènes. Cette approche pourrait être étendue à d'autres pathologies infectieuses en greffant d'autres sucres-ligands sur le papier en fonction des lectines bactériennes ciblées.

Mots clés : *Escherichia coli* adhérent et invasif - Thérapie anti-microbienne - Détection - Cellulose - Maladie de Crohn.

Virulence characteristics of nosocomial CTX-M β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from a hospital in Algiers, Algeria

Sara Mimi Atmani (saramimiatmani58@gmail.com), Rabah Bakour, Yamina Messai

LBCM, USTHB, Alger, Algérie

Klebsiella pneumoniae is one of the leading cause of nosocomial infections [1]. Its pathogenicity is associated to the expression of several virulence factors and the ability to readily acquire multidrug resistance (MDR) [2]. *K. pneumoniae* is a privileged host of extended spectrum β -lactamases (ESBL) ; most of ESBL-producing strains are multidrug resistant, resulting in significant morbidity and mortality worldwide [3,4]. This study aimed to determine virulence traits of nosocomial ESBL-producing *K. pneumoniae* recovered from a hospital in Algiers.

The study was performed on 50 unduplicated nosocomial ESBL CTX-M-producing *K. pneumoniae* isolates, most of them (96%) had a MDR phenotype. Genetic relatedness of isolates was performed by ERIC-PCR and phylogenetic analysis by *gyrA* PCR-RFLP. Hemagglutination, serum susceptibility, hypermucoviscosity and biofilm formation were investigated by microtiter plate assay with human erythrocytes, plaque assay on agar, string test and crystal violet microplate assay, respectively. Virulence-associated genes were detected by PCR. The *in-vivo* virulence was assessed in mice infected intraperitoneally.

Type 1 and type 3 adhesin genes, *fimH-1* and *mrkD*, were found in 100% of isolates, while non-fimbrial adhesin gene (*cf29a*) was absent. Rates of enterobactin (*entB*), yersiniabactin (*fyuA*, *irp1*, *irp2*, *ybtS*), salmochelin (*iroN*) and aerobactin (*iutA*) genes were 100%, 40%, 2% and 4%, respectively. One isolate had RmpA (regulator of mucoid phenotype) gene and hypermucoviscosity phenotype. All isolates had capsule/lipopolysaccharide-associated genes *wabG* and *uge*, and showed serum resistance and biofilm formation. The prevalence of colibactin (*clbB*, *clbN*, *clbA*, *clbQ*) genes was 4%. Combinations of virulence factors highlighted five virulence profiles, of which tree (including 40% of isolates) were extended to invasiveness factors (salmochelin, yersiniabactin, aerobactin, RmpA and hypermucoviscosity). Representative isolates with the latter virulence profiles showed lower LD50. *gyrA* PCR-RFLP phylogenetic analysis showed that all strains belonged to phylogenetic group Kpl and ERIC-PCR typing showed a high genetic diversity of *K. pneumoniae* isolates.

The study highlighted the pathogenic potential of nosocomial CTX-M-producing *K. pneumoniae*. The concomitant presence of several virulence factors conferring invasiveness is a real threat for vulnerable populations, especially when associated with MDR.

Mots clés : *Klebsiella pneumoniae* - ESBL - multidrug resistance - virulence.

Références :

1. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. 2013. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 11 : 297–308.
2. Clegg S, Murphy CN. 2016. Epidemiology and virulence of *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiol Spectr.* 4: UTI-0005-2012.
3. Cao X, Xu X, Zhang Z, Shen H, Chen J, Zhang K. 2014. Molecular characterization of clinical multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 13: 16.
4. Navon-Venezia S, Kondratyeva K, Carattoli A. 2017. *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 41 : 252–75.

Control of the subcellular localization of host nuclear proteins by *Brucella* effectors

Amandine Blanco (amandine.blanco@ibcp.fr), Arthur Louche, Suzana Salcedo

UMR5086, CNRS - IBCP - Unité MMSB, Lyon, France

Introduction and objectives:

Bacterial targeting of the nucleus is a major virulence strategy shared by a number of plant and animal pathogens. In order to manipulate nuclear functions and eukaryotic gene expression, bacteria inject into host cells nuclear-targeting effector proteins, known as nucleomodulins [1].

We have recently identified two such effectors from *Brucella*, the causative agent of brucellosis, considered by the World Health Organisation to be one of the most widespread bacterial zoonosis worldwide [2-3]. The objective of our study is to characterize the function of these effectors during infection.

Material and methods:

We combined cell biology and molecular approaches to unravel the function of these proteins during infection of cultured macrophages and epithelial cells. Mutant strains lacking NyxA and NyxB were studied as well as the activity of ectopically expressed and purified proteins.

Results, discussion and conclusion:

We have found that the two effectors, NyxA and NyxB, together modulate subcellular spatial dynamics of nuclear proteins during infection. We have identified their cellular target, a host de-SUMOylase. Furthermore, we have found that these effectors are involved in the PML-NB modulation.

In addition, the cellular distribution of key components of ribosomal biogenesis machinery is affected during infection, impacting overall protein synthesis. These effectors are the first example of direct targeting of ribosomal biogenesis machinery for modulation of cellular responses. We are currently investigating the impact of these effectors in the context of *Brucella* pathogenesis.

Mots clés : *Brucella abortus* - effectors - PML-NBs - ribosomal biogenesis.

Références :

1. Bierne, H., & Cossart, P. (2012). When bacteria target the nucleus: the emerging family of nucleomodulins. *Cellular Microbiology*, 14(5), 622–633. <http://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2012.01758.x>
2. Celli, J. (2015). The changing nature of the *Brucella*-containing vacuole. *Cellular Microbiology*, 17(7), 951–958. <http://doi.org/10.1111/cmi.12452>
3. Hull, N. C., & Schumaker, B. A. (2018). Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. *Infection Ecology & Epidemiology*, 8(1), 1–13. <http://doi.org/10.1080/20008686.2018.1500846>

***Pseudomonas aeruginosa* alters *Staphylococcus aureus* transcriptome and increases its antibiotic resistance and internalization within pulmonary cell line**

Paul Briaud^{1,2} (paul.briaud@univ-lyon1.fr), Laura Camus^{1,2}, Sylvère Bastien^{1,2}, Anne Doléans-Jordheim³, François Vandenesch^{1,2,4}, Karen Moreau^{1,2}

¹CIRI INSERM U1111, Université Lyon1, Lyon, France

²CNRS UMR5308, Ecole Normale Supérieure, Lyon, France

³Institut des agents infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁴CNR des Staphylococques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Introduction and objectives:

Staphylococcus aureus (SA) and *Pseudomonas aeruginosa* (PA) are the two most commonly found bacteria in cystic fibrosis (CF) patient lungs. Couples of studies show that: (i) the co-colonization by these two bacteria are more severe than a single colonization (1) and (ii) SA and PA can be isolated from a same niche *in vivo* (2). Even though the early-infecting strains of PA are antagonist toward SA (3), up to 50% of CF patients are still co-colonized. It has been recently described that the late-infecting strains of PA are not able to out-compete SA and a coexistence interaction occurs (4). However, the impacts of PA on SA lifestyle in this co-existence state are not well understood yet. In this study, we decipher the impact of co-existing PA strains on the SA transcriptome and the phenotype alterations of SA lifestyle in coculture with PA. We also investigate the SA signaling pathways implicated in the dysregulations observed.

Materials and methodes:

One co-existing clinical strain pair SA2599/PA2600 and one competition strain pair SA2597/PA2596 from Lyon CF patient cohort have been mono or cocultivated for 8 hours and their RNAs extracted. An RNA sequencing has been performed at 4-hour time to obtain a list of differentially expressed genes specific to the coexistence interaction. These results have been confirmed on others 11 co-existing strain pairs by RT-qPCR. In addition, antibiotic (tetracycline and ciprofloxacin) resistances of SA in coculture with PA have been monitored as well as SA internalization within A549 pulmonary epithelial cell line.

Results, discussion and conclusion:

RNA-seq results and RT-qPCR confirmation show that *nor* genes family (*tet38*, *norA* and *norC*), implicated in antibiotic resistance as efflux pumps, are over-expressed due to an alteration of *mgrA* pathway. This leads to an increase of antibiotic resistance to tetracycline and ciprofloxacin in coculture as well as an increase of SA internalization within A549 cell line. Given together, these data point out that the coexistence state between PA and SA improve the antibiotic resistance and the internalization within cells of SA and may participate to infection outcome in CF patient lungs.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* - *Pseudomonas aeruginosa* - Cystic fibrosis - antibiotics - interaction.

Références :

1. Sagel SD, et al. (2009) Impact of *Pseudomonas* and *Staphylococcus* Infection on Inflammation and Clinical Status in Young Children with Cystic Fibrosis. *The Journal of Pediatrics* 154(2):183-188.e3.
2. Wakeman CA, et al. (2016) The innate immune protein calprotectin promotes *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* interaction. *Nature Communications* 7(1). doi:10.1038/ncomms11951.
3. Hotterbeekx A, Kumar-Singh S, Goossens H, Malhotra-Kumar S (2017) In vivo and In vitro Interactions between *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus* spp. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 7. doi:10.3389/fcimb.2017.00106.
4. Limoli DH, et al. (2017) *Pseudomonas aeruginosa* Alginate Overproduction Promotes Coexistence with *Staphylococcus aureus* in a Model of Cystic Fibrosis Respiratory Infection. *mBio* 8(2):e00186-17.

Adaptation de la méthode vapeur/PBS turbidité à l'étude de l'adhésion des bactéries anaérobies

Thibault Carlier (catherine.cailliez@univ-lorraine.fr), Lisiane Cunat, Alain Lozniewski, Corentine Alauzet, Catherine Cailliez-Grimal

Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

Introduction et objectifs :

Une nouvelle méthode de quantification de l'adhésion bactérienne basée sur un lavage vapeur et la resuspension des bactéries adhérees dans du PBS (« PBS turbidité ») a été mise au point et son efficacité par rapport à la technique de coloration par cristal violet a été démontrée sur certaines bactéries (Tasse et al., 2018). Notre objectif est de tester l'efficacité de la méthode PBS turbidité par rapport au cristal violet pour des bactéries anaérobies de l'espèce *Parabacteroides distasonis*.

Matériels et méthodes :

Les tests d'adhésion se font à partir d'une suspension bactérienne à un Mac Farland de $3 \pm 0,05$ (109 UFC/mL). Deux microplaques 6 puits en polystyrène, non traitées et apyrogènes, sont ensemencées à raison de 4 mL par puits. Les microplaques sont incubées à 37°C pendant 48 h. Les surnageants sont ensuite éliminés par retournement. Les puits sont ensuite lavés à la vapeur grâce à un bain-marie à 95°C pendant 40 minutes. Les mesures de DO, respectivement à 540 nm (cristal violet) et 490 nm (PBS turbidité) sont effectuées. Puis, les résultats d'adhésion de la méthode PBS turbidité sont obtenus par numération bactérienne et exprimés en UFC/puits.

Résultats, discussion et conclusion :

La répétabilité des techniques, cristal violet et PBS turbidité, montrent des valeurs d'erreur standard bien moins élevées avec la méthode PBS turbidité. Les tests d'adhésion sur support abiotique révèlent que les souches anaérobies testées sont capables de supporter la température de la vapeur émise ainsi que l'atmosphère aérobie durant le lavage. Les différentes souches de *P. distasonis* sont toutes capables d'adhérer à un support abiotique avec une certaine variabilité au sein de l'espèce. La prochaine étape sera de savoir s'il existe également des variations d'organisation de ces bactéries lors d'adhésion ou de formation de biofilm.

Mots clés : Parabacteroides - anaérobie - adhesion.

Références :

1. Tasse, J., Cara, A., Saglio, M., Villet, R., and Laurent, F. (2018). A steam-based method to investigate biofilm. Sci. Rep. 8.

Modifications métaboliques chez *Pseudomonas aeruginosa* en coexistence avec *Staphylococcus aureus*

Laura Camus¹ (laura.camus@inserm.fr), Paul Briaud¹, Sylvère Bastien¹, Anne Doléans Jordheim^{1,2}, Sylvie Elsen³, François Vandenesch^{1,2}, Karen Moreau¹

¹U1111 - Pathogénie des staphylocoques, CIRI - Inserm, Lyon, France

²Institut des Agents Infectieux, Lyon, France

³U1036, CEA - BIG, Grenoble, France

Objectifs et matériels :

Les poumons des patients atteints de mucoviscidose sont colonisés par de nombreux microorganismes dont les principaux agents d'intérêt clinique sont *Pseudomonas aeruginosa* (PA) et *Staphylococcus aureus* (SA). Selon la tranche d'âge, jusqu'à 40% des patients présentent une co-infection par ces deux bactéries. Différents modes d'interactions entre PA et SA se manifestent au cours de l'infection : les souches de PA peuvent soit inhiber la croissance du staphylocoque selon des mécanismes bien décrits, soit coexister durablement avec SA. Nous cherchons à comprendre comment cet état de coexistence affecte la physiologie de PA. Nous avons pour cela étudié l'expression génique et le métabolisme de 22 couples de souches PA/SA isolés d'expectorations de patients atteints de mucoviscidose et présentant cet état de coexistence.

Méthodes et résultats :

Les souches PA et SA de chaque couple ont été cultivées en monoculture et en coculture. L'expression génique chez PA après 4h de monoculture ou coculture a été évaluée par RNAseq (2 couples de souches) puis confirmée par RT-qPCR (22 couples). Les résultats obtenus montrent que la présence de SA modifie de manière importante le métabolisme de PA et l'utilisation des ressources nutritives. Chez 70% des souches de PA, la coculture avec SA induit une surexpression significative du système *aco*, impliqué dans le catabolisme de l'acétoïne. D'une part, les souches cliniques de SA ont présenté une forte production d'acétoïne, signal inducteur de la surexpression du système *aco* chez PA. D'autre part, un catabolisme de l'acétoïne a été observé chez les souches cliniques de PA, particulièrement en coexistence avec SA. Enfin, l'utilisation de mutants du système *aco* a permis de mettre en évidence que le catabolisme de l'acétoïne par PA favorise la survie des deux bactéries dans un milieu appauvri.

Conclusions :

Nos résultats indiquent que la coexistence avec SA induit une surexpression du système *aco* chez PA, lui permettant de cataboliser l'acétoïne produit par le staphylocoque. L'acétoïne, source de carbone alternative pour PA et impliquée dans la résistance au stress acide chez SA, pourrait favoriser la persistance des deux bactéries dans les poumons des patients atteints de mucoviscidose.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa* - *Staphylococcus aureus* - Mucoviscidose - Interactions - Acétoïne.

Colony variation in *Klebsiella pneumoniae* reveals spontaneous capsule loss

Adriana Chiarelli¹ (adriana.chiarelli@pasteur.fr), Nicolas Cabanel¹, Remy Bonnin^{1,2}, Philippe Glaser¹

¹Département de Microbiologie, Unité EERA (Institut Pasteur, APHP), Paris, France

²EA7361, NRC for antibiotic resistance, Le Kremlin Bicêtre, France

Background and objectives:

Klebsiella pneumoniae (Kp) is a leading cause of intractable multidrug-resistant (MDR) infections in hospitals. Most of the Kp clinical isolates produce capsule (CPS) as a major virulence factor. Extensive recombination events at the CPS locus are frequent and responsible for capsule diversity in *Klebsiella* spp. CPS diversity may also occur within the same bacterial population, referred as capsule switching from capsular (CPS+) to acapsular (CPS-) variant. This phenotypic switching can induce colony variants, i.e. mucoid and non mucoid. However, little is known about the mechanism behind. Our objectives were to characterize heterogeneous populations of CPS+ and CPS- among eight carbapenemase-producing Kp (CPKp) strains and to study events causing spontaneous CPS reduction or loss, their frequency and to characterize the colony variants.

Methods:

Colony variants were distinguished by their morphology. Whole genome comparison was used to infer mutations causing phenotypic differences in 51 CPS- isolates. CPS was quantified by uronic acid assay and visualized by India Ink staining. The frequency of CPS switching on Tryptic-Soy agar (TSA) was determined. Antimicrobial susceptibility testing (AST), biofilm and autoaggregation assays were performed to unveil putative differences in resistance.

Results and conclusion:

Spontaneous loss or reduction of CPS most frequently results of point mutations and IS elements hopping into essential genes for capsule synthesis. Frequency of mutations on plates was strain-dependent and increased over incubation time on plate. Little or no capsule was produced by the CPS- variant according to the mutation. Phenotypic differences, including carbapenem susceptibility, *in vitro* biofilm formation and autoaggregative properties were observed between variants and the original strain. As the colony opacity differences in stored isolates may go undetected, researchers might unconsciously work with mixed populations. This could be problematic for many studies, especially those involving virulence and resistance.

Mots clés : K.pneumoniae - Capsule - Switching.

Whole-Genome Sequencing of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: application for *in silico* IS900-analysis

Cyril Conde¹ (franck.biet@inra.fr), Maxime Branger¹, Thierry Cochard¹, Karen Stevenson², Franck Biet¹

¹ISP UMR1282 INRA Centre Val de Loire, INRA, Nouzilly, France

²Moredum Research Institut, Midlothian EH26 OPZ, Royaume-Uni

Introduction and objectives:

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* (*Map*) is the etiological agent of paratuberculosis or Johne's disease that causes chronic intestinal inflammation in ruminants. The IS900 insertion sequence, specific for *Map*, has been used widely as an epidemiological marker and target for qPCR diagnosis. Thanks to the development of sequencing technologies, the number of available *Map* genomes is increasing rapidly, which makes it possible to analyze the distribution of IS900 in this very slow-growing bacterium. The objective of this study was to use bioinformatics approaches to study IS900 distribution in the genomes of *Map* strains and to develop automated *in silico* IS900 restriction fragment length polymorphism (IS900-RFLP) analysis.

Materials and methods:

The complete genomes of the strains K-10, Telford and JII-1961 were chosen to cover the genetic diversity of *Map* divided into two strain types, S and C, according to the phylogeny of this species. Computer analysis included software located IS900 using BLAST and determined fragments from complete genome (FASTA) using BioPython. Digital representation was provided using matplotlib. Profile comparisons were carried out using Bionumerics software.

Results, discussion and conclusion:

The program developed in this study allowed automated location of IS900 sequences to identify their positions and their number. Between 17 to 22 copies of the IS900 sequence were found in the genomes studied. An *in silico* RFLP analysis was developed using complete genomes. This procedure utilised the *Bst*EII restriction site conventionally used for *Map* to obtain the exact size of the DNA fragments carrying a copy of the IS900 sequence. IS900 RFLP profiles were compared using fragment sizes or by digital visualization of the restriction fragments separated according to their size by mimicking their migration in agarose gel. These digital profiles were compared to the many existing profiles in the literature. This study provided a program making it possible to automate IS900 distribution analysis in *Map* genomes to enrich our knowledge on the dynamics of distribution of this IS for epidemiological purposes, for understanding the evolution within the *Map* species and studying the biological implication of the presence of IS900.

Mots clés : Mycobacterium - Paratuberculosis - Insertion Sequence - Evolution - Genomic.

Epithelial to mesenchymal transition in response to *E. coli*-induced senescence-associated secretory phenotype induced chemotherapeutic drug resistance

Guillaume Dalmasso¹ (guillaume.dalmasso@uca.fr), Tiphane Faïs^{1,2}, Antony Cougnoux¹, Nicolas Barnich¹, Julien Delmas^{1,2}, Richard Bonnet^{1,2}

¹Inserm U1071, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

²Bactériologie, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

Background and aims:

Colorectal cancer (CRC) tumors are highly colonized by *Escherichia coli*. Interestingly these *E. coli* frequently possess the *pks* genomic island (*E. coli pks*) responsible for the synthesis of a not yet purified genotoxic compound named colibactin. Colibactin-producing *E. coli* increase the number of tumors and promote invasive carcinoma in CRC mouse models. It has been shown that *pks E. coli*-infected cells secrete growth factors responsible for proliferation of uninfected cells. Epithelial to mesenchymal transition (EMT), as first described in embryonic development, results in the transition of epithelial (E) cells to cells with a mesenchymal (M) phenotype. EMT plays important roles in cancer progression from primary tumor growth, invasion, dissemination and metastasis as well as in resistance to therapy. We investigated whether *pks E. coli*-infected cells induce, through their secretions, EMT in uninfected cancer cells.

Methods:

Human intestinal epithelial cells HT29 were infected using a *pks E. coli* strain isolated from a human CCR biopsy or its isogenic mutant unable to produce colibactin ($\Delta pks E. coli$). 5-days post-infection, conditioned media (CM) were collected and used to stimulate uninfected cells. EMT markers were analyzed by Western blot and qRT-PCR. Cell motility was assessed by scratch tests and drug sensitivity assays were performed *in vitro* and in a xenograft mouse model.

Results and conclusion:

We found that CM derived from *pks E. coli*-infected cells induced EMT in recipient uninfected cells. This was characterized by an increase of Zeb1 and Snail transcription factors involved in EMT, an increase of the mesenchymal marker vimentin and a decrease of the epithelial marker E-cadherin. Furthermore, wound healing was greater in cells receiving CM derived from *pks E. coli*-infected cells. Importantly, EMT led to an increase of resistance of chemotherapeutic drugs 5-fluorouracil and irinotecan. Finally, when cells treated with CM derived from *pks E. coli*-infected cells were engrafted to nude mice, they exhibited a higher resistance to irinotecan compare to cells treated with CM derived from $\Delta pks E. coli$ -infected cells. In conclusion, our work demonstrates that colibactin-producing *E. coli* might increase the severity of CCR by inducing EMT which leads to chemotherapeutic drug resistance.

Mots clés : Colorectal cancer - *E. coli* - EMT - *pks* - Drug resistance.

Genomic insight into non-canonical Coxiellaceae symbionts of free-living amoebae

Vincent Delafont (vincent.delafont@univ-poitiers.fr), Willy Aucher, Bouziane Moumen, Didier Bouchon

Ecologie et Biologie des Interactions, Université de Poitiers, Poitiers, France

Introduction and objectives:

The Coxiellaceae designates a bacterial family that only comprises bacteria thriving intracellularly within eukaryotic hosts. Coxiellaceae are mostly known because of the pathogenicity of one species, namely *Coxiella burnetii*, the etiological agent of the Q fever (1). It has been recently highlighted that Coxiellaceae, as a family of the order Legionellales, stands as a dramatically under-explored clade, even though they are found in various environments (2). Several recent lines of evidence suggest that free-living amoebae (FLA) could harbor numerous Coxiellaceae symbionts, although genomic information remains scarce (3,4). In this study, we sampled FLA in order to isolate additional Coxiellaceae and sequence their genomes. We focused on marine environments, as there is a total lack of Coxiellaceae isolates characterized from this biome.

Material and methods:

Various free-living amoebae were sampled from saline environments, isolated and subcultured. The presence of intracellular Coxiellaceae was investigated using a combination of fluorescent in situ Hybridization, 16S rRNA gene sequencing and transmission electron microscopy. FLA cultures were maintained in laboratory conditions and bacterial symbionts were purified for genome sequencing using the Illumina MiSeq platform.

Results, discussion and conclusion:

To this date, two new isolates of free-living amoebae were characterized, originating from sediments of the Elba island, and from deep Atlantic Ocean (465 m). These amoebae, while isolated from distant sites, belong to the same species, namely *Paramoeba atlantica*. Both isolates bore intracytoplasmic bacteria as shown by microscopy. Sequencing of the 16S rRNA gene sequence confirmed their affiliation to the Coxiellaceae family, indicating they represent new deeply-branched clades. These Coxiellaceae symbionts were purified, in addition to another previously characterized one, *Cochliophilus cryoturris* (Tsao et al. 2017). Genome sequencing was performed, and their analyses will uncover the conserved and original features of these isolates, enabling as well more detailed phylogenomics positioning. Overall, this study contributes to explore understudied bacterial clades (i.e. Microbial Dark Matter) that remain fastidious to isolate, cultivate, and characterize, thus challenging traditional microbiological approaches.

Mots clés : Free-living Amoebae - Endosymbionts - Intracellular bacteria - Coxiellaceae - Microbial Dark Matter.

Références :

1. Duron O, Doublet P, Vavre F et al. The Importance of Revisiting Legionellales Diversity. Trends Parasitol 2018;0, DOI: 10.1016/j.pt.2018.09.008.
2. Graells T, Ishak H, Larsson M et al. The all-intracellular order Legionellales is unexpectedly diverse, globally distributed and lowly abundant. 2018:1–14.
3. Mehari YT, Jason Hayes B, Redding KS et al. Description of ‘Candidatus Berkiella aquae’ and ‘Candidatus Berkiella cookevillensis’, two intranuclear bacteria of freshwater amoebae’. Int J Syst Evol Microbiol 2016;66:536–41.
4. Tsao H-F, Scheickl U, Volland J-M et al. ‘Candidatus Cochliophilus cryoturris’ (Coxiellaceae), a symbiont of the testate amoeba Cochliopodium minus. Sci Rep 2017;7:3394.

Comprendre le mécanisme d'internalisation de *Staphylococcus aureus* pour définir une nouvelle voie thérapeutique

William Mouton¹ (william.mouton@chu-lyon.fr), Daniel Bouvard², Sophie Trouillet-Assant¹, Jérôme Josse^{1,3}, Frédéric Laurent^{1,3,4}, Alan Diot¹

¹Equipe «Pathogénie des Staphylocoques», CIRI, Lyon, France

²Institut Albert Bonniot, Grenoble, France

³ISPB - Faculté de Pharmacie, Lyon, France

⁴CNR des Staphylocoques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Introduction :

Staphylococcus aureus (SA) est un pathogène opportuniste responsable d'infections ostéo-articulaires (IOA). Ces infections présentent un fort taux de rechutes (10-20%) dues principalement à la formation de biofilm et à l'internalisation par des cellules phagocytaires non professionnelles, comme les ostéoblastes. Les SA intracellulaires sont protégés des antibiotiques et du système immunitaire. Bien que de nombreuses études se soient intéressées à la voie d'internalisation de SA, celle-ci reste encore mal connue, à l'exception de l'interaction intégrine $\beta 1$ (cellule) – fibronectine – FnBP (SA), et de l'implication de Src. La cavéoline a été impliquée dans la régulation négative de ce processus. Notre objectif est de contribuer à la compréhension de cette voie pour définir un nouvel axe thérapeutique des infections chroniques dues à SA.

Matériels et méthodes :

L'internalisation de SA 8325-4 et son mutant isogénique incapable d'internaliser (8325-4 Δ fnbAB) par des ostéoblastes murins (OB $\beta 1$) a été étudiée avec un test de protection à la gentamicine. Des cellules mutées pour l'intégrine $\beta 1$, Src et la cavéoline ont été utilisées, ainsi que des inhibiteurs pharmacologiques ciblant Src et le trafic des radeaux lipidiques (Primaquine).

Résultats :

Nous avons confirmé l'importance de l'interaction intégrine $\beta 1$ -Fibronectine-FnBP et d'une activité de Src pour le processus d'internalisation. Nos résultats indiquent que le trafic des radeaux lipidiques joue également un rôle important dans ce mécanisme. Dans les ostéoblastes murins, la cavéoline ne semble pas avoir de rôle de régulateur négatif. Cependant, dans un contexte où l'intégrine $\beta 1$ est invalidée, inhibant l'internalisation et perturbant la distribution des radeaux lipidiques, la perte de la cavéoline permet de restaurer partiellement ces 2 phénotypes.

Conclusions :

Nos résultats confirment l'importance de l'interaction intégrine $\beta 1$ -fibronectine-FnBP et de Src et montrent l'importance du trafic des radeaux lipidiques dans l'internalisation dans les ostéoblastes. Cependant, nous suggérons que l'intégrine $\beta 1$ n'est pas essentielle à ce processus et que son rôle pourrait être d'assurer le trafic efficace et précis de la machinerie nécessaire à l'internalisation de SA. Ceci pourrait impliquer le repositionnement de molécules ciblant le trafic cellulaire des radeaux lipidiques ou l'organisation lipidique des membranes dans la lutte contre la chronicisation des IOA dues à SA.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* - internalisation - signalisation - trafic membranaire.

Group B streptococcus virulence is partly governed by the regulator, Rex, a sensor of NAD/NADH ratio

Thierry Franza¹ (thierry.franza@inra.fr), Annika Rogstam², Aurélie Derré-Bobillot¹, Glenn Ulett³, Violette Da Cunha⁴, Philippe Glaser⁴, Claes Von Wanchenfeldt², [Philippe Gaudu](#)¹

¹INRA, Jouy en Josas, France

⁵Lund University, Lund, Suède

³Griffith University, Queensland, Australie

⁴Institut Pasteur, Paris, France

Introduction:

Streptococcus agalactiae (Group B streptococcus) is a Gram-positive opportunistic bacterium, which colonizes asymptotically different hosts, in particular humans, cows and fishes. However, GBS can be virulent and trigger different physiopathologies from septicemia up to death of the host [1]. We are deciphering the regulation of GBS carbon metabolism in the transition from commensal to pathogen. Carbon metabolism allows cells to produce energetic metabolites (ATP, NADH), which are essential for cellular processes including production and release of extracellular virulence factors. In bacteria, carbon metabolism is highly sensitive to NAD/NADH ratio as it depends on dehydrogenases: glyceraldehyde dehydrogenase, respiratory chain dehydrogenase [2], lactate dehydrogenase, and pyruvate dehydrogenase [3], which use NAD(H) as a substrate. In Gram-positive bacteria, variation of NAD/NADH ratio is detected by transcriptional regulators of the Rex family. Rex regulator is usually a repressor when the NADH pool is maintained low via central metabolism activity, and it is assumed to control expression of genes linked to redox balance. The GBS NEM316 genome encoded a single Rex-like protein (Gbs1167) [4]. We constructed a *rex* mutant to characterize its role in GBS physiology and virulence.

Methods:

We constructed a *rex* mutant by double recombination event in GBS strain NEM316. We compared RNA pool between the mutant and the wild type strain to determine genes under the Rex Control. In parallel, we injected the wild type strain and the *rex* mutant (10⁶ bacteria) in bloodstream route in a mouse model to determine the contribution of Rex regulon in virulence by quantifying the colonization in different tissues and lethality.

Results, discussion and conclusion:

GBS Rex regulator controls several genes linked to central metabolism (sugar transporters, lactate dehydrogenase) but also to potential extracellular virulence factors (haemolysins, nuclease). A *rex* deletion attenuated virulence in the mutant and decreased its capacity to colonize some tissues like heart compared to the wild-type strain. This study characterizes a new actor in GBS virulence and highlights importance of central metabolism in streptococcus pathogenicity.

Mots clés : central metabolism - NAD/NADH ratio - *Streptococcus agalactiae* - Rex.

Références :

1. Patras KA, Nizet V. 2018. Group B Streptococcal Maternal Colonization and Neonatal Disease: Molecular Mechanisms and Preventative Approaches. *Front Pediatr.* 22:6-27.
2. Lencina AM, Franza T, Sullivan MJ, Ulett GC, Ipe DS, Gaudu P, et al. 2018. Type 2 NADH Dehydrogenase Is the Only Point of Entry for Electrons into the *Streptococcus agalactiae* Respiratory Chain and Is a Potential Drug Target. *MBio.* 9(4). pii: e01034-18.
3. Yamamoto Y, Pargade V, Lamberet G, Gaudu P, Thomas F, Texereau J, et al. 2006. The Group B *Streptococcus* NADH oxidase Nox-2 is involved in fatty acid biosynthesis during aerobic growth and contributes to virulence. *Mol Microbiol.* 62:772-85.
4. Glaser P, Rusniok C, Buchrieser C, Chevalier F, Frangeul L, Msadek T, et al. 2002. Genome sequence of *Streptococcus agalactiae*, a pathogen causing invasive neonatal disease. *Mol Microbiol.* 45:1499-513.

Exploring the virulence pattern and antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated from diarrheal stool in Benin

Olivia Houngbégnon¹ (oliviahoungbegnon@yahoo.fr), Victorien Dougnon¹, Patricia Mariani-Kurkdjian², Honoré Bankolé¹

¹Unité de Recherche en Microbiologie Appl, Ecole Polytechnique d'Abomey-calavi, Abomey-Calavi, Bénin

²Microbiologie, CNR associé *E.coli*, Paris, France

Introduction and objectives:

Escherichia coli is a commensal aerobic bacterium of the warm-blooded animal intestinal microbiota. However, *E.coli* can become pathogenic through the acquisition of mobile genetic elements such as bacteriophages, pathogenicity islands and plasmids. The objective of this study was to characterize *E.coli* isolates in order to look for the presence of Shigatoxin producing *E.coli* virulence genes.

Material and methods:

A collection of 100 *E.coli* strains originally isolated from children's diarrheal stools were studied. They belonged to determined and undetermined serogroups identified by an agglutination test using latex *E.coli* O157(Oxoid), Dry Spot Kit *E.coli* Seroscreen(Oxoid) and kits Dry Spot *E.coli* Serocheck (O26, O103, O111, O128, O145) complying with the manufacturer's instructions. The strains were characterized for five intestinal virulent genes (*stx1*, *stx2*; *eae*, *ehxA* and *saa*) through a multiplex PCR. The characterization was supplemented by a survey of the antibiotic-resistance of these strains.

Results, discussion and conclusion:

Among the studied virulence genes, only the intimine coding gene, *eae* gene was found in a proportion of 9%. The detection of *eae* gene reveals the virulence power of some of the isolated strains inducing attaching and effacing lesions on host cells. It also shows a possible presence of enteropathogenic *E.coli* strains. However, beyond PCR-*eae*, the probe of bundle forming pili was not considered in this study for a definite diagnosis of enteropathogenic *E.coli*. Otherwise, positive-*eae* strains found in this study may be representative of Shigatoxin producing *E.coli* clones having lost their *stx* genes encoded by phages. This is the case of *E.coli* EH6678 species not carrying *stx1* in which *eae* gene has been highlighted. Moreover, *E.coli* strains show higher resistance to Ampicillin 82%, Tetracyclin 79%, Trimethoprim Sulfamethoxazol 77%, Amoxicillin+Clavulanic acid 75% and strong sensitivity to Imipenem. By way of conclusion, the positive *eae*-isolation of *E.coli* implies that this pathogen is an important etiology of gastroenteritis in Benin.

Mots clés : virulent genes - *Escherichia coli* - Antibiotics-resistance - Benin.

Caractérisation d'une nouvelle structure de surface de type « chaperone-usher » impliquée dans la pathogénicité de *Klebsiella pneumoniae*

Laura Joseph (laura.joseph@uca.fr), Christiane Forestier, Aurea Lavergne, Damien Balestrino

LMGE - UCA, UMR CNRS 6023, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Klebsiella pneumoniae est une enterobactérie pathogène opportuniste responsable d'infections liées aux soins. Sa capacité à coloniser le tractus digestif de l'hôte et à former des biofilms sur les dispositifs médicaux sont des éléments clés de sa pathogénicité. Dans le cadre d'infections liées aux biofilms, le processus de dispersion des biofilms est également un mécanisme important car il permet la libération dans l'organisme de bactéries ayant une pathogénicité augmentée comparativement aux formes planctoniques, avec notamment une capacité de colonisation accrue des surfaces abiotiques et biotique. Plusieurs structures de surface impliquées dans les processus d'adhésion des bactéries ont été décrites, dont des structures de type « chaperone-usher » (CU) telles que les fimbriae de type 1 et 3. Une analyse *in silico* du génome de la souche de *K. pneumoniae* LM21 a permis d'identifier une structure potentielle de type CU, spécifique de cette espèce. L'objectif de ce travail est sa caractérisation d'un point de vue fonctionnel, avec notamment l'analyse de son implication dans les phénomènes d'adhésion, ainsi que de son rôle dans le processus infectieux *in vivo*.

Une analyse par RT-qPCR a montré que l'expression de l'opéron codant cette structure CU est augmentée significativement dans les bactéries dispersées de biofilm, comparativement aux bactéries planctoniques. Une augmentation de l'expression de cet opéron a également été observée en présence de sels biliaire et à pH acide (pH 4,5), deux conditions rencontrées par la bactérie lors du processus physio-pathologique (i.e. colonisation tractus digestif et urinaire).

Chez la souche sauvage de *K. pneumoniae*, la présence de sels biliaires stimule la formation de biofilm et l'adhésion aux cellules épithéliales eucaryotes. Ce phénomène n'a pas été observé chez le mutant isogénique déficient dans l'expression de cette structure CU, alors que la trans-complémentation de ce mutant restaure l'effet des sels biliaires.

L'ensemble de ces données suggère que cette structure CU a un rôle important dans la colonisation des surfaces par *K. pneumoniae*. L'analyse du comportement du mutant isogénique et de souches hétérologues surexprimant cette structure dans des modèles d'infection *in vivo* permettra de déterminer le rôle précis de ce facteur d'adhésion dans le processus infectieux de *K. pneumoniae*.

Mots clés : *Klebsiella pneumoniae* - Chaperone/usher - biofilm - adhésion cellulaire - colonisation.

Attrition, deaths and treatment therapy coverage on the TB chemotherapy in the Littoral Region of Cameroon: A meta-analysis of cure rate between 2014 and 2016

Dorgelesse Francine Antoinette Kouemo Motse¹ (kouemofrancine@yahoo.fr),
Jules Clament Assob Nguedia²

¹*Bactériologie et virologie, université de Buea/Hôpital gyneco obstet, Douala, Cameroun*

²*Professeur agrégé en Biochimie clinique, université de Buea, Buea, Cameroun*

Background:

Tuberculosis (TB) represents a big challenge to health and development of resources-constrained countries especially in Cameroon.

Methods:

Data from 2014-2016 on the outcome of anti TB treatment in the Littoral Region were analyzed using meta-analysis. The rates of treatment success (TS) and treatment failure (TF) were the primary outcomes used in the study. The I² statistics was computed to orientate the choice of the best statistical model (binary fixed effect or random) to compute pooled value of TS and TF. Chi-square test was used to compare the anti-TB therapy cure rates between HIV-positive and HIV-negative individuals with regard to the year of follow-up.

Results:

Using an intention-to-treat analysis, the pooled proportions of HIV-uninfected TB patients successfully cured from TB were low and slightly decreased between 2014 and 2016 ranging from 79% (95%CI: 73%-85%) to 78% (95%CI: 72%-84%). These cure rates were strongly and negatively correlated with the rates of patients lost to follow-up regardless to the year. In HIV-infected patients, the pooled values ITT analysis-based treatment success were 73%, 71% and 68% respectively. The rates of coverage with both cotrimoxazole (CTX) and antiretroviral (ARV) therapy have both gradually increased over year ranging from 70.98% in 2014 to 94.17% in 2016 and for ARV therapy it was 60.06% in 2014 against 90% in 2016. A positive and statistically significant correlation was found the coverage rates with CTX and ARV and the success of the anti-TB therapy in HIV-infected patients.

Conclusion:

An improvement in the reduction of percentage of lost to follow-up and CTX and ARV therapy coverage could greatly the chances to efficiently control TB in Cameroon.

Mots clés : Tuberculosis, - anti TB therapy outcomes, - loss to follow-up - loss to follow-up - antiretroviral therapy.

Imagerie de virus et bactéries infectieux par Microscopie à Force Atomique L3

Sébastien Lyonnais (sebastien.lyonnais@cemipai.cnrs.fr), Nathalie Gros, Mathilde Hénaut, Rayane Dibsy, Rémi Muller, Aymeric Neyret, Christine Chable-Bessia, Delphine Muriaux

UMS3725 CEMIPAI, CNRS - Univ. Montpellier, Montpellier, France

Introduction et objectifs :

Chaque étape du cycle de vie d'un agent pathogène peut générer des modifications structurales, morphologiques et mécaniques lui permettant d'être ou devenir infectieux. Dans ce contexte, la nouvelle génération de microscopes à force atomique (AFM) optimisés pour la biologie (Bio-AFM) se positionne comme un outil particulièrement performant pour explorer ces aspects, en permettant d'accéder à la morphologie des virus et des bactéries et à leurs propriétés mécaniques à l'échelle nanométrique, au niveau de l'entité unique. Les technologies les plus récentes permettent désormais le couplage d'un AFM à un microscope optique à fluorescence pour imager et analyser virus, bactéries et cellules infectées non fixés, dans un milieu physiologique, avec des résolutions temporelles de plus en plus rapides.

Matériel et méthodes :

Nous avons installé en 2018 un combiné bio-AFM dans le laboratoire de biosécurité de niveau 3 de la plateforme régionale CEMIPAI, en complément d'un nanoscope équipé pour l'imagerie de super-résolution en PALM/STORM d'échantillons vivants. Nous présenterons dans cette communication la customisation de cet AFM pour l'imagerie en L3, qui en fait un instrument unique en Europe pour de l'imagerie de virus et bactéries pathogènes de classe 3.

Résultats, discussion et conclusion :

Nous montrerons plusieurs exemples d'imagerie topographique et quantitative (élasticité, module de Young, adhésion) par AFM et imagerie optique de virus pathogènes non fixés (VIH, Chikungunya, H1N1, Zika), bactéries (*Brucella*) et cellules infectées productrices de virus; montrant les perspectives uniques de ces dernières technologie pour apporter des informations nouvelles sur cycle de vie des agents pathogènes et des mesures biophysiques jusqu'alors inaccessibles.

Mots clés : virus - bactérie - microscopie - super-résolution - AFM.

Targeting the mycobacterial cell envelope

Hedia Marrakchi (hedia.marrakchi@ipbs.fr)

IPBS CNRS, Toulouse, France

Mycobacteria possess a very thick lipid-rich envelope, which typically contains very long-chain fatty acids called mycolic acids. These lipids are specific to mycobacteria and crucial for the architecture and low permeability of the mycobacterial envelope, which is partly responsible for the natural resistance of mycobacteria to antibiotics. The biosynthesis of these exceptionally long fatty acids is essential for the survival and pathogenicity of the tubercle bacillus, thus providing opportunities to target numerous enzymes of this metabolic pathway. In this work, we illustrate the characterization of *Mycobacterium tuberculosis* enzymes in the pathway and the strategy leading to their exploitation as promising targets. Novel alternative approaches to target the cell envelope, notably through identification and inhibition of metabolic complexes, will be presented.

Mots clés : *Mycobacterium tuberculosis* - cell envelope - anti-tuberculous target - functional complex.

Etude des associations d'antibiotiques chez les souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de B-lactamases à spectre étendu « BLSE » isolées au centre de lutte contre le cancer Batna, Algérie

Amina Messala¹ (amina.messala@yahoo.fr), Nasma Farah Alloui², Nouha Bachir², Nesrine Bazizi², Ahmed Kassah-laouar³

¹ Microbiologie, Faculté de médecine, Batna, Algérie

² Département de pharmacie, Batna, Algérie

³ Faculté de médecine, Batna, Algérie

Introduction et objectifs :

Les infections à *Klebsiella pneumoniae* productrices de β -lactamases à spectre étendu représente une cause importante de morbidité et de mortalité en milieu hospitalier.

La consommation croissante d'antibiotiques reflète l'intérêt de ces molécules pour traiter et prévenir les infections humaines, en particulier les bactériémies chez l'immunodéprimé. L'évolution lente, progressive et préoccupante de nombreuses espèces bactérienne vers la résistance influe sur la thérapeutique et nécessite l'association des antibiotiques d'où vient l'idée de la réalisation de ce travail dont les objectifs sont :

- Evaluer les différentes associations d'antibiotiques sur les souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE.
- Cerner les associations d'ATBs les plus synergiques et bactéricides possibles.

Matériels et méthodes:

Dilution en milieu liquide selon le schéma triangulaire, réalisée sur 10 souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE .

Résultats, discussion et conclusion:

Au terme de ce travail on a conclu que l'association de la colistine avec d'autres antibiotiques comme l'augmentin, l'amikacine, la ciprofloxacine, la gentamicine, l'ertapénème et l'imipénème présente une grande efficacité thérapeutique.

Cependant de nombreux antibiotiques et leurs associations disponibles contre ces infections deviennent de plus en plus inefficaces comme l'association de l'imipénème avec l'ofloxacine qui a une efficacité faible à intermédiaire.

Ces résultats permettent d'optimiser le traitement chez les malades et de bien améliorer la gestion des antibiotiques.

Mots clés : Résistance bactérienne - BLSE - Associations d'antibiotiques - *Klebsiella pneumoniae*.

Corruption of Host Cell biomechanics by invasive pathogens

Serena Petracchini^{1,2} (serena.petracchini@gmail.com), Amel Mettouchi^{1,3}, Emmanuel Lemichez^{1,3}

¹Bacterial toxins unit, Institut Pasteur, Paris, France

²Ecole doctorale, BioSPC, Paris, France

³ERL6002, CNRS, Paris, France

Introduction and objectives:

Uropathogenic *E. coli* (UPEC) are responsible of frequent acute or recurrent urinary tract infections associated with tissue inflammation and damages, through bladder colonization and cell invasion. A large number of UPEC strains are able to produce the Cytotoxic Necrotizing Factor 1 (CNF1), an AB-like toxin that induces the permanent activation of small Rho GTPases as Rac1, a key regulator of actin-related processes.

UPEC actively invade cells thanks to the expression of CNF1 and FimH- type I pilus adhesin that recognizes mechanosensitive receptors spanning the cell membranes: integrins. Integrins actively respond to strain variation of the extracellular matrix (ECM) through outside-in and inside-out signaling. The cross-talk between forces exerted by bacterial FimH receptors and those triggered by integrins is poorly documented, while it sets the stage of invasion of cells by UPEC.

Materials and methods:

Our research is focused on understanding how CNF1 and bacteria hijack cellular forces at early stages of cell invasion, using human primary endothelial cells (Huvecs) and the strain UTI89, isolated the first time in a patient subjected to cystitis.

Results, discussion and conclusions:

Our results are showing the involvement of CNF1 in the first steps of bacterial invasion, as well as its dependence on Rac1 activity. We also show the involvement of integrin in both adhesion and invasion, while the mechanism beside the last has still to be understood.

Mots clés : CNF1 toxin - UPEC - integrins.

Distal Immunomodulatory effects of *Lactobacillus plantarum* on inflammatory response induced by *Klebsiella pneumoniae*

Sylvie Miquel¹ (sylvie.miquel@uca.fr), Marjolaine Vareille-Delarbre², Sophie Garcin², Laurence Nakusi¹, Damien Balestrino¹, Christiane Forestier¹

¹UMR CNRS 6023 LMGE, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

²INRA, UNH, Unité de Nutrition Humaine, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Introduction and objectives:

Some respiratory infections have been associated with dysbiosis of the human intestinal microbiota. Crosstalk between intestinal microbiota and local immune cells could influence the immune response at distal mucosal sites and thus oral supplementation with exogenous beneficial bacteria could enhance respiratory defences toward pathogens. In this study, we examined the effect of the beneficial strain *Lactobacillus plantarum* CIRM653 on the inflammatory response induced by *Klebsiella pneumoniae* *in vivo* and *in vitro*.

Material, method and results:

Oral administration of *L. plantarum* CIRM653 to mice subsequently infected by *K. pneumoniae* via the nasal route reduced the pulmonary inflammation response, with decreased numbers of lung immune cells (macrophages, and neutrophils) and cytokines (KC, IL-6 and TNF- α) in the bronchoalveolar fluid. *In vitro* co-incubation of *L. plantarum* CIRM653 and *K. pneumoniae* with human dendritic cells and peripheral blood mononuclear cells resulted in decreased Th1 (IL-12p70; IFN- γ) and Th17 (IL-23, IL-17) and increased Treg (IL-10) cytokine levels compared to those observed with *K. pneumoniae*-infected cells. Neither *K. pneumoniae* nor *L. plantarum* CIRM653 had any effect on cytokine production by intestinal epithelial cells *in vitro*, but the induction of NF- κ B pathway and IL-8 and IL-6 production by *K. pneumoniae* in airway epithelial cells was significantly reduced when the pathogen was co-incubated with *L. plantarum* CIRM653.

Conclusion:

The remote modulation of *K. pneumoniae* inflammatory response by *L. plantarum* CIRM653 observed in this study supports the concept of immunomodulation by beneficial bacteria through the gut-lung axis.

Mots clés : *Klebsiella pneumoniae* - immune response - *Lactobacillus plantarum* - gut-lung axis.

Contribution du canal CFTR à la susceptibilité des embryons de poisson-zèbre à l'infection par *Pseudomonas aeruginosa* et développement d'une nouvelle stratégie antivirulence

Malika Moussouni¹ (malika.moussouni@umontpellier.fr), Eric Vives^{2, 2}, Anne Blanc-Potard³

¹ Université de Montpellier, UMR5235-Laboratoire LPHI, Montpellier, France

² UMR5237-CRBM, Montpellier, France

³ CNRS, UMR5235-Laboratoire LPHI, Montpellier, France

Objectifs:

La mucoviscidose, provoquée par des mutations récessives au niveau du gène *cftr*, est associée à des infections pulmonaires chroniques à *Pseudomonas aeruginosa* (PA). Bien que considérée comme bactérie extracellulaire, des études récentes ont mis en évidence l'importance d'une étape intracellulaire, notamment intramacrophagique, dans la pathogenèse de PA. Plusieurs études indiquent que ce canal CFTR joue un rôle dans l'activité bactéricide des macrophages. Le poisson zèbre (*Danio rerio*) est un organisme modèle de choix pour étudier les interactions hôte-bactérie, qui exprime un canal CFTR fonctionnellement similaire au CFTR humain. Notre objectif est de mieux comprendre le lien entre CFTR et l'action bactéricide des macrophages contre PA en tirant parti du modèle d'infection poisson-zèbre. De plus, nous développons une stratégie antivirulence qui cible un facteur bactérien impliqué dans la survie intramacrophagique.

Matériels et méthodes :

Des embryons de lignée *cftr* *-/-* ou sauvage (WT) sont injectés avec des bactéries PAO1 (WT) ou des mutants de PA déficients pour la survie intramacrophagique. Des expériences sont également effectuées sur des embryons déplétés en macrophages. L'effet d'un peptide synthétique, MgtR, connu pour son effet antagoniste sur le facteur de virulence MgtC, est testé sur la capacité de PAO1 à survivre dans des macrophages en culture et dans des embryons de poisson-zèbre infectés.

Discussion et conclusion :

Les embryons de poisson zèbre dépourvus de CFTR sont plus susceptibles à l'infection par la souche PAO1 et présentent une charge bactérienne plus élevée que les embryons contrôles. Un mutant dont la déficience en survie intramacrophagique a été décrite, est atténué dans l'embryon de poisson-zèbre et les résultats préliminaires indiquent que cette atténuation est partiellement supprimée chez les embryons *cftr* *-/-*. Fait important, le peptide synthétique MgtR réduit la capacité de PA à survivre dans les macrophages. En utilisant pour la première fois des embryons de poisson-zèbre *cftr* *-/-* comme modèle d'infection, nous avons montré l'implication du CFTR dans la sensibilité à PA. De plus, nous avons identifié un peptide qui réduit la survie intramacrophagique de PA, fournissant ainsi la base d'une nouvelle stratégie antivirulence.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa* - mucoviscidose - facteurs de virulence.

Virulence augmentée de *Pseudomonas aeruginosa* résistant aux carbapénèmes par modification de la porine OprD sur l'épithélium des voies aériennes humaines

Anaëlle Muggeo^{1,2} (anaelle.muggeo@gmail.com), Christophe de Champs^{1,2}, David Skurnik³, Gerald B Pier⁴, Frédéric Klein², Emilie Luczka¹, Arnaud Bonnomet¹, Christophe Audebert⁵, Christelle Coraux¹, Thomas Guillard^{1,2}

¹Inserm UMR-S 1250 P3Cell, Université de Reims-Champagne-Ardenne, Reims, France

²Laboratoire de Bactériologie, CHU Reims Hôpital Robert Debré, Reims, France

³Inserm U1151-Equipe, Institut Necker-Enfants Malades, Paris, France

⁴Division of Infectious Diseases, Harvard Medical School, Boston, États-Unis

⁵PEGASE-Biosciences, Institut Pasteur, Lille, France

Introduction et objectifs :

Pseudomonas aeruginosa (PA) est une bactérie opportuniste occasionnant des infections respiratoires chez les patients atteints de mucoviscidose. Récemment, il a été montré qu'une souche de PA portant une porine OprD mutée présentait une augmentation de sa virulence dans un modèle murin de colonisation digestive et de pneumonie aiguë. L'absence de porine OprD occasionne une résistance aux carbapénèmes, un des antibiotiques de recours pour traiter les infections à PA résistants. Le but de ce travail est d'étudier la virulence des souches de PA OprD mutant sur l'épithélium des voies aériennes humaines (EVA).

Matériels et méthodes :

Des EVA parfaitement différenciés, obtenus grâce à une culture cellulaire en interface air-liquide (ALI) de cellules primaires issues de patients, ont été infectés par des souches de PA avec porine OprD fonctionnelle (WT) ou non fonctionnelle (OprD mutant). La dynamique de destruction de l'épithélium par PA a été suivie par vidéo-microscopie grâce à l'iodure de propidium, un marqueur de mortalité fluorescent. L'adhérence et l'internalisation de PA ont été évaluées. Une analyse transcriptomique de PA a été réalisée par technique de RNAseq pour étudier l'impact de la porine OprD sur l'expression globale des gènes pendant l'infection.

Résultats, discussion et conclusion :

Le temps de destruction des EVA après infection avec la souche OprD mutant était de $42,9 \pm 2,8$ h alors qu'il était de $57,4 \pm 2,6$ h avec la souche WT (t-test, $P = 0,0055$, $n = 7$), indiquant une virulence augmentée de PA OprD mutant sur l'EVA humaine. Aucune différence d'adhérence et d'internalisation n'a été mise en évidence entre les deux souches. L'analyse transcriptomique pendant l'infection montrait une surexpression significative de 29 gènes chez PA OprD mutant comparé à WT (EDGE test, fold change > 2 , $P < 0,05$), ces gènes codant principalement des protéines hypothétiques, membranaires, métaboliques et des régulateurs transcriptionnels.

La perte de la porine OprD modifie le métabolisme de PA pendant l'infection de l'épithélium et une analyse des gènes surexprimés est en cours pour élucider le mécanisme de cette virulence augmentée des souches OprD mutantes.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa* - infections respiratoires - résistance - virulence - carbapénèmes.

***Pseudomonas aeruginosa* virulence attenuation by *Mulinum crasiifolium* plant from Taira Atacama's community (Calama, Chile)**

Azuama Onyedikachi¹ (onyedikachi.azuama@etu.univ-rouen.fr), Ali Tahrioui¹, Emeline Bouffartigues¹, Sergio Ortiz², Damien Tortuel¹, Olivier Maillot¹, Chouaha Bouzidi Chouaha Bouzidi², Marina Kritsanida², Marc Feuilloley¹, Nicole Orange¹, Sylvie Michel², Olivier Lesouhaitier¹, Raphael Grougnet², Sabrina Boutefnouchet², Sylvie Chevalier¹

¹ Université de Rouen, LMSM Evreux, Evreux, France

² Université Paris Descartes, Paris, France

Pseudomonas aeruginosa is a gram-negative pathogen of great concern in immune-compromised individuals and the major cause of mortality in cystic fibrosis patients. Its pathogenicity lies in the production of myriad of virulence factors such as phenazines (pyocyanin), exoenzymes (elastase B), siderophores, exopolysaccharides and surfactants (rhamnolipids), among others. In addition, *P. aeruginosa* forms aggregated communities of cells encased in an extracellular matrix known as biofilms making it resistant to most of the available antibiotic agents. Following the discovery of quorum sensing (QS) system, involved in the regulation of virulence factors, resistance, and biofilm formation in *P. aeruginosa*, anti-virulence therapy has been adopted as a novel approach to combat the multi-drug resistance bacteria. In view of this, there has been extensive search in natural products for chemotherapeutic compounds that can override the virulence factors and their regulation by the QS communication system without affecting bacterial growth. Since plants are known repositories of secondary metabolites with chemical defense systems against environmental microbes, in this study, extract from *Mulinum crasiifolium* Phil. of *Apiaceae* family, was investigated for anti-virulence factors and anti-biofilm activities against *P. aeruginosa*. To perform virulence factors quantification assays, *P. aeruginosa* was grown in absence or presence of *M. crasiifolium* extract (McE) at different concentrations. The obtained results showed that McE hinder significantly pyocyanin pigment production without disturbing bacterial growth. Moreover, this anti-pyocyanin activity was found to be dose-dependent. The results demonstrated also that McE decreased elastase and rhamnolipid production. All of these effects seem to be associated to the inhibition of QS molecules production and the alteration of membrane fluidity. As a future work, we intend to evaluate the effects of the McE on *in vivo* models and further fractionate the McE to identify the bioactive compounds and their mechanisms of action.

Mots clés : anti-virulence therapy - anti-pyocyanin - pathogenicity - *Mulinum crasiifolium* Phil.

Etude de la réponse mitochondriale à une infection intracellulaire des ostéoblastes par *Staphylococcus aureus*

Damien Potheret¹ (damien.potheret@etu.univ-lyon1.fr), Cédric Badiou¹, Jérôme Josse^{1,2}, Frédéric Laurent^{1,2,3}, Alan Diot¹

¹Equipe «Pathogénie des staphylocoques», CIRI, Lyon, France

²ISPB - Faculté de Pharmacie, Lyon, France

³CNR des staphylocoques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Introduction :

Staphylococcus aureus (SA) est un pathogène opportuniste responsable notamment d'infections ostéo-articulaires (IOA). Ces infections présentent un fort taux de rechutes (10-20%) dues principalement à la formation de biofilm et à l'internalisation par des cellules phagocytaires non professionnelles, comme les ostéoblastes. Les SA intracellulaires sont protégés des antibiotiques et du système immunitaire. SA internalisé est retrouvé dans la vésicule phago-endosomale où il peut persister, ou s'échapper et induire la mort cellulaire par apoptose. Ce mécanisme est dépendant des mitochondries dont la réponse à une infection intracellulaire par SA n'a été que peu étudiée. Quelques études ont montré que SA pouvait induire des dommages oxydatifs couplés à de la biogenèse mitochondriale, et déclencher l'apoptose dans le cas d'une souche virulente. L'objectif de ce travail était de documenter la réponse mitochondriale des ostéoblastes à une infection intracellulaire par SA pour mieux appréhender les mécanismes de persistance et de clairance de SA et mieux lutter contre les IOA persistantes.

Matériels et méthodes :

Des cellules MG-63 (lignée d'ostéosarcome humain) ont été infectées avec la souche de SA USA300 SF8300 ou son mutant isogénique USA300 Δ fnbAB incapable d'être internalisé, à une MOI 10 :1. Le potentiel de membrane mitochondrial (MMP), la production de ROS mitochondriaux (mtROS) et l'apoptose ont été analysés pendant 5j après infection, en utilisant les sondes JC10, MitoSOX et AnnexinV/IP.

Résultats :

Nos résultats indiquent que le MMP reste stable pendant les premières 24h de l'infection, avant de diminuer entre 24h et 72h. Dans le même intervalle de temps (entre 24h et 72h), les mtROS augmentent. Ces changements de MMP et mtROS sont corrélés à une diminution de la charge bactérienne intracellulaire, qui ne semble pas due à l'induction de l'apoptose.

Conclusions :

Ces résultats pourraient donc indiquer que suite à l'internalisation de SA par les ostéoblastes une réponse mitochondriale, impliquant une dépolarisation et l'augmentation du niveau de mtROS, est enclenchée et aboutirait à l'élimination du pathogène intracellulaire. Ce travail sera prolongé notamment par l'étude de l'effet d'une modulation des mtROS sur la clairance bactérienne, et par la compréhension des mécanismes observés.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* - intracellulaire - mitochondries - mtROS - persistance.

Deciphering the mechanisms of secretion of bacterial TIR domain-containing proteins

Morgane Roussin (morgane.roussin@ibcp.fr), Suzana Salcedo

UMR5086 - MMSB, CNRS - IBCP, Lyon, France

Introduction and objectives:

The Toll/interleukin-1 receptor (TIR) domain, present in all Toll-like receptors (TLRs) and associated adaptors, is a key component of the innate immune system. After pathogen detection by TLRs, TIR domain interactions will initiate and trigger propagation of TLR signaling cascade and activation on an appropriate immune response. In the past years, we have been revealing the role of a family of bacterial effectors containing a TIR domain that are able to hijack these early signaling events (1-4). In the context of nosocomial pathogens, we have shown a TIR domain-containing protein, PumA, to be key virulence factor in *Pseudomonas aeruginosa* PA7, able to target TLR adaptors and also UBAP1, resulting in inhibition of cytokine receptor trafficking. Although the mechanisms by which TIR proteins modulate immune responses have been well studied, the secretion pathway used by these effectors remains to be discovered.

Materials and methods:

To answer this question we used site directed mutagenesis, microscopy and biochemical approaches.

Results, discussion and conclusion:

When expressed in a non-PumA strain, we have found it to localize in outer membrane vesicles. However, this is not the case in strains natively expressing PumA and we are currently determining the implication of the three *Pseudomonas* type VI secretion systems in this process. In addition, we have found that PumA has NAD⁺-consuming activity during infection, resulting in significant reduction of the central metabolic regulator NAD⁺ levels in cells. When expressed in *E. coli*, significant depletion of NAD⁺ is also observed suggesting *Pseudomonas* encodes an "immunity" protein that blocks the NADase activity of PumA. Using pull-downs and *in situ* proximity tagging methods we are in the process of identifying and characterizing this immunity protein that may constitute an interesting target for antimicrobial development.

Mots clés : Pseudomonas - TIR-containing protein - Secretion - NAD consuming - Virulence.

Références :

1. Imbert PR, Louche A, Luizet JB, Granjean T, Bigot S, Wood TE, Gagné S, Blanco A, Wunderley L, Terradot L, Woodman P, Garvis S, Filloux A, Guery B and Salcedo SP. (2017) A *Pseudomonas aeruginosa* TIR effector mediates immune evasion by targeting UBAP1 and TLR adaptors. *EMBO Journal*. 36(13):1869-1887.
2. Patot S, Imbert PRC, Baude J, Martins Simões P, Campergue J-B, Louche A, Nijland R, Bès M, Tristan A, Laurent F, Fischer A, Schrenzel J, Vandenesch F, Salcedo SP, François P, Lina G (2016) The TIR Homologue Lies near Resistance Genes in *Staphylococcus aureus*, Coupling Modulation of Virulence and Antimicrobial Susceptibility. *PLoS Pathog* 12(12):
3. Salcedo SP, Marchesini MI, Degos C, Terwagne M, Von Bargen K, Lepidi H, Herrmann CK, Lacerda TLS, Imbert PRC, Pierre P, Alexopoulou L, Letesson JJ, Comerci DJ and Gorvel JP. BtpB, a novel *Brucella* TIR-containing effector protein with immune modulatory functions. (2013) *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 3: 28.
4. Salcedo SP, Marchesini MI, Lelouard H, Fugier E, Jolly G, Balor S, Muller A, Lapaque N, Demaria O, Alexopoulou L, Comerci DJ, Ugalde RA, Pierre P, Gorvel JP (2008) *Brucella* control of dendritic cell maturation is dependent on the TIR-containing protein Btp1. *PLoS Pathogens* 4 (2): e21. F1000

Novel enzymes involved in mycobacterial lipid metabolism

Nicolas Tomas (nicolas1993.tomas1993@gmail.com), Nathalie Eynard, Patricia Constant, Mamadou Daffé, Anne Lemassu, Hedia Marrakchi

IPBS-CNRS, Toulouse, France

Introduction and objectives:

Tuberculosis (TB), with the etiological agent *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtu*), is an infectious disease causing more than one million deaths each year despite antibiotic therapy and an available vaccine. The resurgence of multidrug-resistant *Mtu* strains is becoming a major problem, highlighting the urgent need to develop new anti-TB molecules.

The main objective of this work is to explore mycobacterial lipid processing pathway(s). A model pathway was proposed, based on the identification of metabolic intermediates.

Materials and methods:

Candidate proteins involved in a key step of this pathway have been identified. Deletion and overexpression mutants were constructed in *Mycobacterium smegmatis* and the pathogenic species *Mtu*. Their lipidomic profiles were determined based on methods developed in the team (HPTLC, Mass spectrometry), to validate their involvement in the pathway. The protein candidates were also expressed and purified and their enzymatic activity tested *in vitro* with different substrates to investigate their substrate selectivity. Optimization of the assay was performed, using both gas chromatography/mass spectrometry and by enzyme kinetics following NADPH oxidation.

Conclusion:

Identification and characterization of the candidate protein(s) will allow a better understanding of this metabolic pathway and offer novel potential steps to target in the fight against *Mtu* and mycobacterial infections.

Mots clés : *Mycobacterium tuberculosis* - Lipidomics - Enzymatic assay.

Proteome remodeling induces by the Cytotoxic Necrotizing Factors 1

Landry Laure Tsoumts Meda¹ (landry.tsoumts-med@pasteur.fr), Mariette Matondo², Serena Petracchini¹, Amel Mettouchi¹, Emmanuel Lemichez¹

¹Bacterial Toxins Unit, Institut Pasteur, Paris, France

²Proteomics Platform, Institut Pasteur, Paris, France

Urinary Tract Infections (UTIs) represent approximately 150 to 250 million cases per year, thus are of major public health concern (1). 80% of community-acquired UTIs are caused by UPECs (2) and about 40% of UPECs are known to produce the Cytotoxic Necrotizing Factors1 (CNF1) (3). The CNF1 is a Rho-activating toxin that catalyzes a specific deamidation of a glutamine of Rho GTPases for cells invasion (4). The deamidation maintains the GTPases constitutively activated. We have previously demonstrated that the constant activation of RhoGTPases by CNF1 leads to proteasomal degradation through K48 ubiquitination (5). However, the change in proteins expression levels, the rate of modification induced by the CNF1 on the cellular proteome and the outcomes of host responses have not yet been investigated. By conducting quantitative mass spectrometry-based proteomics approaches, we intend to describe changes of the cellular proteome during cell invasion by UPEC producing CNF1.

Mots clés : UPEC - CNF1 - Rho GTPases - Proteome quantification.

Références :

1. Tabasi M, Asadi Karam MR, Habibi M, Yekaninejad MS, Bouzari S. Phenotypic Assays to Determine Virulence Factors of Uropathogenic Escherichia coli (UPEC) Isolates and their Correlation with Antibiotic Resistance Pattern. *Osong Public Health Res Perspect.* août 2015;6(4):2618.
2. Foxman B, Brown P. Epidemiology of urinary tract infections: Transmission and risk factors, incidence, and costs. *Infect Dis Clin North Am.* 1 juin 2003;17(2):22741.
3. Smith MA, Weingarten RA, Russo LM, Ventura CL, O'Brien AD. Antibodies against Hemolysin and Cytotoxic Necrotizing Factor Type 1 (CNF1) Reduce Bladder Inflammation in a Mouse Model of Urinary Tract Infection with Toxigenic Uropathogenic Escherichia coli. *Infect Immun.* avr 2015;83(4):166173.
4. Visvikis O, Boyer L, Torrino S, Doye A, Lemonnier M, Lorès P, et al. Escherichia coli Producing CNF1 Toxin Hijacks Tollip to Trigger Rac1-Dependent Cell Invasion. *Traffic.* 2011;12(5):57990.
5. Torrino S, Visvikis O, Doye A, Boyer L, Stefani C, Munro P, et al. The E3 Ubiquitin-Ligase HACE1 Catalyzes the Ubiquitylation of Active Rac1. *Dev Cell.* nov 2011;21(5):95965.

Two iron acquisition systems contribute to the virulence of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*

Yueying Zhu¹ (yueying.zhu@inra.fr), Jean-François Bernardet¹, Cyprien Guérin², David Pérez-Pascual¹, Claire Gautier¹, Pierre Nicolas², Delphine Lechardeur³, Eric Duchaud¹, Tatiana Rochat¹

¹*Virologie et Immunologie Moléculaires, Inra, Jouy-en-Josas, France*

²*MalAGE, Inra, Jouy-en-Josas, France*

³*Micalis, Inra, Jouy-en-Josas, France*

Flavobacterium psychrophilum is a Gram-negative psychrophilic bacterium belonging to the phylum *Bacteroidetes*. It is known as the etiological agent of cold-water disease in salmonids and causes serious sanitary issues in fish farms worldwide. For pathogenic bacteria, iron uptake systems are crucial in overcoming iron shortage as this essential nutrient is sequestered into host proteins. The purpose of this study was to identify iron acquisition systems of *F. psychrophilum* and to characterize their role in the infectious process using a combination of transcriptomic and genetic approaches.

In the framework of a study of the condition-dependent transcriptome of the virulent *F. psychrophilum* strain OSU THCO2-90, we performed differential analyses to establish lists of genes whose expression change in specific *in vitro* conditions. The expression of several TonB-dependent receptors increased in iron-depleted media, and in the presence of blood and fish plasma. *In silico* analyses showed structural similarities of two receptors with heme transporters described in other bacteria. One of them is co-transcribed with an uncharacterized lipoprotein belonging to the HmuY family protein, suggesting a role of hemophore.

These two receptors were studied in more detail by analysing the behaviour of the respective deletion mutants *in vitro* and *in vivo*. Under iron restriction or hemoglobin supplementation, the growth of mutants was slower than in the wild-type strain, indicating a role in iron acquisition. Experimental infections of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) showed that the deletion of receptors affects the ability of *F. psychrophilum* to colonize internal organs, resulting in a decreased fish mortality rate compared to the wild-type strain. The relative contribution of the two receptors to virulence was not equivalent. A reduced virulence was also observed in the deletion mutant of the HmuY protein encoding gene.

In conclusion, two iron acquisition systems have been identified in *F. psychrophilum*. They are involved in the uptake of an iron source that remains to be clearly identified, supporting pathogen growth within the host and thus the infectious process.

Mots clés : *Flavobacterium psychrophilum* - fish pathogen - iron acquisition - TonB-dependent receptor - virulence factor.

Phosphate solubilizing bacteria isolated from different plants rhizosphere and their PGP traits

Fatima Zahra Aliyat¹ (aliyatfatimazahra@gmail.com), Mohamed Maldani¹, Mohammed El guilli², Khalid Azim³, Laila Nassiri¹, [Jamal Ibijbijen](#)¹

¹Soil and Environment Microbiology Unit, Moulay Ismail University, Meknes, Morocco

²INRA, Kenitra, Morocco

³INRA, Agadir, Morocco

Introduction and objectives:

A large part of phosphorus fertilizer applied to the soil can become unavailable for plant via sorption or precipitation by reaction with Ca²⁺ in calcareous soils, Al³⁺ and Fe³⁺ in acidic soils, therefore using rhizobacteria able to solubilize inorganic phosphates can be a solution to improve the efficiency of P fertilizers, and thereby reduce the chemical inputs impact on the environment. The main objective of this work is to isolate phosphate solubilizing bacteria (PSB) from the rhizosphere of the five plants. Their performance and efficiency in the solubilization was conducted in both solid and liquid mediums.

Materials and methods:

The strains isolated from the rhizosphere of *Tamarix* sp., *Nicotiana glauca*, *Atriplex halimus*, *Medicago Arabica*, *Acacia Cyclops* were tested for their ability to solubilize phosphate in NBRIP medium with tricalcium phosphate (TCP) as the sole source of phosphorus. The isolates obtained have been studied for their ability to solubilize TCP quantitatively, and their phosphate solubilizing activity was estimated by the vanadate-molybdate method. The production of indol-1-acetic acid (IAA), Siderophore, and Hydrogen cyanide (HCN) by the isolates were tested.

Results, discussion and conclusion:

27 PSB strain were isolated on selective medium NBRIP, the strains showed significant different abilities to solubilize P; CB19 strain was the most efficient strain in NBRIP agar with SI= 4.79; whereas, BM11 strain was the most efficient strain in NBRIP liquid medium releasing 174.33µg/ml soluble P. The totality of the tested isolates confirmed the secretion of siderophore and IAA; as well as, out of 27 isolates 22.2% produced HCN. Our results encourage the valorization of selected PSB for plant growth and development as biofertilizers.

Mots clés : Rhizosphere - Phosphate solubilizing bacteria - Phosphate solubilization - Bioavailable phosphorus.

Viral lysis impact prokaryotic growth efficiency: evidence from a freshwater reservoir system (Villerest, France)

Pradeep Ram Angia Sriram (pradeep_ram.angia_sriram@uca.fr), Téléspore Sime-Ngando

Université Clermont-Auvergne, CNRS, Aubière, France

Introduction and objectives:

Viruses are considered to be the most diverse and largest biological entities in aquatic systems. Their recognition as a potential top-down factor of prokaryotic growth and activity has changed our conceptual understanding of the structural and functional organization of aquatic microbial food webs. The current consensus concerning the viral regulation of prokaryotic growth efficiency (PGE, index of organic carbon passing through prokaryotes) is less well studied, compared to substrate availability.

Materials and methods:

We explored the seasonal and vertical distribution of viruses and its relative influence on PGE in a eutrophic freshwater reservoir (Villerest, France). A combination of flow cytometry and transmission electron microscopy analyses was adopted to determine the microbial abundances (viruses and prokaryotes) and viral infected prokaryotic cells respectively. Using size fractionation approach, prokaryotic production (growth rate) and respiration (dissolved oxygen consumption) was determined to calculate PGE ($PGE = \text{prokaryotic production} / [\text{prokaryotic production} + \text{prokaryotic respiration}] \times 100$).

Results, discussion and conclusion:

High abundance and variability of viruses (range = $6.1 - 63.5 \times 10^7 \text{ ml}^{-1}$) than prokaryotes (range = $1.1 - 4.1 \times 10^7 \text{ ml}^{-1}$) led to significantly ($p < 0.006$) higher virus to prokaryote ratio in the surface (mean = 12.2 ± 5.9) than bottom (mean = 7.6 ± 1.5) waters. Percentage of infected prokaryotic cells varied from 5.3 to 32% with rod morphotype being the most infected. PGE, considered as a proxy of prokaryotic carbon metabolism varied from 14 to 80% across seasons and depths. Overall viruses through selective lyses had antagonistic impacts on PGE by regulating key prokaryotic metabolic processes (i.e. production and respiration). Higher viral lysis accompanied by higher respiration rates and lower PGE in the summer (mean = $22.9 \pm 10.3\%$) than other seasons (mean = $59.1 \pm 18.6\%$), led to significant loss of carbon to higher trophic level through bacterial-viral loop (viral shunt). Our data therefore suggests that the putative adverse impact of viruses on the growth efficiency of the prokaryotic community can have strong implications on nutrient flux patterns and on the overall ecosystem metabolism in such anthropogenic dominated aquatic systems.

Mots clés : prokaryotes - viruses - prokaryotic growth efficiency - viral lytic infection - freshwater reservoir.

Inventaire des Culicidae dans la wilaya de Tizi Ouzou

Karima Brahmi¹ (karib20032002@yahoo.fr), K. Benallala², Z. Harrat², F. Ourahmoune¹, M. Abderahim¹, T. Kernif², S. Et Doumandji⁴

¹Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou

²Institut Pasteur d'Alger, Algérie

³Institut National de vétérinaire régional de Tizi Ouzou, Algérie

⁴Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach Alger, Algérie

L'étude sur la bioécologie du genre *Aedes* dans la région de la Kabylie nous a permis de recenser 5044 individus réparties sur 28 espèces de Culicidae et 4 genres. Ainsi le genre *Aedes* comporte 8 espèces. Alors que *Aedes albopictus* l'espèce recherchée n'est pas présente dans les stations étudiées dans la région de la Kabylie au cours de cette étude. En outre l'étude sur la morphométrie sur les ailes de *Culex pipiens* indique la forme et la taille des ailes varient en fonction de l'altitude, ainsi les différents indices montrent que *Culex hotensis* est la plus abondante dans la région de la Kabylie avec 2124 individus et la station de Taksebt est la plus riche en espèces avec 24 espèces. Ainsi 10 espèces vectrices de parasitose sont recensées, et trois nouvelles espèces non signalées en Algérie ont fait leurs apparitions, en outre on affirme la présence de *Culex territans* par génitalia. Enfin, nous avons développé la bio-écologie de quelques espèces ayant un intérêt médico-vétérinaire.

Mots clés : Inventaire - Culicidae - Morphométrie - Bioécologie; - Tizi-Ouzou.

Références :

1. LAFRI I., BITAM I., BENELDJOUI A., et Hind BEN MAHDI M., 2014- Inventaire des moustiques (Diptera : Culicidae) de l'Algérie. Bull. Soc. zool. Fr., 139(1-4) : 255-261.
2. IZRI, A., BITAM, I. & CHARREL, R.N. (2011).- First entomological documentation of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1894) in Algeria. Clin. Microbiol. Infect., 17 (7), 1116-1118.
3. GRATZ, N.G. (2004).- Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*, Med. Vet. Entomol., 215e 227.
4. BRUNHES I., RHAÏM A., GEOFFROY B., ANGEL G. & HERVY J.P., 1999- Les moustiques de l'Afrique méditerranéenne, Logiciel d'identification et d'enseignement, I.R.D.,
5. BRHUNES J., RHAÏM A., GEOFFROY B., ANGEL G. et HERVY J.P., 1999 – Les culicidae d'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'institut de recherche pour le Développement, Montpellier, France, IRD et IPT. CD – Rom collection Didactique IRD Editions

Inventaire des arthropodes parasitent les animaux d'élevage et étude de quelques parasitoses bovines dans la région Draa Ben Khedda et Fréha

Karima Brahmi (karib20032002@yahoo.fr)

Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, Département de Biologie, Tizi Ouzou, Algérie

L'inventaire des arthropodes est mené dans la région de Draa Ben Khedda et Fréha à étage bioclimatique humide et hiver tempéré en mettant en œuvre sept techniques d'échantillonnages. Ces techniques ont révélé l'existence de 155 espèces appartenant à 6 classes qui se répartissent sur 18 ordres et 59 familles. Nous avons déterminé les espèces en se basant sur les caractères morphologiques. L'emploi des indices écologiques a permis d'estimer les abondances relatives des espèces étudiées, l'indice de Shannon-Weaver et l'équitabilité nous renseigne sur la richesse du milieu et l'équilibre des espèces entre les milieux et entre elles-mêmes. Les résultats des frottis sanguins réalisés dans la région de Fréha révèlent 12 cas qui ont une anémie. L'inventaire réalisé dans l'abattoir privé d'Azazga nous a permis de signaler la présence de 21 cas de bovins infester par *Fasciola hépatica*. Nous avons traité la bio-écologie de quelques espèces ayant un intérêt médicale et vétérinaire recensées dans notre inventaire notamment *Hypoderma*, les poux et les tiques.

Mots clés : Arthropodes, - indices écologiques - intérêt vétérinaire - Tizi Ouzou - Algérie.

Références :

1. BENAKHLA, A., LONNEUX, J.F., MEKROUD, A., LOSSON, B. & BOULARD, C., 1999 - Hypodermose bovine dans le Nord- Est Algérien : prévalence et intensité d'infestation. Edi. Elsevier, Paris, pp.539-545.
2. BERCHI, S., 2000 - Résistance de certaines populations de *Culex pipiens* L, au malathion à Constantine (Algérie) (Diptera, Culicidae). Bull.Soc.ent.Fr, 105(2): 125-129.
3. BRUNHES, J., HASSAINE, K., RHAIM, A., & HERVY, JP., 2000 - Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne : Espèces présentes et répartition (Diptera, Nematocera). Bull. Soc. Ent. Fr., 105(2): 195-204.
4. MOULINIER, C., 2003 - Parasitologie et mycologie médicale: éléments de morphologie et biologie. Edi., Lavoisier, Paris, 796 p.
5. PEREZ-EID, C., 2007 - Les tiques: Identification, biologie, importance médicale et vétérinaire. Edi. Lavoisier, Paris, 312 p.

Acne et Stress : Impact des catécholamines sur *Cutibacterium acnes*

Valérie Borrel¹ (valerie.borrel@gmail.com), Chloe Catovic¹, Pauline Thomas¹, Yoan Konto-Ghiorghi¹, Luc Lefeuvre², Cécile Duclairoir-Poc¹, Christos Zouboulis³, Marc Feuilloley¹

¹LMSM EA4312, Evreux, France

²Uriage Dermatologic Laboratory, Neuilly-sur-Seine, France

³Dessau Medical Center, Dessau, Allemagne

Introduction et objectifs :

L'acné est une des maladies les plus courantes de la peau [1] qui implique le microbiote cutané, dont *Cutibacterium (Propionibacterium) acnes* [2]. *C. acnes* est caractérisée par une forte variabilité génomique avec 4 sous-types et 6 ribotypes majeurs. Le ribotype 4 (RT4) semble fortement associée à l'acné, tandis que le ribotype 6 (RT6) est lié aux peaux saines [3]. La peau est aussi le plus grand organe neuroendocrinien du corps et de nombreuses (neuro)hormones cutanées diffusent dans la sueur et l'épiderme [4]. *C. acnes*, qui se développe de préférence dans les glandes sudoripares et sébacées [5], est ainsi exposé à ces facteurs. Ces molécules peuvent impacter de nombreuses espèces, mais leurs effets sur *C. acnes* sont encore inconnus.

Matériels et méthodes :

Les souches RT4 et RT6 ont été cultivées dans du milieu clostridium renforcé (MCR) et exposées à de l'épinéphrine (E) ou de la noradrénaline (NE) 10⁻⁶M. La croissance, la polarité de surface, les propriétés de surface acide-base et la formation de biofilm ont été étudiées. La cytotoxicité, l'activité inflammatoire et la production de lipides par des sébocytes SZ95 exposés aux bactéries traitées par les catécholamines ont aussi été recherchés.

Conclusions :

L'E et la NE n'ont aucun impact sur la croissance de *C. acnes*. En revanche, pour la souche RT6, sur support PVC (marquage cristal violet) la production de biofilm est augmenté en présence d'E (aucun effet significatif de la NE). Inversement, sur support verre (microscopie confocale), elle est diminuée en présence des catécholamines. La production de biofilm est augmentée avec l'E et la NE selon les deux techniques chez la souche RT4. Les catécholamines n'ont pas d'impact sur l'intégrité membranaire ou la viabilité des cellules, mais affectent leur polarité de surface. Les catécholamines sont sans effet sur la cytotoxicité et l'activité inflammatoire des deux souches. Toutefois, une légère augmentation de la lipogénèse par les sébocytes est observées en présence de RT4 traitée avec ces molécules. L'effet de l'eau thermale d'Uriage a aussi été testé. Cette étude suggère que *C. acnes* pourrait agir comme un relais dans l'effet des catécholamines sur l'acné.

Mots clés : Acné - *Cutibacterium acnes* - Catécholamines - Epinéphrine - Norépinéphrine.

Références :

1. White GM Recent findings in the epidemiologic evidence, classification, and subtypes of acne vulgaris. 1998 J Am Acad Dermatol 39:S34-7.
2. Cunliffe WJ Looking back to the future—acne 2002 Dermatology 204:167-72.
3. Fitz Gibbon et al., Propionibacterium acnes Strain Populations in the Human Skin Microbiome Associated with Acne. Invest. Dermatol. 2013 133(9):2152-60.
4. Severini, C. Improta G, Falconieri-Ersamer G, Salvadori S, Ersamer V. The tachykinin peptide family 2002 Pharmacol.Rev. 54,285-322.
5. Aubin G.G. Portillo ME, Trampuz A, Corvec S. Propionibacterium acnes, an emerging pathogen: from acne to implant-infections, from phylotype to resistance. 2014. Médecine et maladies infectieuses, 44, 241-250.

Influence de la composition des textiles sur la virulence des germes cutanés

Chloé Catovic¹ (chloe.catovic1@univ-rouen.fr), Imen Abbas¹, Magalie Barreau¹, Cécile Duclairoir-Poc¹, Catherine Sauvage², Jacques Follet², Anne Groboillot¹, Marc Feuilloley¹

¹LMSM EA4312, Evreux, France

²Association Lin et Chanvre Bio, Saint Vaast Dieppedalle, France

Introduction et objectifs :

Les facteurs environnementaux, y compris les cosmétiques, sont connus pour moduler la dynamique du microbiote cutané et, indirectement, l'homéostasie cutanée [1]. L'interaction des bactéries cutanées avec les vêtements a bien été étudiée [2], mais, jusqu'à présent, l'influence du vêtement sur les bactéries de la peau reste presque inconnue.

Matériels et méthodes :

Pour cette étude, deux souches bactériennes issues de peau saine, *Staphylococcus aureus* MFP03 et *Staphylococcus epidermidis* MFP04, ont été exposées à des fibres textiles naturelles d'origines différentes, le Coton Biologique (CB), le Coton Classique (CC), le Lin Biologique (LB) et Lin Classique (LC) avant ou après stérilisation. Ces souches ont également été traitées par des extraits stériles de ces mêmes textiles. Leurs effets ont été testés sur la croissance, la capacité à former des biofilms, la résistance aux antibiotiques, les propriétés de surface acide-base et la virulence de ces bactéries.

Conclusions :

Les textiles ont été déposés sur des cultures bactériennes en gélose solide. Après 24h, des zones d'inhibition de croissance ont été observées sur les cultures des deux souches exposées aux LB et LC non stérilisés. Cet effet a été supprimé par autoclavage. Les CB et CC étaient sans effet. Lorsque *S. aureus* et *S. epidermidis* ont été exposés aux extraits, une faible variation de la cinétique de croissance a été observée. L'effet des extraits sur la formation de biofilm a été étudié par marquage au cristal violet et microscopie confocale à balayage laser. Une variation de la biomasse ainsi que de l'épaisseur des biofilms a été observée. Sur les biofilms de *S. aureus*, les extraits de lin entraînent la formation de structures complexes en «champignon». Les extraits de tissus sont aussi capable d'induire une réduction de la cytotoxicité des bactéries sur les kératinocytes HaCaT. En revanche, aucune variation de la résistance bactérienne aux antibiotiques, ni des propriétés de surface acide-base n'a été détectée. Les extraits de lin ont été analysés par HPLC et un pic, correspondant à de l'alcool benzylique a été détecté. Cette molécule, naturellement présente dans le lin, pourrait expliquer en partie les effets observés.

Mots clés : Textiles - Lin - Coton - *Staphylococcus aureus* - *Staphylococcus epidermidis*.

Références :

1. Elsner, What textile engineers should know about the human skin. *Curr Probl Dermatol*. Basel, Karger, 2003, vol 31, pp 24–34.
2. U. Wollina a, M.B. Abdel-Naser b, S. Vermac, *Skin Physiology and Textiles – Consideration of Basic Interactions* *Curr Probl Dermatol*. Basel, Karger, 2006, vol 33, pp 1–16.

Effets de nouveaux revêtements antifouling sur l'adhésion de bactéries marines

Béatrice Colin¹ (beatrice.colin@univ-lr.fr), Julien Barillère¹, Franck Prenveille², Sébastien Touzain³, Isabelle Lanneluc¹, Sophie Sablé¹

¹LIENSS UMR7266 CNRS ULR, La Rochelle, France

²Soromap, Rochefort, France

³LaSIE UMR 7356 CNRS ULR, La Rochelle, France

Introduction et objectifs :

Les océans constituent un réservoir de biomasse particulièrement riche et abondante notamment à l'échelle microscopique. Parmi l'immense diversité d'espèces endémiques du milieu marin, certaines sont impliquées dans la formation de biofilms. Ces biofilms présentent des communautés complexes de microorganismes adhérant à un support via la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice, et sont responsables de la formation de biosalissures ou biofouling. La lutte contre la formation du biofouling sur les coques des navires représente un enjeu économique et écologique. En effet, la présence de salissures sur la coque d'un bateau diminue son hydrodynamisme et augmente de ce fait significativement sa consommation de carburant. Les peintures antifouling actuellement sur le marché relarguent également des produits toxiques dans l'environnement. L'objectif de ce projet est d'évaluer, en partenariat avec une entreprise, l'efficacité de nouvelles peintures antifouling sans biocides élaborées afin de retarder l'adhésion des microorganismes marins. Ces nouvelles formulations de peinture seront comparées à celles déjà commercialisées par l'entreprise.

Matériels et méthodes :

Différents coupons sur lesquelles ont été appliqués les différentes peintures à tester ont été immergés, d'une part en conditions contrôlées de laboratoire, en présence d'un cocktail de 11 souches de bactéries marines décrites pour leur capacité à former des biofilms (1) et d'autre part en milieu marin, en conditions naturelles, dans le port de plaisance des Minimes (La Rochelle, France). Les cellules et différents constituants de la matrice des biofilms (protéines et polysaccharides) ont été marqués à l'aide de différents fluorochromes à des temps variables (1, 2, 4, 8 et 20 semaines) et ont été observés en microscopie à fluorescence.

Résultats, discussion et conclusion :

L'estimation des surfaces de recouvrement des différents coupons par des biofilms montre que certaines formulations de peinture sont plus efficaces pour lutter contre la formation de biofilms. Leur mode d'application (peinture ou rouleau) semble également avoir un impact sur l'adhésion des microorganismes. Une exploration des communautés microbiennes ayant adhéré à ces revêtements permettrait de mieux comprendre leurs mécanismes d'adhésion, dans le but à long terme d'améliorer les propriétés antifouling des revêtements.

Mots clés : biosalissures - antifouling - microbiologie marine - adhésion - microscopie à fluorescence.

Références :

1. Doghri I, Rodrigues S, Bazire A, Dufour A, Akbar D, Sopena V, et al. Marine bacteria from the French Atlantic coast displaying high forming-biofilm abilities and different biofilm 3D architectures. BMC Microbiol. 24 oct 2015;15:231.

Evaluation réglementaire des risques pour l'environnement et les espèces non cibles, liés à l'utilisation de microorganismes comme agents de protection des cultures

Arnaud Conrad (arnaud.conrad@anses.fr), Sophie Duchard-Yamada, Pascaline Vuilleumard, Claire Blondel, Emilie Farama, Vanessa Mazerolles, Arnaud Boivin

ANSES, Maisons-Alfort, France

Introduction et objectifs :

Les préparations à base de microorganismes (bactéries, champignons, virus) entrant dans la composition des produits de protection des plantes (produits phytopharmaceutiques, pesticides, ...) font l'objet d'une évaluation des risques au niveau européen en tant que substances actives, et au niveau national pour la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques qui les contiennent. Cette évaluation des risques encadrée par les exigences en matière de données du Règlement (CE) No 1107/2009[1] est un préalable à une éventuelle mise sur le marché.

Pour les substances actives « microorganisme » et les produits à base de microorganismes, l'évaluation des risques pour l'environnement et les espèces non cibles repose en partie sur les méthodes d'évaluation des risques en vigueur pour les produits phytopharmaceutiques à base de substances chimiques. Toutefois compte tenu des spécificités liées à ce type de substance active, des éléments dédiés doivent être apportées. Ainsi, la connaissance de l'identité du microorganisme, de sa biologie, de son mode d'action (connu ou supposé), ses conditions de croissance dans l'environnement ainsi qu'une définition précise des conditions d'utilisation sont nécessaires pour évaluer les risques potentiels pour l'environnement et les espèces non-cibles. La caractérisation du microorganisme doit permettre d'acquérir des connaissances sur son devenir et sa dissémination dans l'environnement (sol, eau et air), d'estimer sa capacité à produire d'éventuels métabolites secondaires et/ou toxines, et d'estimer les risques à court terme et à long terme pour les espèces non cibles. Les risques liés à la pathogénicité et l'infectiosité doivent également être évalués. Une synthèse des connaissances disponibles dans la littérature scientifique [2] au niveau du genre ou de l'espèce, plus rarement de la souche, peut permettre de renseigner ces requis et de définir, si nécessaire, les données complémentaires à soumettre pour la souche évaluée. La démarche d'évaluation des risques pour les microorganismes, ses principales étapes et les conclusions inhérentes à celle-ci, seront présentées en termes de protection de l'environnement et des espèces non cibles.

ANSES Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Direction de l'évaluation des Produits réglementés, Unité évaluation Ecotoxicologie Environnement des Intrants du Végétal.

Mots clés : Biopesticides - Microorganismes - Evaluation réglementaire - Environnement - Environnement, Ecotoxicologie.

Références :

1. Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC, <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1107/oj>
2. European Food Safety Authority; Submission of scientific peer-reviewed open literature for the approval of pesticide active substances under Regulation (EC) No 1107/2009 (OJ L 309, 24.11.2009, p. 1-50). EFSA Journal 2011;9(2):2092. [49 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2011.2092

Site RABLEz : Résistance aux Antibiotiques dans le Bassin du Lez, un site d'étude de l'antibiorésistance environnementale au cœur de Montpellier

Patricia Licznar^{1,2} (patricia.licznar-fajardo@umontpellier.fr), Estelle Jumas-Bilak^{1,2}, Fabien Aujoulat¹, Agnès Masnou¹, Mylène Toubiana¹, Chloé Dupont^{1,2}, Groupe de recherche hospitalo-universitaire PHy2^{1,2}

¹HydroSciences Montpellier, UMR5569, Université de Montpellier, Montpellier, France

²Département Hygiène Hospitalière, CHU Montpellier, Montpellier, France

Introduction et objectifs :

Le groupe de travail national «Antibiorésistance et Environnement» propose la création de sites d'observation dédiés à la problématique de l'antibiorésistance [1]. Ces sites doivent être emblématiques d'activités (vétérinaire, hospitalière, urbaine, agricole..) et de différents environnements.

Nous proposons de faire reconnaître la zone Bassin du Lez - Montpellier (Site RABLEz) comme site d'observation de l'antibiorésistance dans l'environnement.

Matériels et méthodes :

RABLEz est original du fait des éléments qui le constituent : i) un aquifère karstique, source d'eau potable pour Montpellier ; ii) le bassin versant du Lez et ses affluents, traversant Montpellier, territoire urbain côtier d'envergure à forte pression démographique et touristique ; iii) le CHU de Montpellier situé au cœur d'un territoire urbain dense en zone de ruissellement vers deux affluents du Lez ; iv) les lagunes côtières, écosystèmes vulnérables ; v) une station d'épuration (émissaire en mer) et vi) des épisodes climatiques extrêmes (sécheresse, inondations).

Des analyses physico-chimiques, chimiques et bactériologiques sont réalisées sur des échantillons d'eau, de sédiments et de biofilms collectés en différents points du territoire. Une méthode culturale [2] permet l'établissement du profil d'antibiorésistance à l'échelle des communautés bactériennes. Le répertoire taxonomique des communautés et leur dynamique en fonction des conditions environnementales sont décrits. Des gènes de résistance sont quantifiés (qPCR). Des bactéries opportunistes résistantes sont isolées et leur antibiorésistance caractérisée. Enfin, les données sont confrontées aux données d'épidémiologie chez l'homme.

Résultats, discussion et conclusion :

Des variations de l'antibiorésistance au sein de l'hydrosystème sont mesurées et reliées aux conditions environnementales du site. De plus, les résistances observées correspondent à des préoccupations majeures de santé publique : résistances endémiques (entérobactéries productrices de BLSE, B-lactamases à spectre étendu) et résistances émergentes (bactéries productrices de carbapénémases : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* [3]).

Ainsi, le site RABLEz permet d'aborder l'antibiorésistance à travers des questions scientifiques allant des contraintes environnementales au risque sanitaire via des compétences complémentaires en hydro(géologie), événements extrêmes, contaminants, écologie microbienne, microbiologie médicale, infectiologie et épidémiologie. Alliant approche territoriale et enjeux globaux, la reconnaissance du site RABLEz permettra de répondre à de nombreuses questions sur l'antibiorésistance environnementale en lien avec l'épidémiologie humaine.

Mots clés : antibiorésistance - environnement - site d'observation.

Références :

1. http://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_antibiotiques.pdf
2. Almakki A, Esteves K, Vanhove AS, Mosser T, Aujoulat F, Marchandin H, et al. 2017. A new methodology to access antimicrobial resistance of bacteria in coastal waters; pilot study in a Mediterranean hydrosystem CR Geosciences 349: 310-318.
3. Almakki A, Maure A, Pantel A, Romano-Bertrand S, Masnou A, Marchandin H, et al. 2017. NDM-5-producing *Escherichia coli* in an urban river in Montpellier, France. Int J Antimicrob Agents 50:123-124.

Diversité des souches du genre *Bordetella* isolées des voies respiratoires et de l'environnement domestique de patients atteints de mucoviscidose

Quentin Menetrey¹ (quentin.menetrey@umontpellier.fr), Estelle Bilak^{1,2}, Raphaël Chiron^{1,3},
Hélène Marchandin^{1,4}, Chloé Dupont^{1,2}

¹Equipe PHySE, Université de Montpellier, UMR HSM, Montpellier, France

²Département d'Hygiène Hospitalière, CHU de Montpellier, Montpellier, France

³CRCM, CHU de Montpellier, Montpellier, France

⁴Département de Microbiologie, CHU de Nîmes, Nîmes, France

Introduction et objectifs :

Les poumons des patients atteints de mucoviscidose (CF) constituent un environnement propice à la colonisation par des bactéries d'origine environnementale. Les bactéries du genre *Bordetella*, bien que considérées comme émergentes dans cette pathologie, sont très peu étudiées. Les objectifs de notre étude étaient 1) de comparer les souches de *Bordetella* sp. isolées des voies respiratoires et de l'environnement domestique de patients CF 2) d'étudier l'évolution de souches isolées successivement au cours de la colonisation chronique de certains de ces patients.

Matériels et méthodes :

Un total de 74 souches du genre *Bordetella*, incluant 61 souches provenant de 32 expectorations de 6 patients colonisés suivis au CRCM de Montpellier, et 13 souches provenant de l'environnement domestique de 2 patients a été étudié. L'identification a été réalisée par séquençage de l'ADNr 16S. Les souches cliniques et environnementales appartenant à une même espèce, ainsi que les souches successives d'un même patient, ont été comparées par électrophorèse en champ pulsé (ECP).

Résultats, discussion et conclusion :

Trois espèces ont été identifiées dans les expectorations des 6 patients : *Bordetella bronchiseptica* (n=3), *Bordetella hinzii* (n=1), et *Bordetella genomospecies 2* (n=2). Aucun patient ne partageait de souches de pulsotypes identiques, suggérant une acquisition sporadique à partir de sources distinctes. Deux patients ont été colonisés chroniquement pendant plus de 2 ans par *B. bronchiseptica* et *Bordetella genomospecies 2*, respectivement. L'analyse longitudinale n'a montré aucune modification de pulsotype au cours du temps de la souche de *Bordetella genomospecies 2* ; en revanche, une évolution génomique a été détectée pour *B. bronchiseptica*. Les souches environnementales appartenaient à 3 espèces non décrites proches des espèces environnementales récemment décrites *Bordetella muralis*, *Bordetella tumbae*, *Bordetella tumulicola*, et de *Bordetella ansorpii*, décrite chez l'homme hors contexte CF.

Aucune transmission croisée entre patients n'a été mise en évidence. *Bordetella genomospecies 2*, comme *B. bronchiseptica*, peut persister dans les voies respiratoires des patients. Lors de la persistance, les modifications génomiques observées reflètent probablement une adaptation à l'habitat pulmonaire. Il existe dans l'environnement une importante diversité d'espèces non décrites, différentes de celles isolées chez les patients.

Mots clés : mucoviscidose - *Bordetella* sp. - pathogènes opportunistes - environnement domestique - électrophorèse en champ pulsé.

Complexes multienzymatiques pour une algoraffinerie *in situ* ; destructuration contrôlée de colonies de la microalgue *Botryococcus braunii* pour une extraction sélective d'hydrocarbures

Catherine Dupré¹ (catherine.dupre@univ-nantes.fr), Amélie Saumonneau², Charles Tellier³, Franck Daligault², Jack Legrand¹, Simon Huet³, Dominique Grizeau¹

¹GEPEA UMR 6144 CNRS, Université Nantes, Saint-Nazaire, France

²UFIP UMR CNRS 6286, Université Nantes, Nantes, France

³Affilogic, Nantes, France

Introduction et objectifs :

L'espèce *Botryococcus braunii* est une microalgue coloniale, synthétisant des hydrocarbures liquides à longue chaîne (HLLC). Différentes souches de cette espèce ont été isolées du milieu naturel pour leurs capacités à former des hydrocarbures de familles chimiques différentes. Ces exométabolites sont stockés dans la matrice extracellulaire (MEC) de la colonie cellulaire. Cette MEC est constituée d'hydrocarbures polymérisés à très longues chaînes et de polysaccharides. L'étude porte sur l'effet de différents minicellulosomes artificiels associant des activités enzymatiques sur une destructuration contrôlée de colonies cellulaires d'une souche de race A. L'objectif est d'améliorer l'accessibilité aux hydrocarbures liquides en vue d'un procédé permettant de récupérer ces molécules sans perte de viabilité. L'étude a été plus particulièrement focalisée sur l'action d'une endoglycanase de la famille des GH9 et d'une arabinanase de la famille des GH43, associées ou non avec un CBM3.

Matériels et méthodes :

Une méthodologie a été développée pour tester la faisabilité d'une utilisation contrôlée de glycosidases pour déstabiliser la fraction polysaccharidique de la matrice cellulaire. Les essais ont été réalisés en microplaques. Les mesures associent des lectures avec un détecteur fluorimétrique, des mesures en cytométrie en flux et des observations en microscopie confocale. Une méthode micronisée de dosage des hydrocarbures a été mise au point pour ces essais.

Résultats, discussion et conclusion :

L'utilisation de complexes marqués par la GFP ou l'YFP a permis de localiser les sites de fixation du CBM3 (Carbohydrate Binding Modules) (CBM3) sur les parois des parties apicales des cellules incluses dans la matrice coloniale. Les sucres inclus dans la matrice ne sont pas marqués par le CBM3 marqué. Des conditions particulières d'incubations ont permis une action de ces minicellulosomes, avec libération de cellules viables. Cette étude préliminaire semble indiquer un rôle particulier d'une fraction arabinane dans l'interaction entre la paroi des cellules et la matrice de la colonie.

Mots clés : minicellulosome - *Botryococcus braunii* - microalgue - hydrocarbures - cytométrie en flux.

Rôle du monoxyde d'azote, un médiateur de la réponse immune mucoale, dans le devenir des infections à *Escherichia coli* entérohémorragique

Marion Gardette^{1,2} (marion.gardette@inra.fr), Ilham Naili^{1,3}, Annie Garrivier¹, Julien Daniel¹, Valérie Rousseau¹, Mickaël Desvaux¹, Mariagrazia Pizza³, Alain Gobert¹, Thierry Marchal⁴, Estelle Loukiadis², Grégory Jubelin¹

¹UMR454 MEDiS UCA-INRA, Saint-Genès-Champanelle, France

²LNR des *E.coli*, VetAgroSup, Marcy-l'Étoile, France

³GSK, Siena, Italie

⁴Laboratoire d'histopathologie, VetAgroSup, Marcy-l'Étoile, France

Introduction et objectif :

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) sont responsables de toxi-infections alimentaires chez l'Homme. Celles-ci peuvent conduire à des affections graves, telles que le syndrome hémolytique et urémique (SHU), première cause d'insuffisance rénale aiguë chez les enfants de moins de 5 ans dans les pays développés. A ce jour, aucune thérapie efficace n'existe pour traiter les infections à EHEC, et l'antibiothérapie est déconseillée. Des études antérieures ont montré *in vitro* que le monoxyde d'azote (NO), un médiateur de la réponse immune mucoale, réprime l'adhérence du pathogène aux cellules épithéliales intestinales ainsi que la quantité de Shiga toxines (Stx) qu'il produit [1, 2]. Ces résultats *in vitro* suggèrent un fort potentiel du NO à limiter le devenir de l'infection. Ainsi, l'objectif de cette étude a été de déterminer le rôle du NO dans le devenir des infections à EHEC en modèle murin.

Matériels et méthodes :

Des souris C57Bl/6 ont été infectées avec la souche O157:H7 EDL933 et traitées ou non avec un inhibiteur de NO synthase, le L-NAME. Le devenir de l'infection a été évalué par la quantification de l'activité Stx dans les fèces, l'adhésion des EHEC à la muqueuse colique et l'analyse histologique des tissus rénaux. La cinétique de détection du NO par les EHEC a également été déterminée en utilisant une souche reportrice senseur de NO.

Résultats, discussion et conclusion :

Dans cette étude, nous avons démontré que les EHEC détectent le NO dès les premiers stades de l'infection. Nous avons établi que le NO limite l'adhésion des pathogènes à la muqueuse colique. En revanche, contrairement à ce qui avait été démontré *in vitro*, nous avons mis en évidence une augmentation de l'activité Stx dans les fèces en présence de NO, et par conséquent l'induction d'un dysfonctionnement rénal, notamment lié à une atteinte des glomérules. Ces résultats soulignent l'importance des études *in vivo* pour la recherche des interactions entre les EHEC et l'hôte et démontrent que le NO peut avoir un effet à la fois bénéfique et néfaste dans le devenir des infections à EHEC.

Mots clés : EHEC - monoxyde d'azote - interactions hôte-pathogène.

Références :

1. Branchu P, Matrat S, Vareille M, Garrivier A, Durand A, Crepin S, et al. NsrR, GadE, and GadX interplay in repressing expression of the *Escherichia coli* O157:H7 LEE pathogenicity island in response to nitric oxide. *PLoS Pathog.* 2014;10(1):e1003874.
2. Branchu P, Matrat S, Vareille M, Garrivier A, Durand A, Crepin S, et al. NsrR, GadE, and GadX interplay in repressing expression of the *Escherichia coli* O157:H7 LEE pathogenicity island in response to nitric oxide. *PLoS Pathog.* 2014;10(1):e1003874. 2. Vareille M, de Sablet T, Hindre T, Martin C, Gobert AP. Nitric oxide inhibits Shiga-toxin synth

Rôle de la NO réductase NorVW dans la survie et la virulence des *Escherichia coli* entérohémorragiques au cours du processus infectieux

Marion Gardette^{1,2} (marion.gardette@inra.fr), Julien Daniel¹, Valérie Rousseau¹, Estelle Loukiadis², Grégory Jubelin¹

¹UMR454 MEDiS UCA-INRA, Saint-Genès-Champanelle, France

²LNR des *E.coli*, VetAgroSup, Marcy-l'Étoile, France

Introduction :

Le monoxyde d'azote (NO) est un médiateur de la réponse immune mucoale qui joue un rôle protecteur lors d'infections intestinales grâce à son activité antimicrobienne. Cependant, plusieurs pathogènes tels que les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) disposent d'enzymes pour résister aux effets bactéricides du NO. Parmi elles, la NO réductase codée par l'opéron *norVW* détoxifie le NO en conditions anaérobies. Il a été précédemment démontré que la présence de NorVW augmente le taux de survie des EHEC dans les macrophages et participe à la synthèse du facteur de virulence majeur des EHEC, la Shiga toxine (Stx) [1]. L'objectif de cette étude a été de déterminer le rôle de NorVW dans la virulence des EHEC en modèle murin.

Matériels et méthodes :

Des souris C57Bl/6 ont été infectées séparément par deux souches d'EHEC de sérotype différent ainsi que par les mutants Δ *norVW* correspondant. Le devenir de l'infection a ensuite été analysé en quantifiant différents paramètres tels que la perte de poids des animaux, le niveau de colonisation du tractus digestif par les EHEC ou encore la quantité de Stx produite *in situ*. Un modèle de co-infection par la souche sauvage et le mutant Δ *norVW* a également été employé afin d'évaluer l'impact de la délétion sur le fitness des EHEC *in vivo*.

Résultats, discussion et conclusion :

Tandis que l'absence de *norVW* n'a pas eu d'impact sur la virulence de la souche O91:H21, la délétion de *norVW* dans la souche O157:H7 a induit une réduction de sa capacité à persister dans le tractus digestif des souris ainsi qu'à produire Stx. L'inhibition de l'activité des NO synthases chez les souris infectées, a également permis de démontrer que l'atténuation de la virulence du mutant Δ *norVW* n'existe que lorsque l'hôte produit du NO lors de l'infection. Cette étude a permis de montrer l'importance de la NO réductase NorVW dans la virulence de certaines souches d'EHEC, avec un rôle dans la colonisation du tractus digestif et la production de toxine. Cette observation est toutefois souche dépendante et suggère que la réponse des EHEC au stress nitrosant lors d'une infection est complexe et probablement multifactoriel.

Mots clés : EHEC - monoxyde d'azote - processus infectieux.

Références :

1. Shimizu T, Tsutsuki H, Matsumoto A, Nakaya H, Noda M. The nitric oxide reductase of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* plays an important role for the survival within macrophages. *Mol Microbiol.* 2012;85(3):492-512.

Diagnostic fonctionnel microbien des sols agricoles grâce à la millifluidique de gouttes

Arthur Goldstein (arthur.goldstein@espci.fr)

LCMD, ESPCI Paris, Paris, France

Introduction et objectifs

Le sol est un milieu riche en microorganismes variés. On sait qu'ils apportent beaucoup aux plantes : protection contre les pathogènes, aide à l'acquisition de nutriments, résistance à la sécheresse... Cependant, s'il est de plus en plus facile d'étudier le génome, voire le transcriptome de ces microbiotes, il est toujours aussi laborieux de mener des expériences de culture de ces microorganismes. La culture donne pourtant des informations essentielles sur leurs fonctions agronomiques.

Grâce à la millifluidique, il devient possible de mener des expériences de culture automatisées, quantitatives et à haut débit. Nous cherchons à mettre cela à profit pour caractériser les qualités du microbiote d'un champ donné. Nous étudions actuellement deux fonctions :

La solubilisation du phosphore : élément essentiel à l'agriculture, le phosphore est peu accessible aux plantes. Nous cherchons à dénombrer les microorganismes capables de le rendre assimilable.

Le biocontrôle : nous menons des expériences de co-culture de pathogènes des plantes et de microorganismes du sol pour évaluer la capacité des microbiotes à protéger les cultures des maladies.

Matériels et méthodes :

Nous ré-explorons les tests historiques en les adaptant à la millifluidique.

Nous utilisons les machines MilliDrop, automates de culture de microorganismes en gouttes de 400µl. Elles permettent de générer et suivre optiquement un train de 1000 gouttes pendant 48 heures, dans un capillaire de vingt mètres. Dans une goutte, on peut incuber soit une cellule unique, soit une communauté.

Les microorganismes sont extraits du sol, puis incubés dans du milieu de culture. Pour le test « phosphore », on y ajoute une suspension colloïdale de précipité de calcium et de phosphore. Pour le test « biocontrôle », le milieu est co-inoculé avec la suspension de sol et la souche de pathogène étudiée.

Résultats, discussions et conclusion :

Nous pouvons quantifier le nombre de cellules viables par gramme de terre, ainsi que la fraction d'entre elles qui solubilisent le phosphore.

La méthode que nous développons pourrait être adaptable à de nombreuses autres fonctions des microbes telles que la capacité à fixer l'azote de l'air, à dépolluer les sols ou à fixer du CO₂.

Mots clés : Microbiote du sol - millifluidique - agriculture - phytopathogènes - phosphore.

Effect of rock phosphate-solubilizing bacteria on the growth and phosphorus uptake of bean (*Vicia faba* L.) in Morocco

Abderrazak Rfaki¹ (rfakiabderrazak@gmail.com), Omar Zennouhi², Fatima zahra Aliyat², Jamal Ibijbijen², Laila Nassiri²

¹ UATRS, CNRST, Rabat, Maroc

² Département de Biologie, Université Moulay Ismaïl, Meknès, Maroc

Introduction and objectives:

Phosphorus is the most important nutrient for the growth and development of plants and is applied to soil as phosphatic fertilizers. Also, excessive use of chemical fertilizers in crop fields to improve the production of the agricultural system has caused adverse effects on the environment, the economy and human health. Thus, Phosphate Solubilizing bacteria (PSB) seems to be an effective way to solve the phosphorus availability in soil. This study aimed to isolate rock PSB and evaluate their effect on growth and phosphorus accumulation of bean grown in different regions of Meknes (Morocco).

Materials and methods:

From 252 rock PSB isolates, seven were selected on the basis of their plant growth promoting (PGP) traits (indole acetic acid, siderophores, hydrogen cyanide and antifungal activity). The effect of rock PSB mono-inoculation on bean was determined in a completely randomized experiment in Leonard jar and pot. The application treatments included negative control (no inoculation and fertilizer), three positive controls (rock phosphate (RP), chemical fertilizer 100 % and 200 %), and two bacterial inoculation (*Pantoea* sp. (A83) and *Erwinia* sp. (D59) with RP). In 60-day-old bean plants, the shoot length, shoot dry weight, root surface, number of nodules per plant, dry weight of nodules, root dry weight and P and N content in plant were assessed.

Results, discussion and conclusion:

The results revealed that inoculation with rock PSBs A83 and B59, significantly ($p \leq 0.05$) enhanced shoot length (107-117 %), root surface area (118-130 %), shoot dry weight (110-112 %), root dry weight (95-116 %), number of nodules per plant (115-132 %), dry weight of nodules (105-117%), phosphorus uptake (164-194 %) and nitrogen uptake (186-201%) over control with complete fertilization. The present study results suggest that use of these efficient PSBs may offer agronomic, pathogenic, and environmental benefits for intensive agricultural production systems.

Mots clés : Rock phosphate-solubilizing bacteria - plant growth promoting traits - phosphorus uptake.

Criblage de souches de *Bacillus* extrémophiles isolées au Maroc pour des activités de dégradation des fibres végétales, en vue d'applications en biotechnologies

Serigne Inssa Ngom^{1,3} (inssangom93@gmail.com), Bahia Rached^{1,2,3}, Taha Chouati^{1,2}, Soufiane Maski^{1,6}, Naima Rhallabi³, Elmostafa Elfahime⁵, Mohamed Amar^{1,2}, Christel Bera-Maillet^{1,4}

¹Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, Maroc

²Collections Coordonnées Marocaines de Microorganismes, Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, Maroc

³Faculté des Sciences et Techniques, Université Hassan II, Mohammedia

⁴Micalis Institute, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France

⁵Unité d'Appui Technique à la Recherche Scientifique, Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, Maroc

⁶Faculté des Sciences, Université Mohamed V, Rabat, Maroc

Cette étude concerne la valorisation pour des applications environnementales, ou en biotechnologie, de souches de *Bacillus* thermophiles récemment isolées au Maroc d'écosystèmes extrémophiles [1] et conservées dans les Collections Coordonnées Marocaines de Microorganismes (CCMM)[2]. Des activités enzymatiques dédiées à la dégradation de fibres végétales naturelles ou purifiées ont été recherchées par criblages de 40 souches sur milieu minimum additionné de fibres purifiées ou naturelles comme seule source de carbone. Notre étude a montré la présence de diverses activités enzymatiques chez 9 souches de *Bacillus* capables de dégrader un ou plusieurs types de polysaccharides végétaux.

Le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S de ces souches a confirmé qu'elles appartiennent au genre *Bacillus* et a permis de préciser leur affiliation taxonomique, proche de *B. licheniformis*. Une analyse par MLST a permis d'affiner les relations phylogénétiques entre ces souches et avec les souches-type d'espèces proches.

Afin d'étudier la production des enzymes chez ces bactéries, les protéines totales ou extracellulaires des souches positives cultivées sur différentes sources de fibres ont été déposées dans des puits de gélouses contenant des polysaccharides purifiés. Les résultats révèlent la synthèse d'enzymes diversifiées, production modulée par la source de fibres présente dans le milieu de culture.

Le criblage des activités enzymatiques à l'aide de fibres purifiées et naturelles ainsi que la validation des activités sur substrats chromogènes confirment donc l'hydrolyse efficace de ces fibres par ces souches thermophiles. Ces dernières sont ainsi des candidates potentielles pour diverses applications en biotechnologies telles que la biotransformation des déchets agroindustriels solides.

Mots clés : Bactérie thermophile - *Bacillus* - Enzymes hydrolytiques - Polysaccharide - Fibres végétales.

Références :

1. Aanniz T, M. Ouadghiri, M. Melloul, J. Swings, E. Elfahime, J. Ibjibijen, M. Ismaili, Amar M. Identification and characterization of thermophilic bacteria in Moroccan hot springs, salt marshes and desert soils. Brazilian Journal of Microbiology 2015; 46: 443-53.
2. www.cmmm.ma

Evaluation du risque de leptospirose liée aux eaux de baignade

Elise Richard^{1,2} (elise.richard@eaudeparis.fr), Sebastien Wurtzer¹, Laurent Moulin¹, Pascale Bouhry², Mathieu Picardeau²

¹DRDQE, Eau de Paris, Ivry-sur-Seine, France

²Biologie des Spirochetes, Institut Pasteur Paris, Paris, France

Les leptospires pathogènes sont responsables d'une zoonose de répartition mondiale, la leptospirose. Le réservoir animal, principalement les rongeurs, excrète les leptospires dans ses urines et contamine ainsi l'environnement hydrique où la bactérie peut survivre pendant plusieurs semaines, propageant la maladie à d'autres animaux ou à l'homme. Les leptospires appartiennent au phylum des spirochètes et sont constituées de bactéries saprophytes et pathogènes. Pour la troisième année consécutive, près de 600 cas de leptospirose ont été recensés en Métropole en 2016. Il s'agit des plus fortes incidences enregistrées depuis qu'une surveillance est mise en place. Cette augmentation du nombre de cas est retrouvée dans d'autres pays européens et pourrait être due au réchauffement climatique et/ou à l'augmentation des comportements à risques comme les sports aquatiques.

L'écologie des leptospires, notamment en milieu aquatique, est peu étudiée et ces bactéries ne sont pas recherchées lors des contrôles sanitaires des eaux. Dans ce contexte, Les activités nautiques en milieu urbains pourraient augmenter l'exposition des usagers à ce type de microorganismes.

La recherche des leptospires pathogènes sur plusieurs sites susceptibles d'accueillir des lieux de baignades est en cours, afin de mieux évaluer les facteurs associés à la présence des leptospires. En parallèle nous étudions les mécanismes de résistance des leptospires dans l'eau en fonction de différents paramètres physico-chimiques ainsi que leur résistance aux traitements de désinfection. Une meilleure connaissance des facteurs influençant la survie des leptospires en milieu aquatique permettra de mieux évaluer la période de contamination des eaux et de mieux maîtriser les méthodes d'élimination. Deux PCR quantitative ont été développées pour ce projet. Afin de ne mesurer que les bactéries intègres nous avons utilisé l'Ethydium MonoAzide (EMA) couplé à une réaction photocatalytique afin d'inhiber l'amplification des ADN libres ou accessibles à l'EMA. Les premiers résultats montrent que la PCR est tout à fait applicable aux échantillons environnementaux.

Ces résultats permettront pour la première fois de connaître la contamination environnementale dans les zones d'activité nautique en Ile de France et de mieux connaître les risques liés aux activités nautiques en zone urbaine dense.

Mots clés : Leptospires - Eau - Contamination - Baignade - Risques sanitaires.

Comparison of *Campylobacter jejuni* using MALDI-TOF to identify relationships between different origins: poultry, bovine, sheep, shorebird, river and shellfish

Martine Denis¹ (martine.denis@anses.fr), Valérie Rose¹, Bérengère Nagard¹, Joëlle Serghine², Morgan Meunier³, Fabienne Benoit³, Alain Rincé⁴, Elodie Cauvin³, Michèle Gourmelon²

¹UHQPAP, Anses, Ploufragan, France

²Laboratoire Santé, Environnement et Micr, Ifremer, Plouzané, France

³Pôle Recherche, LABÉO Manche, Saint-Lô, France

⁴U2RM, Université de Caen Normandie, Caen, France

Previous studies showed presence of *Campylobacter* spp. in coastal catchments and shellfish-harvesting areas in France (1). Wild birds and livestock are recognized as reservoirs of *Campylobacter* spp. These can participate in the contamination of the environment directly or *via* manure spreading. In this study, we checked if MALDI-TOF allowed the distinction of the strains according their origin and the identification of the sources of contamination of rivers and shellfish. We focused on *C. jejuni*, the most prevalent species in human infections.

We considered 146 *C. jejuni* isolated from feces of poultry (36), bovine (61), sheep (26) and shorebird (7) and *C. jejuni* isolated from river water samples (12) and shellfish batches (4). The proteins of the strains were extracted as recommended by Bruker, deposit 8 times on MSP 48 target polished steel plate, included in 1 µl of IVD matrix HCCA and send to MALDI-TOF Platform of Anses. 32 reads per protein extract were realized. Under BioNumerics, an average spectrum of protein was obtained for each strains for comparison in a dendrogram using UPGMA method and Pearson's coefficient. Strains sharing 87% of similarity for their protein spectra were grouped in a same cluster.

The *C. jejuni* strains were distributed in 25 clusters. Poultry strains (61%) and bovine strains (91.8%) were grouped together in seven clusters. Among them, J5 and J13 contained also sheep strains (5 and 2 respectively), J6 contained river strains (3) and J21 contained strains from shorebird (5), river (7) and shellfish (2). Of the 26 sheep strains, 50% clustered only together. Finally, all river water strains could be linked to any of the four animal sources. Of the four shellfish strains, two were not related to any of the other sources.

Even if protein spectra obtained from animal strains were close, our study suggests that poultry, shorebirds, bovine and sheep could contribute to the contamination of rivers by *C. jejuni*. This is consistent with MLST results (2) showing that *Campylobacter* in surface water were mostly attributed to shorebirds and poultry followed by ruminants. The *C. jejuni* contamination of the rivers can thus contribute to that of shellfish.

Mots clés : *Campylobacter* - MALDI-TOF - animal - river water - shellfish.

Références :

1. Rincé A., et al., (2018) Occurrence of Bacterial Pathogens and Human Noroviruses in Shellfish-Harvesting Areas and Their Catchments in France. *Frontiers in Microbiology*, V9, Article 2443.
2. Mughini-Gras L., et al. (2016) Quantifying potential sources of surface water contamination with *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Water research*, 101:36-45.

Enteric virus diversity in sewages collected during last decade

Julien Scaeffler (julien.scaeffler@ifremer.fr), Alban Besnard, Soizick Le Guyader

LSEM, IFREMER, Nantes, France

A large number of viruses can be detected in sewage waters, this viral diversity reflecting what is circulating in the local population. Metagenomic sequencing by describing all nucleic acids present in a sample may be a useful approach to appreciate genomic diversity undetectable by medical doctors.

Aims: To compare the viral diversity in samples collected over a 12 years period, by optimizing a method allowing to characterize complete viral genomes.

A total of 7 sewages samples collected in south western France during winter periods from 2006 to 2018 and kept frozen at -20°C were selected. Human enteric viruses have short RNA genomes and are present at low abundance compared to the overall microbiome making their detection difficult. To tackle this challenge, we optimized concentration steps through the use of PEG (polyethylene glycol) precipitation combined or not with sodium pyrophosphate elution. During RNA extraction, purification steps were added and library were prepared using both methods including a negative (deionized distilled water) and a positive control (known sample). Output sequencing data were treated using a bio-informatics pipeline. Briefly, raw reads were quality trimmed before *de novo* assembly followed by BLAST analysis.

The viral fraction represent 3.5% to 44.2% of the total reads numbers in the samples. If we consider only contigs larger then 500 bp, different viral sequences were identified such as astrovirus, picobirnavirus, picornavirus, picobirnavirus, rotavirus, sapovirus and norovirus, with a total number of contigs per sample from 18 to 999. Norovirus represent 4 reads to 24152 reads of the samples, large portion of the genome have been assembled with N50 between 0 and 705.

Interestingly multiple strains of norovirus were detected during years covered by the sampling. But the high diversity of strains in the samples complexify assembly and may explain low values of N50.

Mots clés : metagenomic - sewage - norovirus.

Les oiseaux de bord de mer : une potentielle source d'apport de *Campylobacter* spp. au littoral ?

Joelle Serghine¹ (Joelle.Serghine@ifremer.fr), Nesrine Nabi¹, Amine Boukerb², Julien Cheve³, Christian Penny⁴, Cecile Walczak⁴, Elodie Cauvin⁵, Martine Denis⁶, Valerie Rose⁶, Michele Gourmelon¹

¹SGMM/LSEM, IFREMER, Plouzane, France

²LMSM, Université de Rouen, Evreux, France

³UL/LERBN, IFREMER, Plouzane, France

⁴ERIN, LIST, Belvaux, Luxembourg

⁵Pole Recherche, Labeo Manche, Saint-Lô, France

⁶HQPAP, ANSES, Ploufragan, France

Introduction et objectifs :

Campylobacter, agent causal de gastro-entérites bactériennes d'origine fécale, a été précédemment isolé dans des coquillages du littoral breton (prévalence de 39% ; n=120 lots de coquillages). Une possible source de ces bactéries serait les fientes d'oiseaux sauvages.

Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer la prévalence de *Campylobacter* dans des fientes d'oiseaux du littoral breton et de caractériser une sélection de souches isolées par l'analyse de leur génome complet.

Matériels et méthodes :

Des fientes fraîches de 12 espèces d'oiseaux de bord de mer (n=457) ont été prélevées de juin 2016 à décembre 2018 lors de 24 campagnes de prélèvement. L'isolement des *Campylobacter* spp a été réalisé selon la norme EN.ISO.10272:2006 et l'identification à l'espèce par MALDI-TOF. Les génomes de 92 isolats de *Campylobacter* (75 *C. lari*, 10 *C. coli* et 7 *C. jejuni*) ont été séquencés par Illumina MiSeq. L'assemblage de ces génomes par Spades (v.3.12.0) et le typage MLST (Multi-Locus Sequence Typing) par le logiciel SeqSphere (Ridom) ont permis l'attribution et la comparaison des ST (séquence-type).

Résultats principaux :

La prévalence de *Campylobacter* spp. dans les fientes d'oiseaux est de 51,6%. Des *Campylobacter* ont été isolés dans 88,1% des fientes d'oiseaux type échassier (n=76), 41,7% des laridés et cormorans (n=242), 45,4% des canards, cygnes et oies (n=121) et 72,2% des corneilles noires (n=18). Parmi les 876 isolats de *Campylobacter*, *C. lari* est l'espèce majoritairement retrouvée (26,5%) devant *C. jejuni* (15,1%), *C. coli* (7%) et *C. peloridis* (6,6%), avec une répartition différente selon les espèces aviaires.

Une diversité génétique importante des souches de *Campylobacter* est observée avec 7 ST différents pour *C. jejuni* (n=7), 7 ST pour *C. coli* (n=10) et 57 ST pour *C. lari* (n=75), dont 49 nouveaux ST.

Discussion et conclusion :

Cette étude montre la présence fréquente des *Campylobacter* spp. dans les fientes d'oiseaux avec une grande diversité des souches isolées. Ce travail devrait se poursuivre en analysant plus finement les génomes et en les comparant avec ceux des souches isolées dans des échantillons environnementaux (coquillages, eaux..) pour évaluer la possible implication des oiseaux comme source d'apport de *Campylobacter* au littoral.

Mots clés : Campylobacter - Oiseaux - Génomes - Diversité.

Produce methane and biomolecules of interest from carbon dioxide

Mathieu Sperandio (sperandi@insa-toulouse.fr)

LISBP, Université de Toulouse, CNRS, INRA, INSA, Toulouse, France

While lot of researches are pursuing the goal to valorize organic carbon, i.e. plant biomass, an alternative may be to use or re-use carbon dioxide in the future. Indeed, rather than relying on photosynthesis to capture CO₂, why not explore the direct uptake of CO₂ by micro-organisms?

Many species of microorganisms (bacteria, archae) have abilities to grow through the transformation of carbon dioxide into organic molecules. These microbial metabolisms have allowed the fixation of CO₂ in the early stages of life, and could be reused in what is now called Anthropocene.

Biological methanation consists in producing methane by hydrogenation of CO₂ from microbial populations, hydrogenophilic methanogenic archaea. There is a symbiosis between bacteria and archaea, the former producing acetic acid from H₂ and CO₂ and the latter producing methane from this acetic acid and CO₂ remaining. (Lecker et al., 2017)

The identified bottlenecks of the process are on the one hand, the regular nutrient requirements necessary for the growth and activity of the microorganisms and on the other hand the low hydrogen transfer rates (dissolution of hydrogen in the water to allow the bacteria to consume it) that strongly impact the overall process yields. (Angelidaki et al., 2018)

The scientific work performed in LISBP since 2016 allows the identification of several key success factors in the implementation of a biological methanation process: biodiversity, pH, nutrients, process's tolerance to on / off cycles.

The experiments have also demonstrated the relationship between productivity and CH₄ content in the gas produced: the higher the productivity, the lower is the CH₄ content in the gas produced. Novel contactor systems and optimized reactor architectures must be defined to overcome this limitation. (Berger et al., 2017)

The major outcome of the research program enabled the partners to acquire biological methanation tools (pilot installation designed movable for future on-site implementations) and process management expertise, to test novel process configurations and lead to the design of an intensive solution for CH₄ production.

Mots clés : Biological methanation - CO₂ utilization - Microbial consortia - Gas/ Liquid mass transfer.

Références :

1. Angelidaki, I., Treu, L., Tsapekos, P., Luo, G., Campanaro, S., Wenzel, H., Kougias, P.G., 2018. Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives. *Biotechnology Advances* 36, 452–466. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.011>.
2. Berger, S., Couturier, C., Métivier, S., Dumas, C., Lefebvre, X., Sperandio, M., Hebrard, G., Guerré, V., Palmade, S., Jedliczka, M., JOOS, M., 2017. HyCaBioMe (HYdrogen and CARbon dioxide conversion by BIOlogical Methanation) - Prefiguration of a preindustrial pilot of a biological methanation plant coupled to an anaerobic digester TT -, in: 4.
3. Lecker, B., Illi, L., Lemmer, A., Oechsner, H., 2017. Biological hydrogen methanation – A review. *Bioresource Technology* 245, 1220–1228. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.176>.

Flux de gènes massifs dans une population de *Streptomyces*

Abdoul-Razak Tidjani¹ (abdoul-razak.tidjani@univ-lorraine.fr), Jean-Noël Lorenzi², Maxime Toussaint¹, Erwin van Dijk², Delphine Naquin², Olivier Lespinet², Cyril Bontemps¹, Pierre Leblond¹

¹UMR 1128 UL-INRA DynAMic, Université de Lorraine, INRA, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

²I2BC, University Paris-Saclay, CEA, CNRS, Gif-sur-Yvette, France

Introduction et objectifs :

Les *Streptomyces* sont des bactéries ubiquistes des sols. Elles possèdent un chromosome linéaire de grande taille et sont hautement recombino-gènes, c'est-à-dire prompts à réaliser des transferts horizontaux de gènes. Cependant l'étendue et les conséquences de ces derniers sont peu connues à l'échelle fine de la population bactérienne, définie comme des souches partageant la même niche et étant phylogénétiquement très proches au niveau intra-spécifique.

L'objectif de cette étude a été de déterminer l'intensité des flux de gènes et leurs conséquences dans la diversification d'une population naturelle de *Streptomyces*.

Matériels et méthodes :

Nous avons séquencé et comparé les génomes de 11 souches de *Streptomyces* considérées comme phylogénétiquement quasi clonales et isolées à une micro échelle (mm/cm).

Résultats, discussion et conclusion :

Bien que partageant un ancêtre commun récent, une grande diversité en terme de présence/absence de gènes a été observée entre les souches. Chacune présente un contenu en gènes différent et un tiers du pangéno-mome de la population correspond aux gènes variables. Cette diversité résulterait de 452 événements indépendants d'insertion/délétion (indel) survenus au cours de la diversification de la population. Les indels sont préférentiellement localisés dans les bras du chromosome linéaire des souches (env. 12Mb) et se situent parfois dans des points chauds de recombinaison. Une proportion importante de ces indels portent des signatures d'éléments conjugatifs, indiquant que le transfert conjugatif serait le moteur de la diversité observée. L'analyse fonctionnelle de certains indel a également permis de révéler que parmi les gènes variables certains pourraient conférer un avantage à l'ensemble de la population. Nos résultats indiquent qu'au niveau des populations de *Streptomyces* les flux de gènes sont massifs et s'opèrent rapidement, notamment par conjugaison, sur des temps évolutifs très courts. Cette diversification pourrait avoir un rôle adaptatif important en permettant par exemple de maintenir la cohésion de la population via la production de biens communs.

Mots clés : population bactérienne - génomique comparative - transfert de gènes - évolution - bien commun.

Diversity in the bacterial *Dickeya* genus grouping plant pathogens and waterways isolates

Frédérique Van Gijsegem¹ (vangijse@agroparistech.fr), Jacques Pédrón²

¹IEES, INRA, Paris, France

²Sorbonne-Université, Paris, France

Introduction and objectives:

The *Dickeya* genus comprises aggressive soft rot plant pathogens with wide geographic distribution and host ranges. Ten *Dickeya* species have been characterised. Seven of them (*D. chrysanthemi*, *D. dadantii*, *D. dianthicola*, *D. fangzhongdai*, *D. solani*, *D. paradisiaca*, *D. zea*) group causative agents of maceration-associated diseases that impact a wide variety of crops and ornamentals. As well as isolates from water sources. The three remaining species (*D. aquatica*, *D. lacustris*, *D. undicola*) have recently been isolated only from water sources, so far. Here, we analysed the *Dickeya* genetic diversity in relation to species affiliation and habitats.

Methods:

We compared the genomes of 59 *Dickeya* strains, isolated from various hosts and from different environments, to determine their relatedness both at the genetic level (ANI) and concerning their pan-genome content as well as the occurrence of orthologous or species/strain specific gene families by SiLix analysis.

Results, discussion and conclusion:

Our study revealed the large conservation of virulence-associated genes in most *Dickeya* species (including “water-specific” ones), identified the genome-specific traits of the various species and highlighted the intra-species diversities. At the species level, a contrasting diversity is observed with some species grouping highly related strains while other are much more diverse or at the limit of subdivision in separate species. This is not related to diversity in habitat or geographical origin neither in the extent of the species accessory genome or the number of strain-specific genes. The *Dickeya* genus pangenome analysis did not highlight strain clustering following host/environment of isolation and the different *Dickeya* species present few specific characteristics and even less specific gene losses that are frequently found in specialized human pathogens, reflecting the broad host range of this genus. No “water-specific” genes were identified pointing to *Dickeya* spread via waterways and thus irrigation water as a potential threat for economically important crops.

Mots clés : Comparative genomics - plant pathology - pectinolytic bacteria - enterobacteria - soft rot.

Sensibilité des capteurs passifs pour la détection de virus entériques humains, bactéries pathogènes et bactéries indicatrices de contamination fécale en milieu estuarien

Françoise Vincent-Hubert¹ (fvincent@ifremer.fr), Candice Wacrenier¹, Benjamin Morga², Cyrielle Le Cadet², Solen Lozach³, Emmanuelle Quenot³, Dominique Hervio-Heath³, Michèle Gourmelon³, Soizick Le Guyader¹

¹SG2M/LSEM, IFREMER, Nantes, France

²SG2M:LGPM, IFREMER, La Tremblade, France

³SG2M/LSEM, IFREMER, Plouzané, France

Introduction et objectif :

Dans un contexte de changement global, le suivi de la diversité microbienne en milieu marin côtier est devenu essentiel en termes de santé et d'impact sur les écosystèmes. Jusque-là restreinte à quelques microorganismes, la détection de virus et bactéries en milieu marin reste difficile. Afin de faciliter leur détection, nous avons développé un système d'échantillonnage passif basé sur les capacités d'adsorption de différents types de membranes. L'objectif de cette nouvelle étude était de sélectionner un type de membrane qui soit suffisamment sensible pour mesurer les variations de concentration qui peuvent survenir au cours du temps.

Matériels et méthodes :

Différents types de membranes, nylon, zetapor, polyéthylène basse densité (LDPE), ont été déployés en milieu estuarien en aval d'une station d'épuration pendant une année. Les membranes ont été immergées pendant 48h et 2 semaines, et plusieurs microorganismes ont été recherchés: les norovirus (NoV) des génogroupes (G) I et II, virus humains responsables des gastro-entérites, les bactéries *Vibrio* spp., et les espèces *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus*, potentiellement pathogènes pour l'homme, le virus OshV-1, pathogène de l'huître, et les *Bacteroidales* (marqueur Général : AllBac), bactéries indicatrices d'une contamination fécale. Leurs génomes ont été détectés par qRT-PCR ou qPCR.

Résultats et conclusion :

Quel que soit le type de membrane et le temps d'immersion, *Vibrio* spp. et les *Bacteroidales* ont été détectés et quantifiés pendant toute l'année, tandis que les NoV GII ont été détectés et quantifiés en hiver et au printemps, période correspondant au pic de gastro-entérites dans la population humaine. D'autres micro-organismes tels que les NoV GI, *Vibrio alginolyticus* et OshV-1 ont rarement été détectés. Les capteurs passifs à base de nylon sont plus performants pour une détection à la fois des NoV GII, *Vibrio* spp. et des *Bacteroidales*.

L'échantillonnage passif permettra de nouvelles applications comme l'étude du microbiome par séquençage de nouvelle génération afin d'analyser la diversité des microorganismes et de rechercher des pathogènes émergents.

Mots clés : Capteur passif - Milieu estuarien - norovirus - *Vibrio* spp - *Bacteroidales*.

Protocoles de nettoyage et de désinfection des canalisations d'eau en post-sevrage : intérêt et faisabilité

Mily Leblanc-Maridor¹ (leblanc.maridor@gmail.com), Sophie Brilland², Catherine Belloc¹, Patrick Gambade³

¹BIOEPAR, INRA, Oniris, Nantes, France

²CEVA SANTE ANIMALE, Laval, France

³UNIVET Santé Elevage, Loudéac, France

L'objectif de cette étude est d'évaluer la faisabilité et l'efficacité de la mise en place de deux protocoles de nettoyage-désinfection des canalisations d'eau (inspirés des pratiques réalisées en élevage de volailles) au sein d'élevages de porcs en salles de post-sevrage et d'évaluer l'impact sur la qualité microbiologique de l'eau et sur l'état des canalisations d'eau.

Trois élevages porcins équipés d'un double circuit d'eau en post-sevrage de type « épi » et présentant un historique de troubles digestifs ont été choisis. Deux détergents, une base chimique Sanolin® (hydroxyde de potassium) et un détergent neutre enzymatique Sanozym® (mélange de tensio-actifs dégraissants, de protéases et d'amylases) et un acide Sanocidex® (acide peracétique 5%, peroxyde d'hydrogène 14,5%) ont été testés. Une purge du circuit est réalisée préalablement à la mise en place des produits chimiques et effectuée comme étape de rinçage (écoulement sous pression de l'eau du circuit d'eau horizontal de la salle via la vanne de purge terminale puis via les descentes d'abreuvoirs). Pour évaluer l'évolution et la quantification du biofilm au sein des canalisations, des écouvillons coton ont été réalisés. Le dénombrement de la flore totale à 22°C et à 37°C a permis de suivre la qualité bactériologique de l'eau au cours des protocoles.

L'eau circulant dans les canalisations s'enrichit en flore bactérienne lors de son trajet du fait du biofilm, qui se développe à la surface interne des canalisations. Les deux protocoles permettent une diminution de la flore totale au sein des canalisations. La purge est une première étape, nécessaire mais non suffisante, permettant d'augmenter la surface de contact des produits chimiques : détergents et acide appliqués ultérieurement. La mise en place de ces protocoles en élevages porcins requiert l'installation de vannes de purges peu coûteuses qui, en associant les actions mécaniques et chimiques, permettent l'entretien des canalisations ainsi que l'amélioration de la qualité de l'eau d'abreuvement. Il serait intéressant de mesurer la vitesse de recontamination des canalisations afin de définir au mieux une fréquence de mise en place d'un protocole complet associé à des purges pour trouver un optimum alliant qualité de l'eau et praticité pour les éleveurs.

Mots clés : Qualité - Eau - Biofilm - Canalisation - Elevage.

Criblage de marqueurs fluorescents pour caractériser l'organisation structurale des colonies cellulaires de la microalgue, *Botryococcus braunii*

Catherine Dupré¹ (catherine.dupre@univ-nantes.fr), Dominique Grizeau², Stéphanie Dutertre³

¹GEPEA UMR 6144, Université Nantes, Saint-Nazaire, France

²GEPEA UMR 6144, Polytech Nantes, Saint-Nazaire, France

³CNRS Inserm Biosit MRic- UMS 3480, Université Rennes, Rennes, France

Introduction et objectifs :

Botryococcus braunii est une espèce microalgale connue pour ses capacités à produire des hydrocarbures liquides. Si la composition de ces hydrocarbures est souche-dépendante, ils sont tous excrétés dans une matrice extracellulaire. Celle-ci est essentiellement composée d'hydrocarbures polymérisés. Ainsi, cette espèce produit un exométabolite qui se trouve piégé dans une matrice à forte hydrophobicité. Divers travaux ont déjà été menés pour mettre au point un procédé de type milking visant à récupérer les hydrocarbures liquides sans impacter la viabilité cellulaire. Ces approches impliquent l'utilisation d'enzymes ou de solvants biocompatibles en réacteurs bi-phasiques. Ces méthodes ont en commun de viser à déstructurer partiellement les colonies en vue de libérer les hydrocarbures liquides. L'objectif de l'étude est de cribler l'efficacité de différents marqueurs fluorescents pour pouvoir co-localiser les différentes fractions au sein des colonies cellulaires, en tenant compte de l'autofluorescence de la chlorophylle.

Matériel et méthodes :

L'étude porte sur la souche *B. braunii* 30.81 cultivée sur milieu AF6 enrichi. Un traitement par choc osmotique permet d'obtenir des matrices acellulaires. Les fluorochromes testés sont le Nile Red, le Bodipy, le Calcofluor, l'Auramine O, la Berbérine. Les observations sont réalisées en microscopie confocale sur un confocal SP8 Leica et un LSM 800 Airyscan Zeiss. Le logiciel Zen lite est utilisé pour l'analyse spectrale des signaux fluorescents en vue d'optimiser leur résolution lors de multimarquages.

Résultats, discussion et conclusion :

Les zones d'accumulation de lipides intracellulaires et d'hydrocarbures liquides sont révélées par le Nile Red et le Bodipy. Les hydrocarbures liquides sont révélés par la berbérine. Les hydrocarbures polymérisés à plus de 80 carbones sont révélés par l'Auramine O. Les parois cellulaires sont marquées par le Calcofluor. L'analyse spectrale des signaux obtenus permet de définir des longueurs d'onde d'excitation et d'émission pour une discrimination relative de certains de ces marquages, incluant l'autofluorescence de la chlorophylle.

Ce criblage révèle l'utilité de deux marqueurs utilisés pour la première fois sur des microalgues, la Berbérine utilisée classiquement pour révéler des hydrocarbures en chromatographie et l'Auramine O pour révéler des acides mycoliques en bactériologie. Ces outils sont actuellement utilisés pour des acquisitions d'images 3D avec analyse de co-localisation.

Mots clés : marqueurs fluorescents - *Botryococcus braunii* - microalgue - multimarquage - co-localisation.

Impact de différents stress sur la production de Hsp12 par *Saccharomyces Cerevisiae*

C. Coat, A. Léger A, C. Cabanne, Agnès Hocquellet (Agnès.Hocquellet@bordeaux-inp.fr)

Bordeaux INP, CBMN, UMR 5248, Pessac, France

La protéine de stress Hsp12 est exprimée par *Saccharomyces cerevisiae* au cours de la fermentation en réponse à différents stress liés aux conditions environnementales des cellules. Des études précédentes ont montré une corrélation entre le niveau d'expression de Hsp12, la perception d'une sucrosité du vin et la présence de certaines souches de levures. Il reste cependant à démontrer que la protéine Hsp12 est bien responsable de cette sensation sucrée dans le vin.

Au cours de la culture de levures, la phase de production de Hsp12 commence au moment de la transition diauxique et la quantité de Hsp12 obtenue après 18h de culture atteint 2 mg par litre de culture. Des études ont montré que lors de l'application de stress le taux d'ARNm de Hsp12 est augmenté sans démontrer que la quantité de protéine l'est également. Le but de cette étude est donc de confirmer ou non que l'augmentation de la quantité d'ARNm précédemment décrite est corrélée à la production de Hsp12.

Des stress de courte durée (1 heure) ont été appliqués à des cultures de la souche œnologique FX10 (Laffort) de *S. cerevisiae* : stress thermique à 40°C, stress osmotique à 400 mM de NaCl et stress éthanolique à 12 % (vol./vol.) d'éthanol. La quantité de biomasse et les concentrations en glucose et en éthanol de ces cultures ont été suivies par mesure de la densité optique et par dosage enzymatique respectivement. Après traitement des échantillons de culture, la protéine Hsp12 a été quantifiée par ELISA. Les résultats obtenus ont fait l'objet d'analyses statistiques (T-test et test de Mann Whitney) dans le but de vérifier leur significativité.

Les stress thermique à 40°C et osmotique à 400 mM de NaCl provoquent une augmentation de la production de la protéine Hsp12 tandis que l'effet inverse est provoqué par le stress éthanolique à 12 % (vol./vol.).

A ce jour, l'impact de ces stress sur la protéine Hsp12 native n'a jamais été mis en évidence.

Mots clés : *Saccharomyces cerevisiae* - Hsp - bioproduction.



Société Française
de Microbiologie

MICROBES ●●●●●
15^e congrès national de la **SFM**

LISTE DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES

SP1 - Agents antimicrobiens

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
ANSSOUR	Lynda	Prévalence et caractérisation de souches d'entérobactéries résistantes aux fluoroquinolones isolées de chiens et chats domestiques	SP1-P01
BABOSAN	Anamaria	A mechanism for aminoglycosides-mediated SOS induction in <i>Escherichia coli</i> that selects for fluoroquinolone resistance	SP1-P02
BAHAROGLU	Zeynep	Indole signaling triggers a new persistence mechanism involving RaiA mediated translation slowdown in <i>V. cholerae</i>	SP1-P03
BARBRY	Alexia	Evaluation de nouveaux composés antimicrobiens ciblant la protéine FtsZ	SP1-P04
BAUCHERON	Sylvie	Fluoroquinolone resistance mechanisms in multidrug-resistant <i>Salmonella</i> Brandenburg isolated from hospitalized patients	SP1-P05
BEYROUTHY	Racha	Molecular Epidemiology of OXA-48-Like-Producing <i>K. pneumoniae</i> Isolated in France in 2014	SP1-P06
BUYCK	Julien	Use of a semi-mechanistic PK-PD model to quantify the combination effect of polymyxin B and minocycline against polymyxin-resistant <i>Acinetobacter baumannii</i>	SP1-P07
		In vitro study of antibiotic combinations efficacy on multiresistant <i>Achromobacter xylosoxidans</i> strains	SP1-P08
		In vitro evaluation of novel bi- or tri-antibiotic combinations against clinical isolates of <i>Mycobacterium abscessus</i>	SP1-P09
		"PK/PD" type of modelling approach to support time-kill data interpretation of ceftioxin for the treatment of <i>Mycobacterium abscessus</i>	SP1-P10
CATTOIR	Vincent	Caractérisation de <i>cfr(D)</i> , un nouveau gène plasmidique de résistance au linézolide chez <i>Enterococcus faecium</i>	SP1-P11
		Bilan des entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) en France, 2006-2018	SP1-P12
CHAGNEAU	Camille	La gènes toxine colibactine est produite lors d'infections urinaires à <i>Escherichia coli</i> et induit des dommages à l'ADN dans la vessie	SP1-P13
COLLARD	Jean-Marc	Clonal transmission, new mechanism of resistance to trimethoprim in a new <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> sequence-type isolated in a neonatology unit deciphered by whole genome analysis	SP1-P14
DEJOIES	Loren	Support, environnement génétique et transférabilité du gène de résistance au linézolide <i>poxA</i> chez les entérocoques	SP1-P15
DOUARRE	Pierre-Emmanuel	Global analysis of beta-lactams resistant plasmids	SP1-P16
ECALE	Florine	Sensibilité in vitro de souches du microbiote intestinal aux antibiotiques	SP1-P17
EL FATTAHI	Youssef	Kinetic characterization of soluble form of <i>Enterococcus hirae</i> BBP4 using bacillin	SP1-P18
EMERAUD	Cécile	Épidémiologie moléculaire de souches d' <i>Enterobacter cloacae</i> productrices de métallob-lactamase de type VIM en France entre 2015 et 2018	SP1-P19
ESPELI	Olivier	The Cronh's disease associated <i>E. coli</i> LF82 forms intracellular bacterial communities inside macrophages where antibiotic tolerant persisters accumulate	SP1-P20
FEDERIGHI	Michel	A new, simple and direct method to assess antimicrobial properties of untreated wood	SP1-P21
FORESTIER	Christiane	A conjugation-based delivery vehicle with CRISPR-Cas system targeting carbapenemase encoding genes	SP1-P22
IBIJBIIEN	Jamal	Effet des huiles essentielles du pistachier de l'Atlas « <i>Pistacia atlantica</i> Desf. » sur <i>Staphylococcus aureus</i> , agent causal de nombreuses affections buccales	SP1-P23
HARTKE	Axel	Increased Demethylmenaquinone-Dependent Reactive Oxygen Species Formation by β -Lactams in <i>Enterococcus faecalis</i>	SP1-P24
IORGA	Bogdan	Structural insights into class C and D beta-lactamases	SP1-P25
KHELISSA	Simon	Use of quaternary ammonium compounds-microencapsules to fight against pathogenic biofilms	SP1-P26

KOUADIO	Irène Ahou	Etude des propriétés bactéricides des feuilles de <i>Spondias mombin</i> L. consommées sous forme d'infusion en Côte d'Ivoire	SP1-P27
KOUEMO MOTSE	Dorgelsse F.-A.	Etiologic profile and sensitivity pattern of germs responsible for urinary tract infection among underfive in Douala, Cameroon: a hospital-based study	SP1-P28
		Predictors of urinary tract infection and their diagnostic performances among underfive admitted at the Bonassama District hospital in the town Douala	SP1-P29
KUATE FOKAM	Guy Duplex	Etude du profil bactériologique des poches de sang transfusé au CHU et à l'Hôpital Central de Yaoundé/Cameroun	SP1-P30
LAROUCSI	Haifa	Determination of the required origin-of-transfer sequence for DNA transfer of a MOBT relaxase mediating the transfer of Integrative and Conjugative Elements in Firmicutes	SP1-P31
LEBLOND	Nathalie	The ICE/IME Finder approach and its application to the ICE/IME annotation in <i>Streptococcus</i>	SP1-P32
LÉON	Albertine	Etude de la production de biofilm, de la résistance aux antibiotiques et aux biocides chez des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolées chez l'homme et l'animal	SP1-P33
LESCAT	Mathilde	Evaluation of antimicrobial activity of octenidine and chlorhexidine against multidrug-resistant Gram-negative pathogens, including polymyxin-resistant isolates	SP1-P34
MAGALLON	Arnaud	<i>Achromobacter</i> : étude des mécanismes de résistance aux fluoroquinolones	SP1-P35
NAAS	Thierry	Unravelling ceftazidime-avibactam resistance of KPC-28, a KPC-2 variant lacking carbapenemase activity	SP1-P36
IBIJBIIEN	Jamal	Chemical composition and antibacterial activity of <i>Lavandula pedunculata</i> (Miller) Cav. subsp. <i>atlantica</i> (Br.-Bl.) Romo	SP1-P37
ONTSIRA NGOYI	Esther Nina	<i>Pseudomonas</i> Colistin Resistance Encoded by the <i>mcr-1</i> Gene in Brazzaville, Congo	SP1-P38
		Beta-lactamases, types TEM, CTX-M, SHV and OXA-48 in <i>Escherichia coli</i> , from Brazzaville, Congo	SP1-P39
PATINO NAVARRETE	Rafael	Genomic insights into Carbapenemase-producing <i>Escherichia coli</i> isolated in France	SP1-P40
PHAN	Gilles	Structural study of the two-component system response regulator ParR from <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SP1-P41
POT	Matthieu	Projet ECHANGENE : Étude des échanges de gènes de résistance aux antibiotiques entre bactéries de différents biotopes	SP1-P42
QUEVILLON-CHERUEL	Sophie	Two strategies to load bacterial replicative helicases	SP1-P43
RENARD	Stéphane	A novel class of antibiotic with an unprecedented uptake mechanism in Gram negative pathogens	SP1-P44
SAYOU	Camille	Investigating bromodomains as a potential new antifungal drug target	SP1-P45
SOLER	Nicolas	Characterization of a relaxase of the MOBT family, a unique family of relaxases mediating the transfer of numerous Integrative and Conjugative Elements from Firmicutes	SP1-P46
STEUNOU	Anne-Soisig	Iron Import to Counter the Toxic effects of Copper or Cadmium Overload in Bacteria, a Delicate Balance	SP1-P47
SU	Wei Lin	Approaches to study persistence to bactericidal antibiotics in <i>E. coli</i>	SP1-P48
SUZANNE	Loret	Prevention of the horizontal transfer of antibiotic resistance genes: validation of the DNase effect of biocides used in research laboratories	SP1-P49
TETARD	Alexandre	Association antibiotiques - extraits d'huiles essentielles : effets antagonistes chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SP1-P50
VASSORT	Aurélié	A broad-spectrum bacterial gyrase inhibitor with a novel scaffold	SP1-P51
VERNEUIL	Nicolas	Inactivation of D-alanylation of teichoic acids sensitizes Gram+ pathogens to β -lactams	SP1-P52

SP2 - Microbiologie des aliments

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
ABDELRAHIM	Abakabir Mahamat	Caractéristiques toxiques et diversité génétique des souches de <i>Clostridium perfringens</i> impliquées dans les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) en Ile-de-France	SP2-P01
BOUHAMED	Radia	<i>Campylobacter</i> thermotolérants en Algérie : Portage intestinal, contamination superficielle des carcasses réfrigérées et étude de la sensibilité aux antibiotiques	SP2-P02
BRAUGE	Thomas	Évaluation des méthodes d'échantillonnage recommandées par la norme ISO 18593 pour la recherche des biofilms de <i>Listeria monocytogenes</i> sur les surfaces de transformation alimentaire	SP2-P03
		Impact du stress biocide sur la viabilité des cellules de <i>Listeria monocytogenes</i> en biofilm et sur leurs transferts des surfaces vers l'aliment	SP2-P04
COPIN	Stéphanie	Comparaison de la toxicité du traitement par l'éthidium monoazide (EMA) et par le propidium monoazide (PMA) pour différencier les <i>Vibrio</i> viables par PCR en temps réel	SP2-P05
DEHAN	Océane	Evaluation de trois membranes filtrantes et de deux méthodes pour la détection de NoV et VHA dans les eaux de boisson	SP2-P06
DEMARIGNY	Yann	Utilisation du procédé Néose® pour le suivi aromatique de yaourts	SP2-P07
DENIS	Catherine	Impact de l'utilisation de <i>Bacillus thuringiensis</i> au champ sur la contamination des végétaux frais prêts à l'emploi	SP2-P08
		Discrimination entre <i>Bacillus thuringiensis</i> et les autres espèces du groupe <i>B. cereus</i> par la détection des gènes cry et la méthode HRM	SP2-P09
DESMASURES	Nathalie	Study of phage communities in Normandy ciders	SP2-P10
ESNAULT	Emilie	<i>Yersinia enterocolitica</i> dans le lait cru en Algérie, quel risque ?	SP2-P11
HERVIO HEATH	Dominique	Développement et standardisation d'une méthode miniaturisée pour le dénombrement de <i>Vibrio</i> spp. potentiellement entéropathogènes pour l'homme dans les produits de la mer	SP2-P12
JAN	Gwénaél	Fermented milks, using <i>Lactobacillus casei</i> or <i>Propionibacterium freudenreichii</i> , prevent mucositis, a side effect of chemotherapy, in mice	SP2-P13
MUJA	Cristina	Spices decontamination using a low-pressure microwave plasma source	SP2-P14
N'GUESSAN	Elise	Prevalence of <i>B. cereus</i> in Ivory Coast traditional produced flours	SP2-P15
		Prevalence of <i>B. cereus</i> and emetic strains detection from Ivory Coast local flours	SP2-P16
NAGARD	Bérengère	Devenir et caractérisation de <i>Campylobacter</i> spp au cours de la méthanisation mésophile d'effluents d'élevage	SP2-P17
NGARI	Chrisse	Impact des propriétés de surfaces des bactéries sur la distribution spatiale de <i>Staphylococcus aureus</i> dans des matrices complexes émulsionnées	SP2-P18
NIA	Yacine	Organisation d'essai inter laboratoire International pour des MOT et Non-MOT : cas des entéro-toxines staphylococciques	SP2-P19
REZÉ	Sandrine	Validation de la RT-qPCR en vue d'évaluer l'effet de stress sur l'expression génique de <i>Campylobacter jejuni</i>	SP2-P20
SOREE	Marion	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> : caractérisation de la virulence, inhibition de la croissance et atténuation de la virulence par des bactéries lactiques	SP2-P21

SP3 - Microbiote et toxicologie

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
BADIOU	Cédric	Impact de la flore vaginale sur la production de la toxine TSST-1 par <i>Staphylococcus aureus</i>	SP3-P01
MOALIC	Pierre-Yves	Caractérisation du microbiote 16S de la flore digestive chez <i>Gorilla gorilla</i>	SP3-P02
ROCHEGÜE	Tony	Fecal microbiota and antibiotic resistance determinants in calves undergoing amoxicillin treatment	SP3-P03

ROUSSELLE	Christophe	Microbiote : un nouveau paradigme en toxicologie ?	SP3-P04
VERSTRAETE	Emma	Mise en place d'une approche de qPCR pour l'analyse du microbiote intestinal des patients greffés de cellules souches hématopoïétiques	SP3-P05
VOLAND	Lise	Improvement of metabolic phenotypes by drug combined action on inflammation and gut microbiota	SP3-P06
BARRE	Valérie	ATCC® Site-Specific Mock Community Standards for Human Microbiome Applications	SP3-P07

SP4 - Microbiologie clinique

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
AL MIR	Hiba	Healthy carriage of colistin-resistant, ESBL/AmpC- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Lebanese workers	SP4-P01
ALAUZET	Corentine	Trois ans d'utilisation du système Panther Fusion® (Hologic, Tucson) pour la détection des IST bactériennes au CHRU de Nancy	SP4-P02
BERAUD	Laetitia	Leukocyte inflammatory response in patients with severe Legionnaires' Disease: a preliminary study	SP4-P03
BONNET	Isabelle	Détection rapide et simultanée du génotype et de la résistance aux antibiotiques chez M. tuberculosis grâce au Genelead VIII combiné au Deeplex-MycTB	SP4-P04
BOUCHERIT-OTMANI	Zahia	Molecular identification of clinical species Candida through the application of PCR RFLP	SP4-P05
BOYER	Pierre	Impact de l'ensemencement systématique de géloses sélectives sur l'étude microbiologique des liquides péritonéaux	SP4-P06
BRIDEL	Sébastien	Caractérisation d'agents infectieux par spectrométrie de masse MALDI-TOF : application à l'espèce pathogène des poissons marins Tenacibaculum maritimum	SP4-P07
COINTE	Aurélié	Caractérisation moléculaire de deux souches de Escherichia coli entérohémorragiques O80 de pathotype hybride produisant une bêta-lactamase à spectre étendu et implication thérapeutique	SP4-P08
DALI-SAHI	Majda	Epidémiologie génétique de l'infection à Helicobacter pylori dans une population Algérienne	SP4-P09
DIA	Mouhamadou Lamine	Première description de gastroentérite à rotavirus génotype G12 au CHU de Dakar (Sénégal)	SP4-P10
		Mécanismes de la résistance aux β-lactamines de souches de Staphylococcus aureus isolées au CHU de Dakar (Sénégal)	SP4-P11
ESNAULT	Emilie	Présence de Y. enterocolitica chez les animaux de compagnie en France : étude préliminaire	SP4-P12
GRILLON	Antoine	Tests alternatifs pour le diagnostic de la borréliose de Lyme : revue systématique de la littérature	SP4-P13
GUETARNI	Hassina	Dépistage de Helicobacter pylori responsable de la maladie ulcéreuse en Algérie	SP4-P14
GUEUDET	Thomas	Est-il possible de quantifier les mycoplasmes genitiaux à partir d'un eSwab par la technique PCR BioGX sur BD MAX ?	SP4-P15
		Positionnement du kit Sepsityper en routine dans un laboratoire	SP4-P16
HENRY	Stéphanie	Etude de la sensibilité et de la spécificité de la détection de Mycobacterium leprae par amplification de la séquence RLEP par PCR en temps réel	SP4-P17
JOLY	Johan	Stratégie de diagnostic des infections respiratoires à Streptococcus pneumoniae chez l'enfant à l'aide d'un test immunochromatographique dans les prélèvements respiratoires	SP4-P18
LACHACHI	Meryem	La transmission croisée des agents infectieux et les risques liés aux soins dentaires	SP4-P19
LEHOURS	Philippe	Arcobacter butzleri et mécanismes de résistance aux antibiotiques	SP4-P20

LORIOT	Cecilia	Evaluation de la spécificité du kit Biotoxis pour <i>Francisella tularensis</i> sur des échantillons hospitaliers	SP4-P21
MAKHLOUFI	Meriem	Méningites nosocomiales, service de neurochirurgie du CHU de Batna	SP4-P22
		Profil bactériologique et antibiologique des infections urinaires au niveau du service de Néphrologie du CHU de Batna durant les années 2017, 2018	SP4-P23
MOALIC	Pierre-Yves	Génomique et protéomique : les nouveaux outils pour la caractérisation en routine des souches bactériennes d'intérêt vétérinaire	SP4-P24
MOHAMED LEMINBE	El moctar Ely	Coïnfection hépatite B et Delta : prévalence et caractéristiques sérologiques chez une population Mauritanienne	SP4-P25
		Les infections génitales chez la femme : caractéristiques cliniques et microbiologiques chez une population Mauritanienne	SP4-P26
NAAS	Thierry	BL-Detect tool: A Device for Rapid and Direct Detection of CTX-M and carbapenemases in Biological Samples	SP4-P27
OUASSA	Timothée	Portage asymptomatique de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> et de <i>Chlamydia trachomatis</i> chez des sujets adultes à Abidjan, Côte d'Ivoire	SP4-P28
PAGÈS MONTEIRO	Laurence	Performance du VITEK®2 et de l'Advanced Expert System v8.01 dans la détection de la méticilline résistance chez les staphylococcus à coagulase négative	SP4-P29
PIERRE	Chantal	Amélioration du remplissage des hémocultures après acquisition d'un VirtuO® et formation à l'utilisation des flacons BacT/Alert® à l'IMM	SP4-P30
POTIRON	Grégoire	IST : Impact du passage à une méthode de PCR multiplexe	SP4-P31
RAMANANTSOA	Céline	Pertinence des prescriptions hospitalières d'Examens Cyto-Bactériologiques des Urines	SP4-P32
ROBERT-PILLOT	Annick	Infections à <i>Vibrio</i> non cholériques en France, 23 ans de surveillance	SP4-P33
RUPPE	Etienne	Métagénomique clinique : conclusions du groupe de réflexion Paris-Genève	SP4-P34
RUTH	Isabelle	Évaluation des performances du nouveau kit ID now Strep A2 (Abbot, USA) en comparaison à la culture pour la recherche du <i>Streptococcus pyogenes</i> dans les frottis de gorge	SP4-P35
SCHRAMM	Frédéric	Accréditation de l'activité de mycobactériologie : retour d'expérience du CHU de Strasbourg	SP4-P36
		Antibiogrammes des bactéries dépourvues de concentrations critiques cliniques : retour d'expérience du CHU de Strasbourg	SP4-P37
SCHVOERER	Evelyne	Identification par séquençage haut débit de signatures moléculaires en lien avec la pathogénicité et les modes de transmission du virus de l'hépatite E	SP4-P38
SISSINTO SAVI DE TOVÉ	Yolande	La paragonimose chez les tousseurs chroniques à Cotonou au Bénin	SP4-P39
SIVIGNON	Adeline	Cellulose fonctionnalisée par un heptyl-mannose : un nouvel outil thérapeutique et diagnostique ciblant les <i>Escherichia coli</i> adhérents et invasifs	SP4-P40

SP5 - Microbial pathogenesis and fundamental microbiology

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
ATMANI	Sara Mimi	Virulence characteristics of nosocomial CTX-M β -lactamase-producing <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolates from a hospital in Algiers, Algeria	SP5-P01
BLANCO	Amandine	Control of the subcellular localization of host nuclear proteins by <i>Brucella</i> effectors	SP5-P02
BRIAUD	Paul	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> alters <i>Staphylococcus aureus</i> transcriptome and increases its antibiotic resistance and internalization within pulmonary cell line	SP5-P03
CAILLIEZ-GRIMAL	Catherine	Adaptation de la méthode vapeur/PBS turbidité à l'étude de l'adhésion des bactéries anaérobies	SP5-P04
CAMUS	Laura	Modifications métaboliques chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en coexistence avec <i>Staphylococcus aureus</i>	SP5-P05
CHIARELLI	Adriana	Colony variation in <i>Klebsiella pneumoniae</i> reveals spontaneous capsule loss	SP5-P06

CONDE	Cyril	Whole-Genome Sequencing of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: application for in silico IS900-analysis	SP5-P07
DALMASSO	Guillaume	Epithelial to mesenchymal transition in response to E. coli-induced senescence-associated secretory phenotype induced chemotherapeutic drug resistance	SP5-P08
DELAFONT	Vincent	Genomic insight into non-canonical Coxiellaceae symbionts of free-living amoebae	SP5-P09
DIOT	Alan	Comprendre le mécanisme d'internalisation de Staphylococcus aureus pour définir une nouvelle voie thérapeutique	SP5-P10
GAUDU	Philippe	Group B streptococcus virulence is partly governed by the regulator, Rex, a sensor of NAD/NADH ratio	SP5-P11
HOUNGBEGNON	Olivia	Exploring the virulence pattern and antibiotic resistance of Escherichia coli strains isolated from diarrheal stool in Benin	SP5-P12
JOSEPH	Laura	Caractérisation d'une nouvelle structure de surface de type « chaperone-usher » impliquée dans la pathogénicité de Klebsiella pneumoniae	SP5-P13
KOUEMO MOTSE	Dorgelesse F. A.	Attrition, deaths and treatment therapy coverage on the TB chemotherapy in the Littoral Region of Cameroon: A meta-analysis of cure rate between 2014 and 2016	SP5-P14
LYONNAIS	Sébastien	Imagerie de virus et bactéries infectieux par Microscopie à Force Atomique L3	SP5-P15
MARRAKCHI	Hedia	Targeting the mycobacterial cell envelope	SP5-P16
MESSALA	Amina	Etude des associations d'antibiotiques chez les souches de Klebsiella pneumoniae productrices de B-lactamases à spectre étendu « BLSE » isolées au centre de lutte contre le cancer Batna, Algérie	SP5-P17
PETRACCHINI	Serena	Corruption of Host Cell biomechanics by invasive pathogens	SP5-P18
MIQUEL	Sylvie	Distal Immunomodulatory effects of Lactobacillus plantarum on inflammatory response induced by Klebsiella pneumoniae	SP5-P19
MOUSSOUNI	Malika	Contribution du canal CFTR à la susceptibilité des embryons de poisson-zèbre à l'infection par Pseudomonas aeruginosa et développement d'une nouvelle stratégie antivirulence	SP5-P20
MUGGEO	Anaëlle	Virulence augmentée de Pseudomonas aeruginosa résistant aux carbapénèmes par modification de la porine OprD sur l'épithélium des voies aériennes humaines	SP5-P21
TAHRIQUI	Ali	Pseudomonas aeruginosa virulence attenuation by Mulinium crasiifolium plant from Taira Atacama's community (Calama, Chile)	SP5-P22
POTHERET	Damien	Etude de la réponse mitochondriale à une infection intracellulaire des ostéoblastes par Staphylococcus aureus	SP5-P23
ROUSSIN	Morgane	Deciphering the mechanisms of secretion of bacterial TIR domain-containing proteins	SP5-P24
TOMAS	Nicolas	Novel enzymes involved in mycobacterial lipid metabolism	SP5-P25
TSOUMTSA MEDA	Landry Laure	Proteome remodeling induces by the Cytotoxic Necrotizing Factors 1	SP5-P26
ZHU	Yueying	Two iron acquisition systems contribute to the virulence of the fish pathogen Flavobacterium psychrophilum	SP5-P27

SP6 - Microbiologie environnementale et écologie microbienne

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
IBIJBIDEN	Jamal	Phosphate solubilizing bacteria isolated from different plants rhizosphere and their PGP traits	SP6-P01
ANGIA SRIRAM	Pradeep Ram	Viral lysis impact prokaryotic growth efficiency: evidence from a freshwater reservoir system (Villerest, France)	SP6-P02
BRAHMI	Karima	Inventaire des Culicidae dans la wilaya de Tizi Ouzou	SP6-P03
		Inventaire des arthropodes parasitent les animaux d'élevage et étude de quelques parasitoses bovines dans la région Draa Ben Khedda et Fréha	SP6-P04

CATOVIC	Chloé	Acne et Stress : Impact des catécholamines sur Cutibacterium acnes	SP6-P05
		Influence de la composition des textiles sur la virulence des germes cutanés	SP6-P06
COLIN	Béatrice	Effets de nouveaux revêtements antifouling sur l'adhésion de bactéries marines	SP6-P07
CONRAD	arnaud	Evaluation réglementaire des risques pour l'environnement et les espèces non cibles, liés à l'utilisation de microorganismes comme agents de protection des cultures	SP6-P08
DUPONT	Chloé	Site RABLez : Résistance aux Antibiotiques dans le Bassin du Lez, un site d'étude de l'antibiorésistance environnementale au cœur de Montpellier	SP6-P09
		Diversité des souches du genre Bordetella isolées des voies respiratoires et de l'environnement domestique de patients atteints de mucoviscidose	SP6-P10
DUPRÉ	Catherine	Complexes multienzymatiques pour une algoraffinerie in situ ; déstructuration contrôlée de colonies de la microalgue Botryococcus braunii pour une extraction sélective d'hydrocarbures	SP6-P11
GARDETTE	Marion	Rôle du monoxyde d'azote, un médiateur de la réponse immune mucoale, dans le devenir des infections à Escherichia coli entérohémorragique	SP6-P12
		Rôle de la NO réductase NorVW dans la survie et la virulence des Escherichia coli entérohémorragiques au cours du processus infectieux	SP6-P13
GOLDSTEIN	Arthur	Diagnostic fonctionnel microbien des sols agricoles grâce à la millifluidique de gouttes	SP6-P14
IBIJIJEN	Jamal	Effect of rock phosphate-solubilizing bacteria on the growth and phosphorus uptake of bean (Vicia faba L.) in Morocco	SP6-P15
NGOM	Serigne Inssa	Criblage de souches de Bacillus extrémophiles isolées au Maroc pour des activités de dégradation des fibres végétales, en vue d'applications en biotechnologies	SP6-P16
RICHARD	Elise	Evaluation du risque de leptospirose liée aux eaux de baignade	SP6-P17
ROSE	Valérie	Comparison of Campylobacter jejuni using MALDI-TOF to identify relationships between different origins: poultry, bovine, sheep, shorebird, river and shellfish	SP6-P18
SCAHEFFER	Julien	Enteric virus diversity in sewages collected during last decade	SP6-P19
SERGHINE	Joelle	Les oiseaux de bord de mer : une potentielle source d'apport de Campylobacter spp. au littoral ?	SP6-P20
SPERANDIO	Mathieu	Produce methane and biomolecules of interest from carbon dioxide	SP6-P21
TIDJANI	Abdoul-Razak	Flux de gènes massifs dans une population de Streptomyces	SP6-P22
VAN GIJSEGEM	Frédérique	Diversity in the bacterial Dickeya genus grouping plant pathogens and waterways isolates	SP6-P23
VINCENT-HUBERT	Françoise	Sensibilité des capteurs passifs pour la détection de virus entériques humains, bactéries pathogènes et bactéries indicatrices de contamination fécale en milieu estuarien	SP6-P24
FEDERIGHI	Michel	Protocoles de nettoyage et de désinfection des canalisations d'eau en post-sevrage : intérêt et faisabilité	SP6-P25

SP7 - Microbiologie industrielle et biotechnologie

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
DUPRÉ	Catherine	Criblage de marqueurs fluorescents pour caractériser l'organisation structurale des colonies cellulaires de la microalgue, Botryococcus braunii	SP7-P01
HOCQUELLET	Agnès	Impact de différents stress sur la production de Hsp12 par Saccharomyces Cerevisiae	SP7-P02

SP9 - Session Jeunes Microbiologistes

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
DANGLA-PÉLISSIER	Gauthier	Pseudomonas aeruginosa can transfer antibiotic resistance genes to other pathogens through conjugative mechanism	SP9-P01
ROMAN	Véronica	L'epicPCR, une approche innovante pour caractériser le spectre d'hôtes de l'ICE SXT, vecteur de résistance aux antibiotiques, dans des environnements aquatiques	SP9-P02
LIGAT	Gaëtan	IFITMs mediate viral evasion in acute and chronic hepatitis C virus infection	SP9-P03
MIKHAYEL	Myriam	Antimicrobial resistance of Enterobacteriaceae in poultry in Lebanon	SP9-P04
IBRANOSYAN	Marine	Confirmation du rôle de Legionella pneumophila dans une fasciite nécrosante fatale par la technologie de séquençage MinION	SP9-P05
KHAZAAL	Sarah	Prévalence et impact de l'insertion de l'IS1548 en amont du gène murB de Streptococcus agalactiae	SP9-P06
RIOU	Mickaël	Développement d'un modèle porcin d'infection intra-osseuse à Staphylococcus aureus suite à la pose chirurgicale d'implants en titane	SP9-P07
MESSALA	Amina	Transfert génétique des B-lactamases à spectre étendu «BLSE» chez des souches de Klebsiella pneumoniae isolées au centre de lutte contre le cancer Batna-Algérie	SP9-P08
ESBERARD	Marick	ARN régulateurs et adaptation aux antibiotiques chez Staphylococcus aureus : exemple de l'ARN 6S et de la sensibilité à la rifampicine	SP9-P09



Société Française
de Microbiologie

MICROBES ●●●●●
15^e congrès national de la **SFM**

LISTE DES PARTICIPANTS

ABBARA Salam

Serious Games
FRANCE
salam.abbara@gmail.com

ABBE Jean-Baptiste

MilliDrop
PARIS – FRANCE
jb.abbe@millidrop.com

ABERGEL Chantal

CNRS-AMU UMR7256
Information Génomique et Structurale
MARSEILLE – FRANCE
chantal.abergel@igs.cnrs-mrs.fr

ABOU SERHAL DAOU Pascale

ACEA BioSciences - A part of Agilent
SAN DIEGO – ÉTATS-UNIS
pascale.abou-serhal-dau@agilent.com

ACCOCEBERRY Isabelle

Laboratoire de parasitologie - mycologie
CHU
BORDEAUX – FRANCE
isabelle.accoceberr@chu-bordeaux.fr

AGOGUÉ Hélène

UMR LIENSs CNRS - La Rochelle Université
LA ROCHELLE – FRANCE
helene.agogue@univ-lr.fr

AIGLE Bertrand

Université de Lorraine
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
bertrand.aigle@univ-lorraine.fr

AKRONG Grace

Inserm U1070
POITIERS – FRANCE
grace.akrong@univ-poitiers.fr

AL MIR Hiba

AVB - Lyon
Université Claude Bernard Lyon1 - ANSES
LYON – FRANCE
hiba.al-mir@anses.fr

ALAUZET Corentine

Service de Microbiologie
CHRU - Université de Lorraine
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
c.alauzet@chru-nancy.fr

ALLIX-LE GUEN Sébastien

Lab'Science
AMBOISE – FRANCE
s.allix-leguen@lab-science.eu

ANDREAU Karine

INSERM UMR 1124
Université Paris Descartes
PARIS – FRANCE
karine.andreau@parisdescartes.fr

ANDREOLETTI Laurent

Virologie
CHU et Faculté de Médecine
REIMS – FRANCE
landreoletti@chu-reims.fr

ANGIA SRIRAM Pradeep Ram

Microorganismes
Génome et Environnement
CNRS
AUBIÈRE – FRANCE
pradeep_ram.angia_sriram@uca.fr

ANIA Maryne

Bioaster
LYON – FRANCE
maryne.ania@bioaster.org

ANSALDI Mireille

Laboratoire de Chimie Bactérienne
CNRS
MARSEILLE – FRANCE
ansaldi@imm.cnrs.fr

ANSSOUR Lynda

LBCM, FSB, USTHB
ALGER – ALGÉRIE
anssourlynda@gmail.com

ARMAND Lucie

UFR Biologie et Nutrition Humaines
AgroParisTech
PARIS – FRANCE
lucie.armand@agroparistech.fr

AROWAS Philippe

Beckman Coulter
HOUILLES – FRANCE
parowas@beckman.com

ATHEMANI Nassera

Pfizer
PARIS – FRANCE
nassera.athemani@pfizer.com

ATMANI Sara Mimi

USTHB
ALGER – ALGÉRIE
saramiamiatmani58@gmail.com

AUBRY Alexandra

Bactériologie-Hygiène
CNR mycobactéries
PARIS – FRANCE
alexandra.aubry@sorbonne-universite.fr

AUCOUTURIER Anne

MICALIS
INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
anne.aucouturier@inra.fr

AUFORT Isabelle

Ozyme
SAINT-QUENTIN-EN-YVELINES – FRANCE
iaufort@ozyme.fr

AUPOIL Julien

Microbiologie
Beckman Coulter
VILLEURBANNE – FRANCE
jaupoil@beckman.com

AYALA-NUNEZ Nilda Vanesa

Team Membrane dynamics and Viruses
IRIM- CNRS UMR9004
MONTPELLIER – FRANCE
vanesa.ayala@irim.cnrs.fr

AYARI Farah

Toxicologie
Centre d'assistance médicale urgente
et réanimation
TUNIS – TUNISIE
farahayari@pharmacie@gmail.com

BABOSAN Anamaria

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
anamaria.babosan@pasteur.fr

BADIOU Cédric

INSERM U1111
CIRI - U1111
LYON – FRANCE
cedric.badiou@univ-lyon1.fr

BADRI Khoulood

Pileje
SAINT-BONNET-DE-ROCHEFORT – FRANCE
khoulood.badri@etu.uca.fr

BAERT Emmanuel

MENARINI
RUNGIS – FRANCE
ebaert@menarini.fr

BAEZA Armelle

UMR CNRS 8251
Université de Paris
PARIS – FRANCE
baeza@univ-paris-diderot.fr

BAHAROGLU Zeynep

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
baharogl@pasteur.fr

BAJARD Delphine

Pileje
SAINT-BONNET-DE-ROCHEFORT – FRANCE
delphine.bajard@etu.uca.fr

BALESTRINO Damien

Laboratoire de Bactériologie
UCA Faculté de Pharmacie
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
damien.balestrino@uca.fr

BALLS Gisela

Insméd
PARIS – FRANCE
gisela.balls@insmed.com

BAPTESTE Eric

CNRS
PARIS – FRANCE
epbapteste@gmail.com

BARBRY Alexia

Institut des Agents Infectieux
CHU
LYON – FRANCE
alexia.barbry@chu-lyon.fr

BARDET Lucie

Bruker - Biocentric
BANDOL – FRANCE
lucie.bardet@bruker.com

BARDIN Valerie

LGC Standards
MOLSHEIM – FRANCE
valerie.bardin@lgcgroup.com

BARNICH Nicolas

Université Clermont Auvergne
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
nicolas.barnich@uca.fr

BARRE Valerie

Proficiency Testing
LGC Standards
MOLSHEIM – FRANCE
valerie.barre@lgcgroup.com

BARREAU Magalie

LMSM (IUT Evreux)
EVREUX – FRANCE
magalie.barreau@univ-rouen.fr

BAUCHERON Sylvie

INRA
NOUZILLY – FRANCE
sylvie.baucheron@inra.fr

BAUDE Jessica

Pathgénie des Staphylocoques
CIRI U1111
LYON – FRANCE
jessica.baude@univ-lyon1.fr

BECHAUD Philippe

Marketing
bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
philippe.bechaud@biomerieux.com

BEDHOMME Stephanie

CNRS
MONTPELLIER – FRANCE
stephanie.bedhomme@cefe.cnrs.fr

BÉHAR Stéphane

Thermo Fisher Scientific
COURTABOEUF – FRANCE
stephane.behar@thermofisher.com

BELLON Odile

Laboratoire
Hôpital de Brignoles
BRIGNOLES – FRANCE
o.bellon@ch-brignoles.fr

BENCSIK Anna

Unité MND
Anses
LYON – FRANCE
anna.bencsik@anses.fr

BERA-MAILLET Christel

MICALIS bat442
INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
christel.maillet@inra.fr

BERAUD Laetitia

Hospices Civils
LYON – FRANCE
laetitia.beraud@chu-lyon.fr

BERGER Sibel

PFGM
CHRU
NANCY – FRANCE
s.berger@chru-nancy.fr

BERJEAUD Jean-Marc

Ecologie et Biologie des Interactions
CNRS UMR726
Université de Poitiers
POITIERS – FRANCE
jean-marc.berjeaud@univ-poitiers.fr

BERMUDEZ Luis

INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
luis.bermudez@inra.fr

BERNERON Johanna

DER - Evaluation des substances chimiques
ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
johanna.barthelemy-berneron@anses.fr

BERTHE Thierry

UMR M2C
MONT SAINT-AIGNAN – FRANCE
thierry.berthe@univ-rouen.fr

BERTHOLOM Chantal

rédacteur en microbiologie
Option-Bio
MANTES-LA-JOLIE – FRANCE
bertholom44@orange.fr

BERTRAND Van Roy

Roche Diagnostics France
MEYLAN – FRANCE
christelle.farrugello@roche.com

BESNARD Alban

Inserm
ANGERS – FRANCE
alban.besnard@inserm.fr

BEST Veronique

Réseau Hôpital
Mylan Medical
PARIS – FRANCE
veronique.best@mylan.com

BEYROUTHY Racha

Université Clermont Auvergne
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
rbeyrouthy@chu-clermontferrand.fr

BIESSY Hélène

Laboratoire
GHLRRA
LA ROCHELLE – FRANCE
helene.biessy@ch-larochelle.fr

BIET Franck

INRA
NOUZILLY – FRANCE
franck.biet@inra.fr

BIRGY Andre

Hôpital Universitaire Robert Debré
PARIS – FRANCE
andre.birgy@aphp.fr

BLANC-POTARD Anne

UMR CNRS 5235
Université de Montpellier
MONTPELLIER – FRANCE
anne.blanc-potard@univ-montp2.fr

BLANCHARD Beatrice

ADIAGENE
PLOUFRAGAN – FRANCE
beatrice.blanchard@adiagene.fr

BLANCO Amandine

UMR5086
CNRS - IBCP - Unité MMSB
LYON – FRANCE
amandine.blanco@ibcp.fr

BLOC Virginie

CHR Hansen
ARPAJON – FRANCE
frvibl@chr-hansen.com

BOCCARD Frédéric

I2BC
CNRS
GIF-SUR-YVETTE – FRANCE
frederic.boccard@cnrs.fr

BOIJOUT Hugo

Laboratoire de Microbiologie
CHU
POINTE-À-PITRE, GUADELOUPE – FRANCE
hugo.boijout@gmail.com

BOIS SALVARO Guillaume

Bruker
BANDOL – FRANCE
g.bois-salvaro@bruker.com

BOISSINOT Dominique

RENNES – FRANCE
dom.boissinot@gmail.com

BONACORSI Stéphane

Microbiologie
CHU Robert Debré
PARIS – FRANCE
stephane.bonacorsi@aphp.fr

BONHOMME Brice

Thermo Fisher Scientific
COURTABOEUF – FRANCE
brice.bonhomme@thermofisher.com

BONIS Mathilde

SBCL
ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
mathilde.bonis@anses.fr

BONNEAU Anne

Equipe SCHALK - MISLIN
CNRS UMR7242
ILLKIRCH – FRANCE
anne.bonneau@etu.unistra.fr

BONNET Isabelle

Hôpital Pitié-Salpêtrière
PARIS – FRANCE
isabelle.bonnet2@aphp.fr

BONNET Richard

Bactériologie
Université Clermont Auvergne
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
rbonnet@chu-clermontferrand.fr

BONNIN-JUSSERAND Maryse

Université du Littoral Côte d'Opale
BOULOGNE-SUR-MER – FRANCE
maryse.bonnin@univ-littoral.fr

BONSERGERT Alexandre

Mast Diagnostic
AMIENS – FRANCE
abonsergent@mast-diagnostic.fr

BONTE Cécile

Beckman Coulter
ROISSY CDG – FRANCE
cbonte@beckman.com

BORNES Stephanie

UMRF 0545
AURILLAC – FRANCE
stephanie.bornes@uca.fr

BOUCHARA Jean-Philippe

Groupe d'Etude des Interactions
Hôte-Pathogène
Université d'Angers
ANGERS – FRANCE
jean-philippe.bouchara@univ-angers.fr

BOUCHERIT-OTMANI Zahia

faculté SNVSTU
université de Tlemcen
TLEMCEM – ALGÉRIE
biowas2001@yahoo.fr

BOUCHEZ Théodore

Irstea
ANTONY – FRANCE
theodore.bouchez@irstea.fr

BOUCINHA Lilia

NGS - Transcriptomics - Bioinfo
Evotec-ID Lyon
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
lilia.boucinha@evotec.com

BOUÉ Geraldine

UMR Sécurité des aliments et microbiologie
Oniris
NANTES – FRANCE
geraldine.boue@oniris-nantes.fr

BOUGNOUX Marie-Elisabeth

Unité de Parasitologie Mycologie
Hôpital Necker Enfants Malades
PARIS – FRANCE
marie-elisabeth.bougnoux@aphp.fr

BOUIX Marielle

UMR LGMPA (CBAI)
AgroParisTech
THIVERVAL-GRIGNON – FRANCE
marielle.bouix@inra.fr

BOWLER Chris

IBENS
PARIS – FRANCE
cbowler@biologie.ens.fr

BOY Catherine

LISBP
TOULOUSE – FRANCE
c_boy@insa-toulouse.fr

BOYER Pierre

Hopitaux Universitaire
STRASBOURG – FRANCE
pierreboyer@unistra.fr

BRAMBILLA Elisa

Millidrop Instruments
PARIS – FRANCE
e.brambilla@millidrop.com

BRANTS Jan

Luminex
HERTOGENBOSCH – PAYS-BAS
jbrants@luminexcorp.com

BRASSINNE Laetitia

Laboratoire de microbiologie
Cliniques de l'Europe
BRUXELLES – BELGIQUE
l.brassinne@cdle.be

BRAUGE Thomas

Anses
BOULOGNE-SUR-MER – FRANCE
thomas.brauge@anses.fr

BREDECHE Marie-Florence

U1016
 Université Paris-Descartes - Inserm
 PARIS – FRANCE
 marie-florence.bredeche@inserm.fr

BRESSUIRE-ISOARD Christelle

MICALIS
 INRA
 JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
 christelle.bressuire-isoard@inra.fr

BRIAUD Paul

CIRI INSERM U1111
 LYON – FRANCE
 paul.briaud@univ-lyon1.fr

BRIDEL Sébastien

INRA - LABOFARM
 SAINT-CYR-L'ECOLE – FRANCE
 sebastien.bridel@inra.fr

BRISABOIS Anne

Laboratoires de sécurité des aliments
 ANSES
 MAISONS-ALFORT – FRANCE
 anne.brisabois@anses.fr

BRISSE Sylvain

Biodiversité et Epidémiologie des
 Bactéries Pathogènes
 Institut Pasteur
 PARIS – FRANCE
 sbrisse@pasteur.fr

BROCHÉ Camille

Institut Charles Violette
 VILLENEUVE-D'ASCQ – FRANCE
 camille.broche.etu@univ-lille.fr

BROUSSOLLE Véronique

UMR Sécurité et Qualité des Produits
 INRA
 AVIGNON – FRANCE
 veronique.broussolle@inra.fr

BROUTIN Isabelle

UMR 8038
 CNRS Université Paris Descartes
 PARIS – FRANCE
 isabelle.broutin@parisdescartes.fr

BRUNELLIERE Jérôme

PIBM
 CTTM
 LE MANS – FRANCE
 pmasnere@ctm-lemans.com

BRUNEVAL Solenne

Marketing
 Sysmex France
 ROISSY CDG – FRANCE
 bruneval.solenne@sysmex.fr

BUDIN-VERNEUIL Aurélie

UFR Sciences
 Université de Caen Normandie
 CAEN – FRANCE
 aurelie.verneuil@unicaen.fr

BURETTE Mélanie

CNRS IRIM
 MONTPELLIER – FRANCE
 melanie.burette@irim.cnrs.fr

BURGUIÈRE Pierre

AMA Research Solutions
 LYON – FRANCE
 pierre.burguiere@ama-researchsolutions.com

BURREL Sonia

VIROLOGIE
 GH PITIE SALPETRIERE
 PARIS – FRANCE
 sonia.burrel@aphp.fr

BURUCOA Christophe

Bactériologie
 CHU
 POITIERS – FRANCE
 christophe.burucoa@chu-poitiers.fr

BUYCK Julien

INSERM U1070
 Université de Poitiers
 POITIERS – FRANCE
 julien.buyck@univ-poitiers.fr

CABALLERO POSADAS Ignacio

Infection and innate immunity in
 monogastric lives
 INRA – Centre Val de Loire
 NOUZILLY – FRANCE
 ignacio.caballero-posadas@inra.fr

CADEL-SIX Sabrina

Unité Salmonella et Listeria
 ANSES
 MAISONS-ALFORT – FRANCE
 sabrina.cadelsix@anses.fr

CAILLIEZ-GRIMAL Catherine

Laboratoire SIMPA/Bactériologie
 Université de Lorraine
 VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
 catherine.cailliez@univ-lorraine.fr

CALLON Domitille

EA-4684 CardioVir
 Université Reims Champagne Ardennes
 REIMS – FRANCE
 domitille.callon@gmail.com

CALVEZ Anne

Pileje
 SAINT-BONNET-DE-ROCHEFORT – FRANCE
 anne.calvez@etu.uca.fr

CAMUS Laura

U1111 - CIRI
 CIRI - Inserm
 LYON – FRANCE
 laura.camus@inserm.fr

CANIVENC-LAVIER Marie-Chantal

CHA
 Centre des Sciences du Goût
 et de l'Alimentation
 DIJON – FRANCE
 marie-chantal.canivenc-lavier@inra.fr

CARDOT Emilie

Micribiologie
 Hôpital Foch
 SURESNES – FRANCE
 s.fiol@hopital-foch.org

CARGEMEL Claire

B3S
 CNRS - I2BC
 ORSAY – FRANCE
 claire.cargemel@gmail.com

CARLOTTI Arnaud

Microbiologie
 Eurofins IDmyk
 LIMONEST – FRANCE
 arnaudcarlotti@eurofins.com

CARQUEIJEIRO Marta Ines

EA2106 Biomolécules et
 Biotechnologies Végétales
 Université de Tours
 TOURS – FRANCE
 ines.carqueijeiro@univ-tours.fr

CASALEGNO Jean-Sébastien

Institut des Agents Infectieux
 Hospices Civils
 LYON – FRANCE
 jean-sebastien.casalegno@chu-lyon.fr

CASTAGNET Sophie

Pôle Recherche
LABEO Frank Duncombe
SAINT CONTEST – FRANCE
sophie.castagnet@laboratoire-labeo.fr

CATOVIC Chloe

LMSM EA4312 (IUT d'Evreux)
EVREUX – FRANCE
chloe.catovic1@univ-rouen.fr

CATTIER Blandine

CHIC Amboise et Chateau-Renault
AMBOISE – FRANCE
bcattier@chicacr.fr

CATTOEN Christian

Microbiologie
Centre Hospitalier
VALENCIENNES – FRANCE
cattoen-c@ch-valenciennes.fr

CATTOIR Vincent

CHU
RENNES – FRANCE
vincent.cattoir@chu-rennes.fr

CAUCHIE Henry-Michel

LIST
ESCH-SUR-ALZETTE – LUXEMBOURG
henry-michel.cauchie@list.lu

CHADI Sead

Institut Micalis
INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
sead.chadi@inra.fr

CHAGNEAU Camille

Inserm - IRSD
TOULOUSE – FRANCE
camille.chagneau@inserm.fr

CHAILLOU Stéphane

INRA - Université Paris-Saclay
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
stephane.chaillo@inra.fr

CHAMPOMIER-VERGES Marie-Christine

Micalis
INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
marie-christine.champomier-verges@inra.fr

CHARACHON MICHAUX Sylvie

Laboratoire de Microbiologie
CHU
NÎMES – FRANCE
sylvie.charachon@chu-nimes.fr

CHARDON Hubert

CHIAP
AIX-EN-PROVENCE – FRANCE
hchardon@ch-aix.fr

CHARILLAT Jérôme

Insméd
PARIS – FRANCE
jerome.charillat@insmed.com

CHARPENTIER Xavier

CIRI
VILLEURBANNE – FRANCE
xavier.charpentier@univ-lyon1.fr

CHARTREL Valentine

Génie et Microbiologie des procédés
alimentaires
INRA
THIVERVAL-GRIGNON – FRANCE
valentine.chartrel@inra.fr

CHASSAING Benoit

Neuroscience Institute
Institute for Biomedical Sciences
ATLANTA – ÉTATS-UNIS
bchassaing@gsu.edu

CHATAGNIER Alexis

Procelys LAB
Biospringer SA
MAISONS-ALFORT – FRANCE
a.chatagnier@procelys.lesaffre.com

CHATEAU Alice

UMR408 - SQPOV
INRA
AVIGNON – FRANCE
alice.chateau@inra.fr

CHATELAIN Remi

Microbiologie
GLBM 42
ROANNE – FRANCE
r.chatelain@lbmroanne.com

CHEKLI Yankel

Unité Génétique des Biofilms
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
yankel.chekli@pasteur.fr

CHESNEAU Olivier

CIP - Département de microbiologie
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
olivier.chesneau@pasteur.fr

CHIARELLI Adriana

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
adriana.chiarelli@pasteur.fr

CHOUFA Caroline

UMR 1128 UL-INRA DynAMic
Université de Lorraine
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
caroline.choufa@univ-lorraine.fr

CHRISTIAN Perroux

Marketing et communication
bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
christian.perroux@biomerieux.com

CLERMONT Dominique

Microbiologie
Collection de l'institut Pasteur
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
dominique.clermont@pasteur.fr

COINTE Aurélie

Microbiologie
APHP - Hôpital Robert Debré
PARIS – FRANCE
aurelie.cointe@aphp.fr

COLAS Valérie

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
valerie.colas@biomerieux.com

COLIN Béatrice

Université La Rochelle
CNRS LIENSs UMR 7266
LA ROCHELLE – FRANCE
beatrice.colin@univ-lr.fr

COLLARD Jean-Marc

Bactériologie expérimentale
Institut Pasteur de Madagascar
ANTANANARIVO – MADAGASCAR
jmcollard@pasteur.mg

COMBY Morgane

LMH
Roullier Group
SAINT-MALO – FRANCE
morgane.comby@roullier.com

CONDE Cyril

ISP
INRA
NOUZILLY – FRANCE
cyril.conde@gmail.com

CONRAD Arnaud

ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
arnaud.conrad@anses.fr

COPIN Stéphanie

Unité Bactériologie et Parasitologie des
Produits
Anses
BOULOGNE-SUR-MER – FRANCE
stephanie.copin@anses.fr

CORDEVANT Christophe

DSP
ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
christophe.cordevant@anses.fr

COTTINET Denis

MilliDrop
PARIS – FRANCE
d.cottinet@millidrop.com

COURDAVAULT Vincent

EA2106 Biomolécules et Biotechnologies
Végétales
Université de Tours
TOURS – FRANCE
vincent.courdavault@univ-tours.fr

COUROUBLE Géry

Laboratoire Lescaoux
CHATEAUX – FRANCE
informatique@laboratoire-lescaoux.com

COURTI Ibtissam

Laboratoire de diagnostics des plasmas
Institut national universitaire Champollion
ALBI – FRANCE
courti_ibtissam@yahoo.ca

COUSSOT Gaëlle

Chimie Analytique - Bâtiment E - 1er étage
IBMM
MONTPELLIER – FRANCE
gaelle.coussot@umontpellier.fr

COYNE Sébastien

Plateforme Bactériologie-Omics
Evotec-ID Lyon
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
sebastien.coyne@evotec.com

CRETENET Marina

EA ABTE
Université de Caen Normandie
CAEN – FRANCE
marina.cretenet@unicaen.fr

CROS Magali

Bio Springer
MAISONS-ALFORT – FRANCE
m.cros@procelys.lesaffre.com

CRUZ RAMOS Hugo

R&D
CHROMagar
PARIS – FRANCE
chromagar@chromagar.com

CULOT Antoine

Laboratoire de microbiologie
Agrocampus Ouest
INRA - UMR STLO
RENNES – FRANCE
a.culot@hotmail.fr

CUNAT Lisiane

Laboratoire SIMPA/Bactériologie
Faculté de Médecine
VANDOEUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
lisiane.cunat@univ-lorraine.fr

CUNTZMANN Anaëlle

Laboratoire Biolia
BRUMATH – FRANCE
anaelle.cuntzmann@biolia.fr

D'ENFERT Christophe

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
christophe.denfert@pasteur.fr

DA RÉ Sandra

UMR1092 Inserm - Université de Limoges
LIMOGES – FRANCE
sandra.da-re@unilim.fr

DALI-SAHI Majda

Université de Tlemcen
TLEMEN – ALGÉRIE
fdali13@yahoo.fr

DALLENNE Caroline

Bio-Rad
STEENVOORDE – FRANCE
caroline_dallenne@bio-rad.com

DALMASSO Guillaume

M2ISH - INSERM
Université Clermont-Auvergne
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
guillaume.dalmasso@uca.fr

DAMON Catherine

CHR Hansen
ARPAJON – FRANCE
frda@chr-hansen.com

DANGLA-PELISSIER Gauthier

LISM - UMR7255
CNRS
MARSEILLE – FRANCE
gdangla@imm.cnrs.fr

DANSOU Boris

Beckman Coulter
VILLEPINTE – FRANCE
bdansou@beckman.com

DARAKDJIAN Jérôme

ACEA BioSciences - A part of Agilent
SAN DIEGO – ÉTATS-UNIS
jerome.darakdjan@agilent.com

DAUBE Georges

Microbiologie des Aliments
ULiège - FMV - DDA
LIÈGE – BELGIQUE
georges.daube@uliege.be

DAUWALDER Olivier

Hospices Civils
LYON – FRANCE
olivier.dauwalder@chu-lyon.fr

DE BRIEL Dominique

Microbiologie
Hôpitaux Civils
COLMAR – FRANCE
dominique.debriel@ch-colmar.fr

DE LA CRUZ Fernando

Microbiology and genomics
IBBTEC
SANTANDER – ESPAGNE
delacruz@uican.es

DEBARBIEUX Laurent

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
laurent.debarbieux@pasteur.fr

DEBIERRE-GROCKIEGO Françoise

Immunologie parasitaire vaccinologie
biothérapie
UMR1282 Infectiologie et Santé Publique
TOURS – FRANCE
francoise.debierre@univ-tours.fr

DECOUSSER Jean-Winoc

Laboratoire de Bactériologie-Hygiène
CHU Henri Mondor
CRÉTEIL – FRANCE
jean-winoc.decousser@aphp.fr

DEHAN Océane

ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
oceane.dehan@anses.fr

DEJOIES Loren

Bactériologie - Hygiène Hospitalière
CHU
RENNES – FRANCE
loren.dejoies@chu-rennes.fr

DELAFONT Vincent

UMR CNRS Ecologie et Biologie des Interactions
Université de Poitiers
POITIERS – FRANCE
vincent.delafont@univ-poitiers.fr

DELANNOY Johanne

U1139
Faculté de Pharmacie
PARIS – FRANCE
johanne.delannoy@parisdescartes.fr

DELANNOY Sabine

Plateforme IdentityPath
Anses
Laboratoire de sécurité des aliments
MAISONS-ALFORT – FRANCE
sabine.delannoy@anses.fr

DELATTRE Raphaëlle

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
raphaelle.delattre1@pasteur.fr

DELAUNAY Stéphane

LRGP - UMR UL - CNRS
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
stephane.delaunay@univ-lorraine.fr

DELBAC Frédéric

Université Clermont Auvergne
LMGE UMR 6023
AUBIÈRE – FRANCE
frederic.delbac@uca.fr

DELLA MARINA Filippo

BD
LE PONT-DE-CLAIX – FRANCE
filippo.della.marina@bd.com

DELLIÈRE Sarah

FRANCE
sarah.delliere@gmail.com

DELMON Cédric

Peirene Eau
Université Limoges
LIMOGES – FRANCE
cedric.delmon@unilim.fr

DELORD Brigitte

Centre de Recherche Paul Pascal
CRPP/CNRS
PESSAC – FRANCE
brigitte.delord@crpp.cnrs.fr

DEMARIGNY Yann

Laboratoire de microbiologie alimentaire
ISARA
LYON – FRANCE
ydemarigny@isara.fr

DEMARRE Gaelle

Département R&D
Pherecydes Pharma
ROMAINVILLE – FRANCE
gaelle.demarre@pherecydes-pharma.com

DEMAY Fanny

IGDR - Ribosome, Bactérie & Stress
CNRS Université de Rennes 1 UMR 6290
RENNES – FRANCE
fanny.demay@univ-rennes1.fr

DENIS Catherine

Actalia
SAINT LÔ – FRANCE
c.denis@actalia.eu

DEPAYRAS Ségolène

LMSM EA 4312
GIP plate-forme technologique N2S
EVREUX – FRANCE
segolene.depuyras@gmail.com

DERSCH Petra

Institute for Infectiology
MÜNSTER – ALLEMAGNE
petra.dersch@uni-muenster.de

DESAINTE Stéphane

Microbiologie
Yves Rocher
ISSY-LES-MOULINEAUX – FRANCE
stephane.desaint@ymet.com

DESDOITS Marion

Laboratoire Santé Environnement
Microbiologie
Ifremer
NANTES – FRANCE
marion.desdouts@ifremer.fr

DESMASURES Nathalie

E.A. 4651 ABTE
Université de Caen Normandie
CAEN – FRANCE
nathalie.desmasures@unicaen.fr

DESMONTS Marie-Hélène

AERIAL
ILLKIRCH – FRANCE
mh.desmonts@aerial-crt.com

DESSEN Andrea

Bacterial Pathogenesis Group
Institut de Biologie Structurale
GRENOBLE – FRANCE
andrea.dessen@ibs.fr

DI MEO Marie-Louise

Pfizer
PARIS – FRANCE
marielouise.dimeo@pfizer.com

DIA Mouhamadou Lamine

Bactériologie-Virologie
Université Cheikh Anta Diop de Dakar
DAKAR – SÉNÉGAL
lamedia2004@yahoo.fr

DJERBOUA Toufik

Laboratoire Central De Biologie Clinique
Faculté de Médecine Mouloud Mammeri /
Chuto
TIZI-OUZOU – ALGÉRIE
drtaoufik123@hotmail.fr

DORDET-FRISONI Emilie

Ihap - Umr1225 Inra - envt
INRA
TOULOUSE – FRANCE
e.dordet-frisoni@envt.fr

DOUARRE Pierre-Emmanuel

GAMER
ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
pierre-emmanuel.douarre@anses.fr

DUBAN Livine

Luminex B.V.
HERTOGENBOSCH – PAYS-BAS
lduban@luminexcorp.com

DUBARRY Nelly

BacteriOmics
Evotec-ID Lyon
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
Nelly.Dubarry@evotec.com

DUBOIS-BRISSONNET Florence

Institut Micalis
AgroParisTech, INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
florence.dubois@agroparistech.fr

DUCHAUD Eric

Virologie
INRA VIM 0892
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
eric.duchaud@inra.fr

DUPERRON Sébastien

UMR7245 MCAM
Muséum national d'Histoire naturelle
PARIS – FRANCE
sebastien.duperron@mnhn.fr

DUPONT Chloé

PHySE Pathogènes Hydriques, Santé,
Environnement
Université de Montpellier
MONTPELLIER – FRANCE
chloe.dupont@hotmail.fr

DUPRÉ Catherine

Grepa - UMR 6144 CNRS
Université de Nantes
SAINT-NAZAIRE – FRANCE
catherine.dupre@univ-nantes.fr

DUQUENOY Aurore

MaaT Pharma - Bioaster
PARIS – FRANCE
aduqueno@maat-pharma.com

DUROUX Boris

R&D
VIRBAC
CARROS – FRANCE
boris.duroux@virbac.com

DUSSURGET Olivier

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
olivier.dussurget@pasteur.fr

DUVAL Maxime

Virologie
UCA Faculté de Pharmacie
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
maxime.duval@uca.fr

ECALE Florine

Laboratoire EBI
POITIERS – FRANCE
florine.ecale@univ-poitiers.fr

ECHENIQUE RIVERA Hebert

Yersinia Unit
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
hebertnike@hotmail.com

ECKERT Catherine

Hôpital Saint-Antoine
PARIS – FRANCE
catherine.eckert@aphp.fr

EHRETSMANN Frédéric

Biolia
BRUMATH – FRANCE
frederic.ehretsmann@biolia.fr

EL FATAHI Youssef

CIP - Physiologie et génétique bactériennes
Université de Liège
LIÈGE – BELGIQUE
yelfattahi@student.uliege.be

ELOIT Marc

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
marc.eloit@pasteur.fr

EMERAUD Cécile

bactériologie
Hôpital Bicêtre
LE KREMLIN-BICÊTRE – FRANCE
cecile.emeraud88@gmail.com

ENOUF Vincent

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
vincent.enouf@pasteur.fr

ESBERARD Marick

Laboratoire SRRB (P.Bouloc)
I2BC
GIF-SUR-YVETTE – FRANCE
marick.esberard@i2bc.paris-saclay.fr

ESNAULT Emilie

Laboratoire Ploufragan-Plouzané-Niort
ANSES
PLOUFRAGAN – FRANCE
emilie.esnault@anses.fr

ESPELI Olivier

CIRB - College de France
PARIS – FRANCE
olivier.espeli@college-de-france.fr

FALL Papa

Genalyse Partner
HERSTAL – BELGIQUE
afa@genalyse.be

FAVIER Christine

Bio-Rad
STEENVOORDE – FRANCE
christine_favier@bio-rad.com

FAVRE-BONTÉ Sabine

Université Lyon 1
UMR Ecologie Microbienne
VILLEURBANNE – FRANCE
sabine.favre-bonte@univ-lyon1.fr

FEDERIGHI Michel

UMR Sécurité des aliments et microbiologie
Oniris
NANTES – FRANCE
michel.federighi@oniris-nantes.fr

FELLAG Mustapha

Université d'Aix-Marseille
MARSEILLE – FRANCE
mus.fellag@gmail.com

FENOUILLET-MULON Laurence

Mulon conseil
BOUTIGNY-SUR-ESSONNE – FRANCE
mulon.conseil@laposte.net

FERRAND Aurélia

Microbiologie des eaux
LD31 EVA
LAUNAGUET – FRANCE
aurelia.ferrand@cd31.fr

FERRARI Mariana

Springer Nature/ Current Microbiology
GENTILLY – FRANCE
mariana.ferrari@springernature.com

FERREIRA Théo

APHP
PARIS – FRANCE
theo.ferreira@aphp.fr

FESSARD Valérie

Toxicologie des Contaminants
Anses
FOUGÈRES – FRANCE
valerie.fessard@anses.fr

FIRMESSE Olivier

ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
olivier.firmesse@anses.fr

FISCHER Matthias

Biomolecular Mechanisms
Max Planck Institute for medical research
HEIDELBERG – ALLEMAGNE
mfischer@mpimf-heidelberg.mpg.de

FLECK Neila

Insméd
PARIS – FRANCE
neil.fleck@insmed.com

FLEURIER Sebastien

Inserm
PARIS – FRANCE
sebastien.fleurier@inserm.fr

FLORANCE Frédéric

Sysmex France
ROISSY CDG – FRANCE
frederic.florence@sysmex.fr

FONG-PONNE Gérard

Memmert
SCHWABACH – ALLEMAGNE
gfongponne@memmert.com

FORESTIER Christiane

Laboratoire de Bactériologie
UCA Faculté de Pharmacie
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
christiane.forestier@uca.fr

FOUET Agnès

Inserm CNRS
Université Paris Descartes
PARIS – FRANCE
agnes.fouet@inserm.fr

FOURNIER Remi

Microbiologie
LABOSUD
MONTPELLIER – FRANCE
remi.fournier@labosud.fr

FOURNIER Thomas

Master Manimal
Serious Games
FRANCE
thomas.fournier@oniris-nantes.fr

FRANCOIS Anaïs

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
anaïs.francois@biomerieux.com

FRASER Christophe

University of Oxford
OXFORD – ROYAUME-UNI
christophe.fraser@bdi.ox.ac.uk

FRENEY Jean

Université Claude Bernard Lyon I
LYON – FRANCE
freney.jean@gmail.com

FRIDEZ Françoise

Office fédéral de la sécurité alimentaire et
des affaires vétérinaires
Département Fédéral de l'Intérieur (OSAV)
BERNE – SUISSE
francoise.fridez@blv.admin.ch

GABANT Philippe

Recherche et développement
Syngulon
SERAING – BELGIQUE
pgabant@syngulon.com

GAILLARD Christophe

Corporate Biosafety
Boehringer Ingelheim
LYON – FRANCE
christophe.gaillard@boehringer-ingelheim.com

GALLET Alison

Muséum national d'Histoire naturelle
PARIS – FRANCE
alison.gallet@edu.mnhn.fr

GALLET Armel

Institut Sophia Agrobiotech
SOPHIA ANTIPOLIS – FRANCE
gallet@unice.fr

GANDIA Peggy

Laboratoire de Pharmacocinétique
et Toxicologie
CHU
TOULOUSE – FRANCE
gandia.p@chu-toulouse.fr

GANDON Félix

LILLE – FRANCE
felix.gandon@gmail.com

GANGNEUX Jean-Pierre

Parasitologie-Mycologie
CHU
PACÉ – FRANCE
jean-pierre.gangneux@chu-rennes.fr

GARDAN Rozenn

Micalis
INRA - Micalis
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
rozenn.gardan@inra.fr

GARDETTE Marion

UMR454 MEDiS
INRA
SAINT-GÈNES-CHAMPANELLE – FRANCE
marion.gardette@inra.fr

GARIN-BASTUJI Bruno

Direction Stratégie & Programmes
ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
bruno.garin-bastuji@anses.fr

GAUDU Philippe

Micalis
INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
philippe.gaudu@inra.fr

GAUTHIER Sophie

Microbiologie
InvivoGen
TOULOUSE – FRANCE
s.gauthier@invivogen.com

GENAY Magali

Laboratoire Calbinotox
Université de Lorraine
VANDOEUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
magali.genay@univ-lorraine.fr

GENG Jing

Sciences analytiques
Danone Nutricia Research
PALAISEAU – FRANCE
jing.geng@danone.com

GENIN Stephane

LIPM (INRA-CNRS)
CASTANET – TOLOSAN – FRANCE
stephane.genin@inra.fr

GEORGEAULT Sylvie

IGDR
CNRS Université de Rennes1 UMR 6290
RENNES – FRANCE
sylvie.georgeault@univ-rennes1.fr

GERMANI Yves

Recherche & Développement
BioSpeedia
PARIS – FRANCE
yves.germani@biospeedia.com

GHALAYINI Mohamed

Inserm
PARIS – FRANCE
mohamed.ghalayini@inserm.fr

GHRANDJEAN Guy

Laboratoire
LE LOROUX BOTTEREAU – FRANCE
guygrandjean@icloud.com

GILLET Reynald

IGDR - UMR 6290
 Université Rennes1 - CNRS
 RENNES – FRANCE
 reynald.gillet@univ-rennes1.fr

GLASER Philippe

Institut Pasteur
 PARIS – FRANCE
 pglaser@pasteur.fr

GOLDSTEIN Arthur

LCMD
 ESPCI Paris
 PARIS – FRANCE
 arthur.goldstein@espci.fr

GONZALO Milena

UMR UL-INRA 1128 DynAMic
 Université de Lorraine, Inra
 VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
 milena.gonzalo@univ-lorraine.fr

GORRET Nathalie

Équipe FAME
 LISBP
 TOULOUSE – FRANCE
 ngorret@insa-toulouse.fr

GOUDE Renan

IGDR
 CNRS Université de Rennes1
 RENNES – FRANCE
 renan.goude@univ-rennes1.fr

GOURMELON Michèle

RBE - SGMM - LSEM
 Ifremer
 PLOUZANÉ – FRANCE
 michele.gourmelon@ifremer.fr

GRANDJEAN Guy

laboratoire AM
 LE LOROUX BOTTERAU – FRANCE
 guygrandjean@icloud.com

GRANIER Sophie

Anses
 FOUGÈRES – FRANCE
 sophie.granier@anses.fr

GRAVET Alain

Laboratoire de Microbiologie
 GHR Mulhouse Sud Alsace
 Hôpital E. Muller
 MULHOUSE – FRANCE
 graveta@ghrmsa.fr

GRÉGOIRE Nathalie

Bruker
 BANDOL – FRANCE
 nathalie.gregoire@bruker.com

GREUB Gilbert

Institut de Microbiologie
 Université de Lausanne
 LAUSANNE – SUISSE
 gilbert.greub@chuv.ch

GRILLON Antoine

CHU
 STRASBOURG – FRANCE
 antoine.grillon@chru-strasbourg.fr

GRIZEAU Dominique

Grepa - UMR 6144 CNRS
 Polytech Nantes
 SAINT-NAZAIRE – FRANCE
 Dominique.Grizeau@univ-nantes.fr

GUEDES Susana

bioMérieux
 MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
 susana.guedes@biomerieux.com

GUERIN Lucien

CHU
 POITIERS – FRANCE
 lucien.guerin@etu.univ-poitiers.fr

GUEUDET Thomas

Microbiologie
 Laboratoire Schuh Bio67
 STRASBOURG – FRANCE
 t.gueudet@bio67.fr

GUILLARD Fabien

Marketing
 bioMérieux
 CRAPONNE – FRANCE
 fabien.guillard@biomerieux.com

GUILLARD Thomas

Bactériologie
 CHU - Inserm UMR-S 1250
 REIMS – FRANCE
 tguillard@chu-reims.fr

GUILLOT Nicolas

Interscience
 SAINT-NOM-LA-BRETÈCHE – FRANCE
 nguillot@interscience.com

GUILLOT Philippe

Laboratoire DPHE
 INU Champollion
 ALBI – FRANCE
 philippe.guillot@univ-jfc.fr

GUILLOUET Stéphane

INSA-LISBP
 TOULOUSE – FRANCE
 guillouet@insa-toulouse.fr

GUYARD-NICODÈME Muriel

Unité Hygiène et Qualité des
 Produits Avicoles
 ANSES
 PLOUFRAGAN – FRANCE
 muriel.guyard@anses.fr

HADDACHE Nabila

Anses
 MAISONS-ALFORT – FRANCE
 nabila.haddache@anses.fr

HADDAD Nabila

UMR Secalim
 INRA - Oniris - Université Bretagne-Loire
 NANTES – FRANCE
 nabila.haddad@oniris-nantes.fr

HAENNI Marisa

AVB
 ANSES
 LYON – FRANCE
 marisa.haenni@anses.fr

HAMITOUCHE Fella

Institut national de recherche agronomique
 AVIGNON – FRANCE
 fella.hamitouche@inra.fr

HAMMOUDI Nassim

Institut Hospitalo-Universitaire Marseille
 MARSEILLE – FRANCE
 hammoudi.nassim1@gmail.com

HANIN Aurelie

Food safety
 ACTALIA
 SAINT LÔ – FRANCE
 a.hanin@actalia.eu

HARTARD Cédric

Virologie
 CHRU
 VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
 c.hartard@chru-nancy.fr

HARTKE Axel

UFR Sciences
 Université de Caen Normandie
 CAEN – FRANCE
 axel.hartke@unicaen.fr

HARVEY Mathilde

ANMV-UEMC
ANSES
FOUGÈRES – FRANCE
mathilde.harvey@anses.fr

HÉCHARD Yann

Université de Poitiers
POITIERS – FRANCE
yann.hechard@univ-poitiers.fr

HELMI Karim

Veolia Recherche & Innovation
MAISONS-LAFFITTE – FRANCE
karim.helmi@veolia.com

HELSENS Nicolas

INRA
NANTES – FRANCE
nicolas.helsens@oniris-nantes.fr

HENNECHART Catherine

Lsal Unité virus entériques
ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
catherine.hennechart-collette@anses.fr

HENNEKINNE Jacques-Antoine

SBCL
ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
jacques-antoine.hennekinne@anses.fr

HENNET Gaëlle

La Société Française de Microbiologie
PARIS – FRANCE
comptabilite@sfm-microbiologie.org

HENRY Stéphanie

CNR des Mycobactéries
Hôpital Lariboisière (APHP)
PARIS – FRANCE
stephanie.henry@aphp.fr

HERRMANN Jean-Louis

Unité 1173
Université de Versailles Saint-Quentin
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE
jean-louis.herrmann@aphp.fr

HERVIO HEATH Dominique

Ifremer - Centre Bretagne
PLOUZANÉ – FRANCE
dominique.hervio.heath@ifremer.fr

HEZARD Bernard

Microbio
AERIAL
ILLKIRCH – FRANCE
b.hezard@aerial-crt.com

HIBLOT Laure

bioMérieux
LA BALME-LES-GROTTES – FRANCE
laure.hiblot@biomerieux.com

HNATOVA Martina

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
Martina.HNATOVA@biomerieux.com

HOCQUELLET Agnès

Laboratoire CBMN-UMR 5248
CBMN UMR 5248 CNRS/Bordeaux-INP/U.
Bordeaux
BORDEAUX – FRANCE
agnes.hocquellet@ipb.fr

HOUNGBEGNON Yégbandé Mariette Olivia

Laboratoire de Recherche en Biologie
Appliquée
Université d'Abomey-Calavi / EPAC
ABOMEY-CALAVI – BÉNIN
oliviahoungbegnon@yahoo.fr

HOUDIN Bérénice

Pileje
SAINT-BONNET-DE-ROCHEFORT – FRANCE
berenice.houdin@etu.uca.fr

HUBER Philippe

Service UMR1036
CEA
GRENOBLE – FRANCE
phuber@cea.fr

HUILLET Eugénie

INRA
SÈVRES – FRANCE
eugenie.huillet@inra.fr

HUMBLOT Christèle

IRD
MONTPELLIER – FRANCE
christele.humblot@ird.fr

IBIBIJEN Jamal

Université Moulay Ismail
MEKNES – MAROC
j.ibibijen@fs.umi.ac.ma

IBRANOSYAN Marine

Hospices Civils
LYON – FRANCE
marine.ibranosyan@chu-lyon.fr

IDZIOREK François-Xavier

AGLAE
HALLENES-LEZ-HAUBOURDIN – FRANCE
mylene.cointe@association-aglae.fr

IH Hariyanto

INSERM U1070
Université de Poitiers
POITIERS – FRANCE
hariyanto.ih@univ-poitiers.fr

ILLIKOUD Nassima

UMR Secalim INRA Oniris
NANTES – FRANCE
nassima.illikoud@gmail.com

IORGA Bogdan

Institut de Chimie des Substances
Naturelles
CNRS-ICSN
GIF-SUR-YVETTE – FRANCE
bogdan.iorga@cnrs.fr

IORI Nathalie

bioMérieux
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
nathalie.iori@biomerieux.com

IRLINGER Françoise

INRA - Université Paris Saclay
THIVERVAL-GRIGNON – FRANCE
francoise.irlinger@inra.fr

IZOPET Jacques

Virologie
CHU
TOULOUSE – FRANCE
izopet.j@chu-toulouse.fr

JABBOUR Nancy

Equipe n°5 BRMF
UMR 1282 ISP - Université de Tours
TOURS – FRANCE
nancy.jabbour@etu.univ-tours.fr

JACRY Cécile

Micalis
INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
cecile.jacry@inra.fr

JAEN Olivier

Marketing
Beckman Coulter
VILLEPINTE – FRANCE
ojaen@beckman.com

JAN Gwenael

INRA - STLO
RENNES – FRANCE
gwenael.jan@inra.fr

JANKOWSKI Stephane

Illumina
CAMBRIDGE – ROYAUME-UNI
sjankowski@illumina.com

JANVIER Xavier

LMSM EA4312, Evreux - Université de
Rouen
BOIS-GUILLAUME – FRANCE
xavier.janvier@etu.univ-rouen.fr

JARDILLIER Ludwig

Unité Ecologie, Systématique et Evolution
Université Paris-Sud
ORSAY – FRANCE
ludwig.jardillier@u-psud.fr

JAULHAC Benoît

Bactériologie
Hôpitaux Universitaires
STRASBOURG – FRANCE
benoit.jaulhac@chru-strasbourg.fr

JEHL François

Bactériologie
Hôpitaux Universitaires
HINDISHEIM – FRANCE
francois.jehl@chru-strasbourg.fr

JIMENEZ Luciana

CHR Hansen
ARPAJON – FRANCE
frlji@chr-hansen.com

JOINER Marjorie

Thermo Fisher Scientific
COURTABOEUF – FRANCE
marjorie.joiner@thermofisher.com

JOLY Johan

Laboratoire des Agents Infectieux
et d'Hygiène
CHU
SAINT-ETIENNE – FRANCE
jolyjohan@icloud.com

JOLY Renaud

Bruker
BANDOL – FRANCE
renaud.joly@bruker.com

JOSEPH Laura

Laboratoire de Bactériologie
UCA Faculté de Pharmacie
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
laura.joseph@uca.fr

JOSSE Jérôme

Pathogénie des staphylocoques
CIRI - Centre International de Recherche
en Infectiologie / HCL - Hospices Civil
LYON – FRANCE
jerome.josse@univ-lyon1.fr

JOUSSERAND Nicolas

Irds
TOULOUSE – FRANCE
n.jousserand@envt.fr

JOUSSET Agnes

Bactériologie
CHU
LE KREMLIN-BICÊTRE – FRANCE
agnes.joussset@aphp.fr

JOUVIN MARCHE Evelyne

ITMO: Immunologie, Inflammation, Infectio-
logie, Mi
Inserm
PARIS – FRANCE
evelyne.jouvin-marche@inserm.fr

JOVÉ Thomas

UMR1092 Inserm
Université de Limoges
LIMOGES – FRANCE
thomas.jove@unilim.fr

JUBELIN Grégory

UMR454 MEDiS
INRA
SAINT-GÈNES-CHAMPANELLE – FRANCE
gregory.jubelin@inra.fr

JULIA Franck

R&D
Elitech Microbio
SIGNES – FRANCE
f.julia@elitechgroup.com

JUNILLON Thomas

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
thomas.junillon@biomerieux.com

JUVIN Manette

Bio-Rad
MARNES-LA-COQUETTE – FRANCE
manette_juvin@bio-rad.com

KAMBULINA Viktoriia

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
viktoriia.kambulina@biomerieux.com

KANAMORI Sylvain

Accelerate diagnostics
MASSY – FRANCE
skanamori@axdx.com

KAY Elisabeth

Centre International de Recherche
en Infectiologie
CNRS
VILLEURBANNE – FRANCE
elisabeth.kay@univ-lyon1.fr

KEMPF Isabelle

Anses
PLOUFRAGAN – FRANCE
isabelle.kempf@anses.fr

KEMPF Marie

CHU - Laboratoire de Bactériologie
ANGERS – FRANCE
makempf@chu-angers.fr

KERDINE-RÖMER Saadia

Toxicologie
Université Paris Sud, Paris Saclay
CHÂTENAY-MALABRY – FRANCE
saadia.kerdine-romer@u-psud.fr

KHAZAAL Sarah

ISP, Bacteries et risque maternofoetal
Université de Tours, Inra
TOURS – FRANCE
sarah.khazaal@etu.univ-tours.fr

KHELISSA Simon

UMET-PIHM
VILLENEUVE-D'ASCQ – FRANCE
simon.khelissa@inra.fr

KHOUS Kahina

Miltenyi Biotec
PARIS – FRANCE
kahina@miltenyibiotec.fr

KNAFO Esther

Réseau Hôpital
Mylan Medical
PARIS – FRANCE
esther.knafo@mylan.com

KOUADIO Irène Ahou

UFR Biosciences
Laboratoire de Biochimie et Science
Université Houphouët-Boigny
ABIDJAN – CÔTE D'IVOIRE
irenekouadio@yahoo.fr

LABORIER Léa

Pileje
SAINT-BONNET-DE-ROCHFORT – FRANCE
lea.laborier@etu.uca.fr

LACAZE Alban

ENALEES
EVRY – FRANCE
alban.lacaze@enalees.com

LACHACHI Meryem

Centre Universitaire Ain Temouchent
Département des Sciences
AIN TEMOUCHENT – ALGÉRIE
meriendlachachi@yahoo.fr

LACROIX PIROMALLI Morgane

R&D
bioMérieux
LA BALME-LES-GROTTES – FRANCE
morgane.piromalli@biomerieux.com

LAETITIA Bosc

Departement de l'évaluation des risques
ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
bosc-laetitia@hotmail.fr

LALANDE Valérie

HU-EST Parisien - site St Antoine APHP
PARIS – FRANCE
valerie.lalande@aphp.fr

LAMBERT Clara

Institut Cochin
Inserm
PARIS – FRANCE
clara.lambert@inserm.fr

LAMY Brigitte

Bactériologie
CHU
NICE – FRANCE
brigitte_lamy@yahoo.fr

LANCELEUR Rachelle

Unité de Toxicologie des Contaminants
Anses
JAVENÉ – FRANCE
rachelle.lanceleur@anses.fr

LANGELLA Philippe

Micalis
INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
philippe.langella@inra.fr

LAPLACE Jean-Marie

UR ABTE équipe MALIM
Université de Caen Normandie
CAEN – FRANCE
jean-marie.laplace@unicaen.fr

LAROUSSE Haifa

UMR1128 - DynAMic
Université de Lorraine, Inra
NANCY – FRANCE
haifa.laroussi@univ-lorraine.fr

LARTIGUE Marie-Frédérique

Hôpital Trousseau
TOURS – FRANCE
marie-frederique.lartigue@univ-tours.fr

LAUGEL Elodie

CHU
NANCY – FRANCE
elodie.laugel@live.fr

LAURENT Frédéric

Institut des Agents Infectieux
Hospices Civils
LYON – FRANCE
frederic.laurent@univ-lyon1.fr

LAVOLLAY Marie

Laboratoire
Institut Mutualiste Montsouris
PARIS – FRANCE
marie.lavollay@imm.fr

LAVOUÉ Rachel

Médecine interne animaux de compagnie
Ecole Nationale Vétérinaire - IRSD
TOULOUSE – FRANCE
r.lavoue@envt.fr

LE BRAS Angelique

Mobidiag
PARIS – FRANCE
angelique.le-bras@mobidiag.com

LE COUSTUMIER Alain

Laboratoire
CHIC de Bigorre
TARBES – FRANCE
alecoustumier@ch-tarbes-vic.fr

LE LOIR Yves

UMR1253 - STLO
INRA - Agrocampus Ouest
RENNES – FRANCE
yves.le-loir@inra.fr

LE ROUX Frédérique

Laboratoire de Biologie Intégrée
des Modèles Marins
Ifremer
ROSCOFF – FRANCE
fleroux@sb-roscoff.fr

LE VAILLANT Yves

Insméd
PARIS – FRANCE
yveslevallant@insmed.com

LÊ-BURY Pierre

Unité de recherche Yersinia
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
pierre.le-bury@pasteur.fr

LEBLOND-BOURGET Nathalie

DynAMic - UMR UL_INRA
Université de Lorraine
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
nathalie.leblond@univ-lorraine.fr

LECLERC Claude

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
claud.leclerc@pasteur.fr

LECLERC Felix

Reseau Bio
SAUTRON – FRANCE
f.leclerc@reseau-bio.fr

LECLERCQ Alexandre

Biologie des Infections
Institut Pasteur - CNR-CCOMS - LISTERIA
PARIS – FRANCE
alexlec@pasteur.fr

LEDERER Florence

LCP, UMR8000
CNRS
ORSAY – FRANCE
florence.lederer@u-psud.fr

LEFEVRE Sophie

CNR Escherichia coli
Shigella et Salmonella
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
sophie.lefevre@pasteur.fr

LEFRANC Matthieu

Microbiologie
Laboratoire CBM25
BESANÇON – FRANCE
matthieu.lefranc@cbm25.fr

LEGRAND Mélanie

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
mlegrand@pasteur.fr

LEGRET Damien

Marketing
Sysmex France
ROISSY CDG – FRANCE
legret.damien@sysmex.fr

LEGUAY FRIEDRICH Gaelle

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
gaelle.leguayfriedrich@biomerieux.com

LEHOURS Philippe

CNR Campylobacters Helicobacters
CHU Pellegrin
BORDEAUX – FRANCE
philippe.lehours@u-bordeaux.fr

LELOUP Julie

UMR CNRS 7618 iEES Paris
PARIS – FRANCE
julie.leloup@upmc.fr

LEMAITRE Nadine

Bactériologie
CHU site Sud
AMIENS – FRANCE
sebbane.nadine@bbox.fr

LEMAN-LOUBIERE Charlotte

Clarins
PONTOISE – FRANCE
charlotte.leman-loubiere@clarins.com

LEMEE Marie-Camille

CHR Hansen
ARPAJON – FRANCE
frmele@chr-hansen.com

LEMICHEZ Emmanuel

Microbiologie
Inserm - Pasteur
PARIS – FRANCE
emmanuel.lemichez@pasteur.fr

LENINAN Pierre

Thermo Fisher Scientific
COURTABOEUF – FRANCE
pierre.leninan@thermofisher.com

LÉON Albertine

LABÉO
SAINT-CONTEST – FRANCE
albertine.leon@laboratoire-labeo.fr

LEQUIN Celine

Beckman Coulter
VILLEPINTE – FRANCE
clequin@beckman.com

LERCH Thomas

IEES-Paris
CRÉTEIL – FRANCE
thomas.lerch@u-pec.fr

LEROY Olivier

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
olivier.leroy@biomerieux.com

LEROY Sabine

UMR MEDIS
INRA
SAINT-GENÈS-CHAMPANELLE – FRANCE
sabine.leroy@inra.fr

LESCAT Mathilde

APHP GHHUPSSD
PARIS – FRANCE
mathilde.lescat@aphp.fr

LESEIGNEUR Clarisse

Unité de recherche Yersinia
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
clarisse.leseigneur@pasteur.fr

LETREUILLE Brigitte

Pfizer
PARIS – FRANCE
nassera.athemani@pfizer.com

LEYVA SALAS Marcia

LUBEM
PLOUZANÉ – FRANCE
marcia.leyvasalas@univ-brest.fr

LIGAT Gaëtan

UMR Inserm 1110
STRASBOURG – FRANCE
gaetan.ligat@inserm.fr

LINA Bruno

Service de Virologie de l'Institut des
Agents infectieux
Hospices Civils
LYON – FRANCE
bruno.lina@chu-lyon.fr

LINA Gérard

Université de Lyon
LYON – FRANCE
gerard.lina@univ-lyon1.fr

LINGESWARAN Abarna

INRA - Micalis
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
abarna.lingeswaran@inra.fr

LLANES Catherine

Laboratoire de Bactériologie
Université de Franche-Comté
BESANÇON – FRANCE
cllanesb@univ-fcomte.fr

LOEFFERT-FRÉMIOT Sophie

Laboratoire de Microbiologie
Laboratoires Anios-Ecolab
SAINGHIN EN MÉLANTOIS – FRANCE
sophie.loeffert@anios.com

LOPEZ Daniel

Spanish research Council (CSIC)
MADRID – ESPAGNE
dlopez@cnb.csic.es

LORET Suzanne

SIPPT
Université de Namur
NAMUR – BELGIQUE
suzanne.loret@unamur.be

LORIOT Cécilia

Bertin Technologies
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE
cecilia.loriot@bertin.fr

LOTTON Chantal

U1016
Université Paris-Descartes - Inserm
PARIS – FRANCE
chantal.lotton@inserm.fr

LUTZ Aurélie

CHR Hansen
ARPAJON – FRANCE
fralut@chr-hansen.com

LYONNAIS Sébastien

CEMIPAI CNRS UMS-3725
MONTPELLIER – FRANCE
sebastien.lyonnais@cemipai.cnrs.fr

MAFILLE Julien

Miltenyi Biotec
PARIS – FRANCE
julienm@miltenyibiotec.fr

MAGALLON Arnaud

Microbiologie
CHU
DIJON – FRANCE
arnaudmagallon29@gmail.com

MAHO Thomas

INU Champollion - Recherche
 Diagnostics des Plasmas Hors Equilibre
 ALBI – FRANCE
 thomas.maho@univ-jfc.fr

MAILLARD Jean-Yves

Cardiff University
 CARDIFF – ROYAUME-UNI
 maillardj@cardiff.ac.uk

MAKHOULFI Meriem

Laboratoire de microbiologie
 CHU
 BATNA – ALGÉRIE
 mary.mak85@gmail.com

MANDA Pierre

Université Felix Houphouet Boigny
 ABIDJAN – CÔTE D'IVOIRE
 mandapierre@yahoo.fr

MARCOUX Pierre

LETI - DTBS
 CEA
 GRENOBLE – FRANCE
 pierre.marcoux@cea.fr

MARECHAL Mylène

AGLAE
 HALLENES-LEZ-HAUBOURDIN – FRANCE
 mylene.cointe@association-aglae.fr

MARFISI Claude

Bruker
 BANDOL – FRANCE
 claude.marfisi@bruker.com

MAROT Stéphane

FRANCE
 marotstephane@orange.fr

MARRAKCHI Hedia

IPBS CNRS
 TOULOUSE – FRANCE
 hedia.marrakchi@ipbs.fr

MARROCCO Maude

Beckman Coulter
 VILLEPINTE – FRANCE
 mmarocco@beckman.com

MARTIN Capucine

REJIF
 FRANCE
 capucine3martins@gmail.com

MARTIN Christian

CHU
 LIMOGES – FRANCE
 christian.martin@unilim.fr

MARTIN Géraldine

Laboratoire de biologie
 CHPC
 CHERBOURG-EN-COTENTIN – FRANCE
 g.martin@ch-cotentin.fr

MARTIN-LAURENT Fabrice

UMR Agroécologie
 INRA
 DIJON – FRANCE
 fabrice.martin@inra.fr

MASSIP Clémence

Laboratoire Bactériologie
 CHU
 TOULOUSE – FRANCE
 massip.c@chu-toulouse.fr

MATHEY Raphaël

DRF - IRIG -DIESE - SyMMES- CREAB
 CEA
 GRENOBLE – FRANCE
 raphael.mathey@cea.fr

MATOS Renata

Institut de Génomique Fonctionnelle
 LYON – FRANCE
 renata.matos@ens-lyon.fr

MATTEI Sara

Mobidiag
 PARIS – FRANCE
 sara.mattei@mobidiag.com

MAURAND Audrey

Hygiène Hospitalière
 CHU Henri Mondor
 VITRY-SUR-SEINE – FRANCE
 audrey.maurand@gmail.com

MAYEMI Bienvenu

Sysmex France
 ROISSY CDG – FRANCE
 mayemi.bienvenu@sysmex.fr

MAYOT Estelle

MP Biomedicals
 ILLKIRCH – FRANCE
 estelle.mayot@mpbio.com

MAZARS Edith

Laboratoire
 Centre Hospitalier
 VALENCIENNES – FRANCE
 mazars-e@ch-valenciennes.fr

MAZEL Didier

Institut Pasteur
 PARIS – FRANCE
 mazel@pasteur.fr

MEERTENS Laurent

Unité U944
 Inserm
 PARIS – FRANCE
 laurent.meertens@inserm.fr

MEGRAUD Francis

Bactériologie
 Université de Bordeaux
 BORDEAUX – FRANCE
 francis.megraud@chu-bordeaux.fr

MENEGHEL Clarisse

Smaltis
 BESANÇON – FRANCE
 clarisse.meneghel@laposte.net

MERLIN Christophe

LCPME
 Université de Lorraine - CNRS
 VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
 christophe.merlin@univ-lorraine.fr

MESSALA Amina

Microbiologie
 Université de Médecine
 BATNA – ALGÉRIE
 amina.messala@yahoo.fr

METTOUCHI Amel

Institut Pasteur
 PARIS – FRANCE
 amel.mettouchi@pasteur.fr

MICHAUT Manon

Laboratoire de sécurité des aliments
 Anses
 MAISONS-ALFORT – FRANCE
 manon.michaut@anses.fr

MICHEL Jacques

Direction
 Hôpital Hadassah
 JERUSALEM – ISRAËL
 prjymichel@gmail.com

MICHIELS Thomas

Virologie fondamentale
 UCLouvain, de Duve Institute
 BRUXELLES – BELGIQUE
 thomas.michiels@uclouvain.be

MICHON Christophe

R&D
CHROMagar
PARIS – FRANCE
chromagar@chromagar.com

MIDELET-BOURDIN Graziella

Anses
BOULOGNE-SUR-MER – FRANCE
graziella.bourdin@anses.fr

MIELCAREK Christine

Ecole de Biologie Industrielle
CERGY – FRANCE
c.mielcarek@hubebi.com

MIKATY Guillain

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
guillain.mikaty@pasteur.fr

MIKHAYEL Myriam

Laboratoire de microbiologie
Université Saint Joseph de Beyrouth
BEYROUTH – LIBAN
myriam.mikhayel@gmail.com

MIOSSEC Christine

R&D
Vetoquinol
PARIS – FRANCE
christine.miossec@vetoquinol.com

MIQUEL Sylvie

Laboratoire de Bactériologie
UCA Faculté de Pharmacie
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
sylvie.miquel@uca.fr

MISTOU Michel-Yves

LSAL
Anses
MAISONS-ALFORT – FRANCE
michel-yves.mistou@anses.fr

MOALIC Pierre-Yves

LABOFARM
LOUDÉAC – FRANCE
biologiste@labofarm.com

MOINGEON Benjamin

bioMérieux
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
benjamin.moingeon@biomerieux.com

MOLMERET Maëlle

Laboratoire MAPIEM
Université de Toulon
LA GARDE – FRANCE
molmeret@univ-tln.fr

MONTIEL Dolores

LD31 EVA
LAUNAGUET – FRANCE
dolores.montiel@cd31.fr

MOREAU Karen

CIRI- UCBL1
LYON – FRANCE
karen.moreau@univ-lyon1.fr

MOUREZ Michael

Evotec-ID Lyon
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
michael.mourez@evotec.com

MOUSSOUNI Malika

Université de Montpellier
UMR5235 laboratoire LPHI-CNRS
MONTPELLIER – FRANCE
moussounimalika@hotmail.com

MOYEN Rachel

Faculté des Sciences et Techniques
Université Marien NGOUABI
BRAZZAVILLE – RÉPUBLIQUE DU CONGO
rmoyen@yahoo.fr

MUGGEO Anaëlle

Laboratoire de bactériologie
CHU - Hôpital Robert Debré
REIMS – FRANCE
anaëlle.muggeo@gmail.com

MUJA Cristina

Diagnosics des Plasmas Hors Équilibre
I.N.U. Champollion - Laboratoire DPHE
ALBI – FRANCE
cristina.muja@univ-jfc.fr

MULLER Cédric

Smaltis
BESANÇON – FRANCE
cedric.muller@smaltis.fr

MUTTELET Florence

Bruker - Biocentric
BANDOL – FRANCE
florence.muttelet@bruker.com

N'GUESSAN Elise

Département Biochimie-génétique
Université peleforo Gon Coulibaly Korhogo
KORHOGO – CÔTE D'IVOIRE
enguessan@yahoo.fr

NAAS Thierry

Bactériologie
Hôpital Bicêtre
LE KREMLIN-BICÊTRE – FRANCE
thierry.naas@aphp.fr

NACER Karima

BD
LE PONT-DE-CLAIX – FRANCE
karima.nacer@bd.com

NADERI Kambiz

MP Biomedicals
ILLKIRCH – FRANCE
kambiz.naderi@mpbio.com

NAGARD Bérengère

Anses
PLOUFRAGAN – FRANCE
berengere.nagard@anses.fr

NAIM Malek

Microbiologie
Hôpital central de l'Armée
ALGER – ALGÉRIE
malekn@outlook.fr

NAKUSI Laurence

Laboratoire de Bactériologie
UCA Faculté de Pharmacie
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
laurence.nakusi@uca.fr

NASSIF Xavier

INEM
PARIS – FRANCE
fernanda.magnin@inserm.fr

NAZARET Sylvie

CNRS - UMR Ecologie Microbienne
VILLEURBANNE – FRANCE
sylvie.nazaret@univ-lyon1.fr

NDIONE Méry

Institut du littoral environnement et sociétés
Université La Rochelle
LA ROCHELLE – FRANCE
mery.ndione1@univ-lr.fr

NEYRAUD Eric

CSGA
INRA
DIJON – FRANCE
eric.neyraud@inra.fr

NEYROLLES Olivier

CNRS
TOULOUSE – FRANCE
olivier.neyrolles@gmail.com

NGANDU MUTAKANIAYI Blaise

Microbiologie
Cliniques Universitaires
KINSHASA – RÉPUBLIQUE DÉMOCRATIQUE
DU CONGO
blaisengandumut@gmail.com

NGARI Chrissie

Microbiologie
Laboratoires Clarins
PONTOISE – FRANCE
chrissie.ngari@clarins.com

NGOM Serigne Inssa

MICALIS
INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
inssangom93@gmail.com

NGUYEN Laurent

GIGA-Stem Cells
Univeristé de Liège
LIÈGE – BELGIQUE
l Nguyen@uliege.be

NGUYEN Liam

Serious Games
FRANCE
luongnguyen.liembinh@gmail.com

NGUYEN-THÉ Christophe

UMR408, Sécurité et qualité des
produits d'origine végétale
INRA
AVIGNON – FRANCE
christophe.nguyen-the@inra.fr

NORMANT Vincent

Equipe Métaux et Microorganismes
CNRS UMR 7242 BSC
ILLKIRCH – FRANCE
normant@unistra.fr

NOVAIS Angela

Microbiology - Faculty of Pharmacy
UCIBIO - University of Porto
PORTO – PORTUGAL
angelasilvanovais@gmail.com

ONTSIRA NGOYI Esther Nina

Université Marien NGOUABI
BRAZZAVILLE – RÉPUBLIQUE DU CONGO
esther_muller2003@yahoo.fr

OSWALD Eric

Bactériologie-hygiène
CHU
TOULOUSE – FRANCE
eric.oswald@inserm.fr

OUASSA Timothée

UFR Sces Pharmaceutiques et Biologiques
ABIDJAN – CÔTE D'IVOIRE
timouassa@yahoo.fr

PAGES-MONTEIRO Laurence

R&D microbiologie
bioMérieux
LA BALME-LES-GROTTEs – FRANCE
laurence.pagesmonteiro@biomerieux.com

PALMIERI Fabio

Laboratoire de Microbiologie
Université de Neuchâtel
NEUCHÂTEL – SUISSE
fabio.palmieri@unine.ch

PAPIN Céline

Pileje
SAINT-BONNET-DE-ROCHEFORT – FRANCE
celine.papin@etu.uca.fr

PAPON Nicolas

GEIHP - IBS-IRIS - Université d'Angers
ANGERS – FRANCE
nicolas.papon@univ-angers.fr

PARTHUISOT Nathalie

Laboratoire Evolution et Diversité
Biologique
CNRS
TOULOUSE – FRANCE
nathalie.parthuisot@univ-tlse3.fr

PASQUIER Elodie

ANSES
MAISONS-ALFORT – FRANCE
elodie.pasquier@anses.fr

PASTERNAK Cécile

UMR Inserm 1092
CBRS - Agents antimicrobiens
LIMOGES – FRANCE
cecile.pasternak@unilim.fr

PATINO NAVARRETE Rafael

Microbiologie
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
rafael.patino@uv.es

PAUL Etienne

INSA
TOULOUSE – FRANCE
paul@insa-toulouse.fr

PEAN-DE-PONFILLY Gauthier

Hôpital Lariboisière
PARIS – FRANCE
gauthier.pean-de-ponfilly@aphp.fr

PECORARI Frédéric

CRCINA - Inserm U1232
NANTES – FRANCE
frederic.pecorari@univ-nantes.fr

PERLEMUTER Gabriel

Hôpital Antoine-Béclère
CLAMART – FRANCE
gabriel.perlemuter@aphp.fr

PERNIN Aurélia

Micalis Institute - INRA - AgroParisTech
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
aurelia.pemin@gmail.com

PETRACCHINI Serena

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
serena.petracchini@pasteur.fr

PEYRET Pierre

MEDIS INRA-UCA
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
pierre.peyret@uca.fr

PHALIPON Armelle

Unité Pathogénie Microbienne Moléculaire
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
armelle.phalipon@pasteur.fr

PHAN Gilles

CNRS - UMR - 8038
Université Paris Descartes
PARIS – FRANCE
gilles.phan@parisdescartes.fr

PICHON Maxime

Laboratoire de Bactériologie
CHU La Milétrie
POITIERS – FRANCE
maxime.pichon@chu-poitiers.fr

PIERRE Chantal

Laboratoire
Institut Mutualiste Montsouris
PARIS – FRANCE
chantal.pierre@imm.fr

PINA Mery

CRBIP
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
merypi@pasteur.fr

PINHAL Stéphane

I&L Biosystems France
CHAMPAGNE-AU-MONT-D'OR – FRANCE
sp@il-biosystems.com

PIZARRO-CERDA Javier

Unité de Recherche Yersinia
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
pizarroj@pasteur.fr

PLANTAMURA Emilie

MaaT Pharma
LYON – FRANCE
eplantamura@maat-pharma.com

PLESIAI Patrick

Bactériologie
CHU Jean Minjot
BESANÇON – FRANCE
patrick.plesiat@univ-fcomte.fr

PLOY Marie-Cécile

Laboratoire de Bactériologie-Virologie-
Hygiène
CHU - CBRS
LIMOGES – FRANCE
marie-cecile.ploy@unilim.fr

POLLET Thomas

INRA
MAISONS-ALFORT – FRANCE
thomas.pollet@inra.fr

POLYN Franck

HeX Lab
ESTAIMPUIS – BELGIQUE
franck.polyn@hex-group.eu

PONCET Sophie

Pfizer
PARIS – FRANCE
sophie.poncet@pfizer.com

POT Gwendoline

Bactériologie
BIO67
STRASBOURG – FRANCE
gwendoline.pot@yahoo.com

POT Matthieu

Institut Pasteur de la Guadeloupe
ABYMES – FRANCE
mpot@pasteur-guadeloupe.fr

POTIRON Grégoire

Laboratoire Biorylis
LA ROCHE SUR YON – FRANCE
gregoire.potiron@laborizon.fr

POTTIER Marine

Pôle Recherche
LABEO Frank Duncombe
SAINT CONTEST – FRANCE
marine.pottier@etu.univ-rouen.fr

POULIQUEN Hervé

Pharmacologie et Toxicologie
Oniris
NANTES – FRANCE
herve.pouliquen@oniris-nantes.fr

POUPET Cyril

IUT Génie Biologique d'Aurillac
UMRF 0545 - UCA Inra VAS
AURILLAC – FRANCE
cyril.poupet@uca.fr

POUYABAN Cyrille

Pfizer
PARIS – FRANCE
cyrillenicolaspouyaban@pfizer.com

PUJOL Céline

DGa Maîtrise NRBC
VERT-LE-PETIT – FRANCE
celine.pujol@intradef.gouv.fr

PULCINI Céline

Ministère des Solidarités et de la Santé
PARIS – FRANCE
celine.pulcini@univ-lorraine.fr

QUERAUD Cyril

Microbiologie
Lesaffre International
MARCQ-EN-BAROEUL – FRANCE
c.queraud@lesaffre.com

QUEVILLON-CHERUEL Sophie

B3S
CNRS - I2BC
ORSAY – FRANCE
sophie.quevillon-cheruel@i2bc.paris-saclay.fr

RAHBÉ Yvan

UMR5240 CNRS MAP
INRA
VILLEURBANNE – FRANCE
yvan.rahbe@inra.fr

RAHELIARIVAO Bodonirina Tanjona

Centre De Biologie Clinique
Institut Pasteur de Madagascar
ANTANANARIVO – MADAGASCAR
tanjona@pasteur.mg

RAHERISON Sophie

UMR Inserm 1092
Université de Limoges
LIMOGES – FRANCE
sophie.raherison@unilim.fr

RAMA RAO Nalini

INRA - Micalis
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
nalini.ramarao@inra.fr

RAMANANTSOA Céline

Microbiologie
Centre Hospitalier
LE MANS – FRANCE
cramanantsoa@ch-lemans.fr

RAMEIX-WELTI Marie-Anne

Microbiologie Hygiène
UMR INSERM 1173 UVSQ Ambroise Paré
APHP
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE
marie-anne.rameix-welti@uvsq.fr

RANGEL Rodrigo

Procelys
Lesaffre International
MAISONS-ALFORT – FRANCE
r.rangel@procelys.lesaffre.com

RAULT Cyrille

SDSP71
CHWM
CHALON – FRANCE
cyrille.rault@ch-chalon71.fr

RAYMOND Sarah

Laboratoires Maymat
MOULINS – FRANCE
sarah.polveche@gmail.com

RAYNAUD Françoise

Abio
DGA MNRBC
VERT-LE-PETIT – FRANCE
francoise.raynaud@intradef.gouv.fr

REBUFFAT Sylvie

Unité MCAM
Muséum national d'Histoire naturelle,
MNHN
PARIS – FRANCE
rebuffat@mnhn.fr

REMY Clément

Mobidiag
PARIS – FRANCE
clement.remy@mobidiag.com

RENARD Stéphane

BacteriOmic
Evotec-ID Lyon
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
stephane.renard@evotec.com

RENESTO Patricia

Laboratoire TIMC-IMAG
CNRS
LA TRONCHE – FRANCE
patricia.renesto@univ-grenoble-alpes.fr

REZÉ Sandrine

UMR Secalim
INRA - Oniris - Université Bertagne-Loire
NANTES – FRANCE
sandrine.reze@oniris-nantes.fr

REZZOUG Inès

laboratoire de microbiologie
Centre Hospitalier de Versailles
LE CHESNAY – FRANCE
inesrg05@gmail.com

RICHARD Elise

Eau de Paris
IVRY-SUR-SEINE – FRANCE
elise.richard@eaudeparis.fr

RIOU Mickaël

UE-1277 Plateforme d'infectiologie
expérimentale
INRA
NOUZILLY – FRANCE
mickael.riou@inra.fr

RIVOAL Katell

HQPAP
ANSES
PLOUFRAGAN – FRANCE
katell.rivoal@anses.fr

ROBERT Lydia

Laboratoire Jean Perrin
PARIS – FRANCE
robert.lydia@gmail.com

ROBERT Véronique

INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
veronique.robert@inra.fr

ROBERT-PILLOT Annick

Centre National de Référence des Vibrions
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
annick.robert-pillot@pasteur.fr

ROCHAT Tatiana

Virologie et immunologie moléculaires
INRA
LONGJUMEAU – FRANCE
tatiana.rochat@inra.fr

ROCHEGÜE Tony

AVB
ANSES
LYON – FRANCE
tony.rocheque@anses.fr

ROGELET Charles

MAST DIAGNOSTIC
AMIENS – FRANCE
crogelet@mast-diagnostic.fr

ROMAN Véronica

LCPME -UMR7564 - CNRS - UI
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
veronica.roman@univ-lorraine.fr

ROSE Valérie

HQPAP
Anses
PLOUFRAGAN – FRANCE
valerie.rose@anses.fr

ROUGALE Stéphane

Quantamatrix
VILLEJUIF – FRANCE
stephane.rougale@quantamatrix.com

ROUSSEAU Clotilde

Microbiologie
Hôpital Saint-Louis
PARIS – FRANCE
clotilde.rousseau@sls.aphp.fr

ROUSSELLE Christophe

Substances chimiques
Anses
MAISONS-ALFORT – FRANCE
christophe.rouselle@anses.fr

ROUSSIN Morgane

UMR5086 - MMSB
CNRS - IBCP
LYON – FRANCE
morgane.roussin@ibcp.fr

ROY Charly

Mobidiag
PARIS – FRANCE
karine.texeira-lopez@mobidiag.com

RUTH Isabelle

Microbiologie
CHU
CHARLEROI – BELGIQUE
isabelle.ruth@chu-charleroi.be

SABLE Sophie

CNRS LIENSs UMR 7266 - Université
LA ROCHELLE – FRANCE
sophie.sable@univ-lr.fr

SAINT-FELIX Jacques

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
jacques.saint-felix@biomerieux.com

SALEM EL MOCTAR ELY Mohamed

Lemine
Laboratoire
CHN
NOUAKCHOTT – MAURITANIE
medleminesalem@yahoo.fr

SALMONA Maud

Virologie
Hôpital Saint-Louis APHP
PARIS – FRANCE
maud.salmona@aphp.fr

SANCHEZ-CID Concepcion

Université de Lyon
ECULLY – FRANCE
concepcion.sanchezcidtorres@promega.com

SANTA MARIA Camille

ACEA BioSciences - A part of Agilent
SAN DIEGO – ÉTATS-UNIS
csanta-maria@aceabio.com

SANTUCCI Pierre

The Francis Crick Institute
LONDRE – ROYAUME-UNI
pierre.santucci@crick.ac.uk

SAUVONNET Nathalie

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
nathalie.sauvonnet@pasteur.fr

SAYOU Camille

Institute of Advanced Bioscience - INSERM
LA TRONCHE – FRANCE
camille.sayou@univ-grenoble-alpes.fr

SCHALK Isabelle

UMR 7242 - Biotechnologie signalisation
cellulaire
Université de Strasbourg
ILLKIRCH – FRANCE
schalk@unistra.fr

SCHRAMM Frédéric

CHU
STRASBOURG – FRANCE
frederic.schramm@chru-strasbourg.fr

SCHVOERER Evelyne

Microbiologie - discipline Virologie
CHRU et Faculté de Médecine de Nancy
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
e.schvoerer@chru-nancy.fr

SCHWARTZ Isabelle

Immunologie et immunologie moléculaires
INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
isabelle.schwartz@inra.fr

SEGAERT Lancelot

Prorata Locations et Services
MAROLLES-EN-BRIE – FRANCE
lancelot.segaert@prorata.fr

SELOSSE Marc-André

ISYEB UMR 7205
Muséum national d'Histoire naturelle
PARIS – FRANCE
ma.selosse@wanadoo.fr

SERGHINE Joelle

LSEM
Ifremer
PLOUZANÉ – FRANCE
joelle.serghine@ifremer.fr

SESQUES Martine

KERSIA
DINARD – FRANCE
martine.sesques@kersia-group.com

SEZNEC Erwan

Beckman Coulter
VILLEPINTE – FRANCE
eseznec@beckman.com

SHAPIRO Julie Teresa

CIRI
LYON – FRANCE
julie.teresa.shapiro@gmail.com

SICOT François-Xavier

Takara Bio Europe
ST GERMAIN EN-LAYE – FRANCE
francois-xavier_sicot@takarabio.com

SIMON Léna

CNRS
MONTPELLIER – FRANCE
lena.simon@cefe.cnrs.fr

SIMONIN Yannick

Inserm UMR 1058
MONTPELLIER – FRANCE
yannick.simonin@umontpellier.fr

SISSINTO SAVI DE TOVÉ

Yolande Grace Fifassi
Faculté des Sciences de la Santé
Université d'Abomey Calavi
COTONOU – BÉNIN
yolande.sissinto@yahoo.com

SIVIGNON Adeline

Université Clermont Auvergne
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
adeline.sivignon@uca.fr

SMATI-LAFARGE Mounira

Service de Microbiologie
Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil
CRÉTEIL – FRANCE
mounira.smati-lafarge@chicreteil.fr

SOLER Nicolas

UMR1128 DynAMic
Université de Lorraine - INRA
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
nicolas.soler@univ-lorraine.fr

SOREE Marion

Ifremer - Centre Bretagne
PLOUZANÉ – FRANCE
marion.soree@ifremer.fr

SOUCHE Aubin

CHU
LYON – FRANCE
aubin.souche@chu-lyon.fr

SOUGAKOFF Wladimir

A E R P - Bactériologie
Bactériologie-Hygiène
APHP Pitié-Salpêtrière
PARIS – FRANCE
wladimir.sougakoff@sorbonne-universite.fr

STACKEBRANDT Erko

AMPLEBEN – ALLEMAGNE
erko@dsmz.de

STEPHAN Priscillia

Bruker
BANDOL – FRANCE
priscillia.stephan@bruker.com

STEUNOU Anne Soisig

I2BC - CNRS
GIF-SUR-YVETTE – FRANCE
anne-soisig.steunou@i2bc.paris-saclay.fr

SU Li

UMR 1128 UL-INRA DynAMic
Université de Lorraine, Inra
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
li.su@univ-lorraine.fr

SU Wei Lin

Inserm - Université Paris Descartes
PARIS – FRANCE
wei-lin.su@inserm.fr

SWEETLOVE Cyril

Département Recherche Environnementale
L'Oreal
AULNAY-SOUS-BOIS – FRANCE
cyril.sweetlove@rd.loreal.com

TALON Régine

MEDIS
INRA
SAINT-GENÈS CHAMPANELLE – FRANCE
regine.talon@inra.fr

TAMINIAU Bernard

Department of food Sciences - microbiology
Université de Liège
LIÈGE – BELGIQUE
bernard.taminiau@uliege.be

TAOUBI Khalil

Boiron
MESSIMY – FRANCE
khalil.taoubi@boiron.fr

TESSON Samuel

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
samuel.tesson@biomerieux.com

TESSON Vincent

UMR - INRA 1014 SECALIM - Oniris
NANTES – FRANCE
vincent.tesson2@inra.fr

TETARD Alexandre

UMR 6249 - Bactériologie
Laboratoire Chrono-Environnement
BESANÇON – FRANCE
alexandre.tetard@laposte.net

TEXEIRA LOPEZ Karine

Marketing & Communication
Modibiag
PARIS – FRANCE
karine.texeira-lopez@modibiag.com

TEYSSIER Franck

ACEA BioSciences - A part of Agilent
SAN DIEGO – ÉTATS-UNIS
fteyssier@aceabio.com

THÉPAUT Marion

Equipe RBS
IGDR UMR CNRS 6290
RENNES – FRANCE
marion.thepaut@univ-rennes1.fr

THIAM Romain

Biospringer
MAISONS-ALFORT – FRANCE
r.thiam@procelys.lesaffre.com

THIERRY Anne

UMR STLO
INRA
RENNES – FRANCE
anne.thierry@inra.fr

THINEY Pierre-Louis

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
pierre-louis.thiney@biomerieux.com

THOMAS Olivier

Beckman Coulter
VILLEPINTE – FRANCE
othomas@beckman.com

THOMAS Vincent

Programme Microbiote
Bioaster
PARIS – FRANCE
vincent.thomas@bioaster.org

THY Michael

REJIF
FRANCE
michael245thy@gmail.com

TIDJANI Abdoul-Razak

UMR 1128 UL-INRA DynAMic
Université de Lorraine, Inra
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
abdoul-razak.tidjani@univ-lorraine.fr

TIRLOY Aurelie

HeX Lab
ESTAIMPUIS – BELGIQUE
franck.polyn@hex-group.eu

TOMAS Nicolas

IPBS - CNRS
TOULOUSE – FRANCE
nicolas1993.tomas1993@gmail.com

TORDJEMAN Marc

Bruker - Biocentric
BANDOL – FRANCE
marc.tordjeman@bruker.com

TOURNIER Céline

Microbiologie
Galderma
AIX-LES-BAINS – FRANCE
celine.tournier@outlook.fr

TRAN Seav-Ly

MICALIS BAT442-Equipe PIMS
INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
seav-ly.tran@inra.fr

TREILLES Michaël

R&D
Syndicat Mixte Qualyse
CHAMPDENIERS-SAINT-DENIS – FRANCE
michael.treilles@qualyse.fr

TROESCH Alain

Bioaster
LYON – FRANCE
alain.troesch@bioaster.org

TRUONG Jeanne

Microbiologie
CHU Robert Debré AP-HP
PARIS – FRANCE
jeanne.truong@aphp.fr

TSOUMTSA Landry Laure

Microbiologie
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
landry.tsoumtsa-meda@pasteur.fr

ULRICH Gérald

Quantamatrix
VILLEJUIF – FRANCE
gerald.ulrich@quantamatrix.com

VALLEE Eric

Laboratoire de biologie médicale et hygiène
hospitalière
Hôpital Simone Veil
EAUBONNE – FRANCE
eric.vallee@ch-simoneveil.fr

VAN BAMBEKE Françoise

Université catholique de Louvain
BRUXELLES – BELGIQUE
francoise.vanbambeke@uclouvain.be

VAN GIJSEGEM Frédérique

INRA
PARIS – FRANCE
vangijse@agroparistech.fr

VANDEBROUCKE Nathalie

Mobidiag
PARIS – FRANCE
nathalie.vandenbroucke@mobidiag.com

VARROT Annabelle

CERMAV CNRS UPR5301
CHAMP-SUR-DRAC – FRANCE
annabelle.varrot@cermav.cnrs.fr

VASSORT Aurélie

BacteriOmix
Evotec
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
aurelie.vassort@evotec.com

VAYSSIER-TAUSSAT Muriel

INRA
NOUZILLY – FRANCE
muriel.vayssier@inra.fr

VEIL Didier

Quantamatrix
VILLEJUIF – FRANCE
didier.veil@quantamatrix.com

VERGER Pascale

Bactériologie
LABM Oriade Noviale
SAINT MARTIN-D'HÈRES – FRANCE
pascale.verger@oriade.fr

VERNEUIL Nicolas

UFR Sciences
Université de Caen Normandie
CAEN – FRANCE
nicolas.verneuil@unicaen.fr

VILARO Mario

Microbiologie
Hospital Privado Universitario de Cordoba
CORDOBA – ARGENTINE
mvarilo@hospitalprivadosa.com.ar

VILLENA Isabelle

Parasitologie-Mycologie
CHU
Université Reims Champagne Ardenne
REIMS – FRANCE
ivillena@chu-reims.fr

VINCENT Julia

LaSIE - LIENSs
CNRS UMR 7356
LA ROCHELLE – FRANCE
julia.vincent1@univ-lr.fr

VINCENT-HUBERT Françoise

Laboratoire Santé Environnement
et Microbiologie
Ifremer
NANTES – FRANCE
fvincent@ifremer.fr

VOLAND Lise

UMRS 1269 Nutriomique
Sorbonne Université/INSERM
PARIS – FRANCE
lise.voland@gmail.com

VON BOROWSKI Rafael

Equipe RBS - IGDR UMR6290
CNRS Université Rennes1
RENNES – FRANCE
rafaborowski@hotmail.com

VONG Olivia

Société Française de Microbiologie
PARIS – FRANCE
secretariat@sfm-microbiologie.org

WALDMAN Prunelle

Eau de Paris
IVRY-SUR-SEINE – FRANCE
prunelle.waldman@eaudeparis.fr

WALIGORA-DUPRIET Anne-Judith

UMRS1139
Université Paris Descartes
PARIS – FRANCE
anne-judith.waligora@parisdescartes.fr

WEILL Francois-Xavier

Unité des Bactéries pathogènes entériques
Institut Pasteur
VANVES – FRANCE
fxweill@pasteur.fr

WEISSBART Daniel

MP Biomedicals
ILLKIRCH – FRANCE
daniel.weissbart@mpbio.com

WENNIG Robert

Laboratoire National de Santé
LUXEMBOURG – LUXEMBOURG
rwennig@pt.lu

WENTRUP Cecilia

R&D
CHROMagar
PARIS – FRANCE
chromagar@chromagar.com

WURTZER Sebastien

R&D Biologie
Eau de Paris
IVRY-SUR-SEINE – FRANCE
sebastien.wurtzer@eaudeparis.fr

YOUKANA Nadia

TIMC-IMAG
LA TRONCHE – FRANCE
nadia.youkana@univ-grenoble-alpes.fr.fr

ZAGOREC Monique

UMR1014 Secalim
INRA
NANTES – FRANCE
monique.zagorec@oniris-nantes.fr

ZHU Yueying

INRA
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
yueying.zhu@inra.fr

ZIDOUNI Yasmine

Ozyme
FRANCE
yzidouni@ozyme.fr

ZITVOGEL Laurence

UMR1015 Immunologie des tumeurs
et immunothérapie
Institut Gustave-Roussy
VILLEJUIF – FRANCE
laurence.zitvogel@gustaveroussy.fr



Société Française
de Microbiologie

MICROBES ●●●●●

15^e congrès national de la SFM

LISTES DES SPONSORS ET DES EXPOSANTS

LISTE DES SPONSORS

Accelerate diagnostics

www.axdx.com

e-MEDECINImage / FCBM

www.e-medicinimage.eu

Eurobio Scientific

www.diaxonhit.com

Hologic

www.hologic.fr

La gazette du laboratoire

www.gazettelabo.fr

You and Science

www.youandscience.com

LISTE DES EXPOSANTS

ACEA BioSciences**Stand 4**

Fabrication et commercialisation d'instruments dédiés à la détection et quantification de virus, de bactéries et levures (Cytomètre en flux) et à l'analyse en temps réel (RTCA xCEL).

6779 Mesa Ridge Rd. #100
CA 92121 SAN DIEGO – USA
jerome.darakdjan@agilent.com
www.aceabio.com

BD**Stand 35**

BD est une entreprise internationale spécialisée dans les technologies médicales liées entre autre à l'administration des médicaments, aux diagnostic des maladies infectieuses, des cancers et diabète.

11 rue Aristide Bergès
38801 LE PONT-DE-CLAIX – FRANCE
+33 4 76 68 36 36
catherine.issarny@bd.com
www.bd.com

Beckman Coulter**Stand 11**

Leading company in flow cytometry such as APD CytoFlex.

Immeuble le Rimbaud
22 avenue des Nations
93420 VILLEPINTE – FRANCE
+33 1 49 90 91 35
lsr-france@beckman.com
www.beckmancoulter.com

Beckman Coulter**Stand 37**

Beckman Coulter est l'un des premiers fabricants mondiaux d'instruments de mesure et d'analyses biologiques dans le domaine du diagnostic clinique et du matériel biomédical.

22 avenue des Nations
93420 VILLEPINTE – FRANCE
+33 1 49 90 90 00
Beckman_France@beckman.com
www.beckmancoulter.com/fr/products

Biologie Sans Frontières**Stand 40**

BSF, association loi 1901 reconnue d'utilité publique, renforce la biologie médicale des laboratoires des Pays en Développement en apportant du matériel et en formant le personnel local.

31 rue Mazenod
69426 LYON CEDEX 3 – FRANCE
+33 4 77 82 93 49
courrier@bsf.asso.fr
https://biologiesansfrontieres.org

bioMérieux**Stand 25**

Acteur mondial dans le domaine du diagnostic in vitro depuis plus de 55 ans, BioMérieux offre des solutions de diagnostic (systèmes, réactif, logiciels et services) qui déterminent l'origine d'une maladie.

5 rue des Aqueducs
69290 CRAPONNE CEDEX – FRANCE
+33 4 78 87 20 00
marketing.france@biomerieux.com
www.biomerieux.fr

Bruker - Biocentric**Stand 15**

Bruker : Fournisseur de solutions analytiques en microbiologie clinique (équipements, consommables).

Biocentric : Fournisseur d'équipements et de réactifs de diagnostics in vitro.

276 chemin de Roumpinas
Immeuble Horus
83150 BANDOL – FRANCE
+33 4 94 29 06 30
cedric.rampon@bruker.com
www.bruker.com / www.biocentric.com

I&L Biosystems France**Stand 26**

Distribution d'équipements innovants pour la microbiologie et suivi dans l'utilisation (conseils, formation, maintenances préventive et curative).

12 chemin de l'Epoux
69410 CHAMPAGNE-AU-MONT-D'OR
FRANCE
+33 4 82 98 15 30
info@il-biosystems.fr
www.il-biosystems.com

Interscience**Stand 17**

Concepteur et fabricant français d'équipement et consommables pour la préparation et l'analyse de l'échantillon en microbiologie.

30 chemin du Bois des Arpents
78860 SAINT-NOM-LA-BRETÈCHE – FRANCE
+33 1 34 62 62 61
info@interscience.com
www.interscience.com

Labo & Co**Stand 18**

Distribution de solutions techniques pour le laboratoire et l'industrie.

50 avenue de Grosbois - BP78
94440 MAROLLES-EN-BRIE – FRANCE
+33 1 45 98 67 61
contact@laboandco.com
www.laboandco.com

LGC Standard**Stand 24**

Distribution de matériaux de référence et étalons analytiques ainsi que l'organisation d'essais inter labo (EIL).

6 rue Alfred Kastle
67120 MOLSHEIM CEDEX – FRANCE
+33 3 88 04 82 82
fr@lgcgroup.com
www.lgcstandards.com

Luminex

Stand 34

115 rue Cardinet
75831 PARIS CEDEX 17 – FRANCE
+31 73 800 1900
europe@luminexcorp.com
www.luminexcorp.com/EU

Mast Diagnostic

Stand 12

Mast est une entreprise indépendante qui produit et distribue des réactifs et instruments de diagnostic pour le marché de la biologie clinique, industrielle et vétérinaire.
12 rue Jean-Jacques Mention - CS 91106
80000 AMIENS CEDEX 1 – FRANCE
+33 3 22 80 80 67
info@mast-diagnostic.fr
www.mast-group.com

Memmert

Stand 7

Dès la troisième génération, Memmert développait et produisait des étuves, des incubateurs, des enceintes climatiques ainsi que des bains-marie et bains d'huile.
Äubere Rittersbacher Strasse 38
91126 SCHWABACH – GERMANY
+49 9122 9250
sales@memmert.com
www.memmert.com/fr/home

Miltenyi Biotec

Stand 3

Société de biotechnologie, leader dans le domaine de la séparation cellulaire, intervenant novateur en cytométrie en flux, culture cellulaire, biologie moléculaire et préparation d'échantillons.
10 rue Mercoeur
75011 PARIS – FRANCE
+33 1 56 98 16 16
macs@miltenyibiotec.fr
www.miltenyibiotec.fr

Mobidiag

Stand 16

Mobidiag est une société qui développe et commercialise des solutions innovantes pour le diagnostic in vitro des maladies infectieuses et résistances aux antibiotiques.
172 rue de Charonne
75011 PARIS – FRANCE
+33 1 55 25 17 00
adv@mobidiag.com
www.mobidiag.com

MP Biomedicals

Stand 5

MP Biomedicals est une société internationale qui fabrique et distribue des produits destinés aux marchés des sciences de la vie, de la chimie et du diagnostic.
220 rue Geiler de Kaysersberg
67402 ILLKIRCH – FRANCE
+33 3 88 67 54 25
info.europe@mpbio.fr
www.mpbio.com

Mylan Medical

Stand 21

Laboratoire pharmaceutique.
40/44 rue Washington
75008 PARIS – FRANCE
+33 1 56 64 10 70
marie-christine.antunes@mylan.com
www.mylan.fr

Ozyme

Stand 32

Ozyme fournit en réactifs, équipements et services les laboratoires de recherche en biologie moléculaire, biologie cellulaire et immunologie.
6 boulevard Georges Marie Guynemer
ZAC Charles Renard - Bâtiment G
78210 SAINT-CYR-L'ÉCOLE – FRANCE
+33 1 34 60 24 24
info@ozyme.fr
www.ozyme.fr

Pfizer

Stand 28

Laboratoire pharmaceutique.
23-25 avenue du Dr Lannelongue
75014 PARIS – FRANCE
+33 1 58 07 30 00
messaouda.nakib@pfizer.com
www.pfizer.fr

Quantamatrix

Stand 2

Antibiogrammes rapides directement à partir des flacons d'hémocultures positives.
1 Mail du Professeur Georges Mathé
Villejuif Bio Park
94800 VILLEJUIF – FRANCE
+33 1 45 21 18 65
contact@quantamatrix.com
www.quantamatrix.com

Roche Diagnostics France

Stand 14

Numéro 1 mondial en biotechnologies, le groupe Roche figure parmi les leaders de l'industrie pharmaceutique et diagnostique axée sur la recherche.
2 avenue du Vercors
BP 59 - CS 60059
38242 MEYLAN CEDEX – FRANCE
+33 4 76 76 30 00
christelle.farrugello@roche.com
www.rochediagnostics.fr

Smaltis

Stand 33

Microbiologiste réalisant des études sur mesure et délivrant des produits mutants pour les étapes de recherche, développement, fabrication et contrôle qualité de produit de santé.
2 rue Paul Milleret
Bâtiment Bioparc
25000 BESANÇON – FRANCE
+33 3 81 84 01 42
contact@smaltis.fr
www.smaltis.fr

Société Française de Microbiologie (SFM)

Stand 41

36 avenue Jean Moulin
75014 PARIS – FRANCE
+33 9 63 04 70 73
secretariat@sfm-microbiologie.org
www.sfm-microbiologie.org

Sysmex France**Stand 22**

Sysmex, acteur majeur dans le domaine du Diagnostic, utilise la technologie de cytométrie en flux pour développer des solutions innovantes en Biologie urinaire, Recherche et Industrie.

ZAC Paris Nord 2

22 avenue des Nations

95944 ROISSY CDG CEDEX – FRANCE

+33 1 48 17 01 90

info@sysmex.fr

www.sysmex.fr

Thermo Fisher Scientific**Stand 31**

16 avenue du Québec

91140 COURTABOEUF – FRANCE

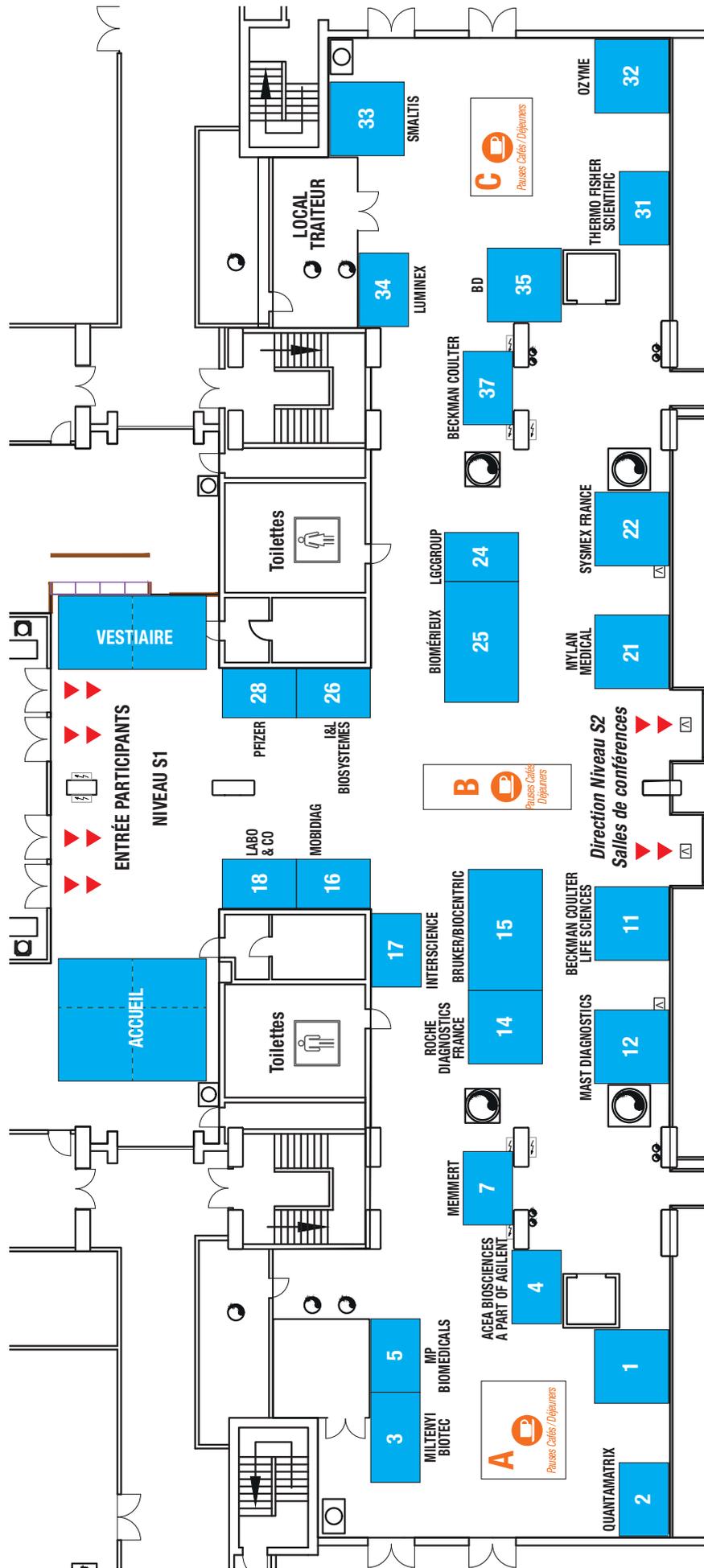
+44 141 814 6100

stephane.behar@thermofisher.com

www.thermofisher.com

PLAN DE L'EXPOSITION - CITÉ DES SCIENCES ET DE L'INDUSTRIE - NIVEAUX S1 ET S2

NIVEAU S1



PLAN DE SITUATION DES HÔTELS - SFM 2019 - PARIS



- 1 Forest Hill Paris La Villette ******
- 2 Hôtel Mercure Paris Porte de Pantin ******
- 3 Résidhome Rosa Parks *****
- 4 B&B Hôtel Paris Porte de La Villette ****



Société Française
de Microbiologie

MICROBES ●●●●●

15^e congrès national de la SFM

COMITÉ D'ORGANISATION

Président : Gérard Lina
Jean-Luc Bailly
Marielle Bouix
Michel Federighi
Alain Gravet
Jean-Louis Herrmann
Eric Oswald

COMITÉ SCIENTIFIQUE

Chantal Abergel
Corentine Alauzet
Sébastien Allix
Carmen Buchreiser
Vincent Cattoir
Christophe d'Enfert
Vincent Delafont
Yann Hechard
Isabelle Kempf
Marie-Frédérique Lartigue
Olivier Neyrolles
Nicolas Papon
Maxime Pichon
Evelyne Schvoerer
Régine Talon
François-Xavier Weill

SECRETARIAT ADMINISTRATIF

Alpha Visa Congrès / SFM 2019

624 rue des Grèzes
34070 Montpellier - France
Tél. : +33 4 67 03 03 00

sfm@alphavisa.com - www.alphavisa.com/sfm