



Société Française  
de Microbiologie

17<sup>e</sup> congrès  
national  
de la SFM

3 > 5 octobre

# MICROBES 2022

La microbiologie  
dans tous  
ses états



LIVRE DES RÉSUMÉS

Au **CORUM** de  
**MONTPELLIER**

Programme  
Résumés des communications  
Liste des posters, Liste des participants,  
Liste des sponsors et exposants

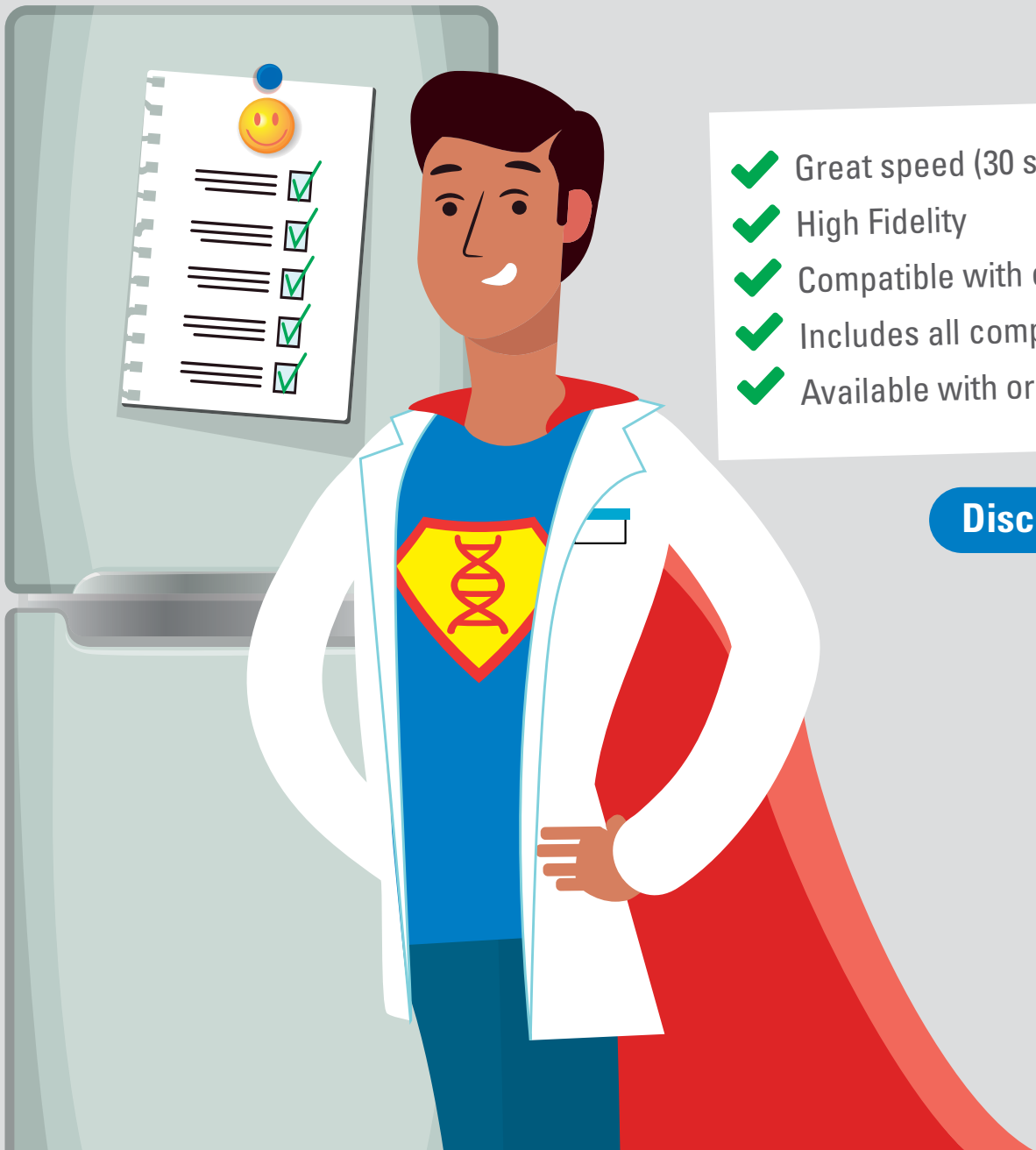
[www.alphavisa.com/sfm/2022](http://www.alphavisa.com/sfm/2022)



**GC rich, long fragments, extraction free protocols?  
Remove all doubt.**



**Ex Premier, PCR that works!**



- ✓ Great speed (30 sec/kb)
- ✓ High Fidelity
- ✓ Compatible with crude samples
- ✓ Includes all components
- ✓ Available with or without dye

**Discover now** ▶





Société Française  
de Microbiologie

# MICROBES 2022

## 17<sup>e</sup> Congrès National de la SFM



Au CORUM de MONTPELLIER 3 > 5  
Octobre

### BIENVENUE

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

J'ai le plaisir de vous accueillir au **17<sup>e</sup> congrès de la Société Française de Microbiologie « Microbes » du lundi 3 octobre au mercredi 5 octobre 2022.**

Cette année, nous l'organisons au Corum de Montpellier. 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 de thèse et une au prix poster sont aussi programmées. L'exposition vous permettra également 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 2022.



*Sonia Burrel,  
Présidente de la SFM*



Société Française  
de Microbiologie

# MICROBES 2022

## 17<sup>e</sup> Congrès National de la SFM

Au CORUM de MONTPELLIER 3 > 5  
Octobre

### BIENVENUE

Cher(e)s ami(e)s et collègues,

Nous sommes heureux de vous accueillir au **17<sup>e</sup> congrès national de la SFM « La microbiologie dans tous ses états »** qui a lieu au **Corum de Montpellier** du **3 au 5 octobre 2022**.

Le conseil scientifique et conseil d'organisation, avec l'aide des sections et des groupes de travail, et des sociétés savantes partenaires, ont travaillé à la constitution d'un programme riche et divers.

À très bientôt.

Très cordialement,

*Gérard Lina,  
Ancien président de la SFM*

---

Comme annoncé par Monsieur Gérard Lina, nous vous proposons pour Microbes 2022... « La microbiologie dans tous ses états ». Une immersion dans la microbiologie au cœur du berceau de la médecine à Montpellier, qui a vu naître la plus ancienne Faculté de médecine du monde occidental !

Un programme riche et divers, dense, à coup sûr, et passionnant, grâce aux acteurs invités, vos présentations orales et vos résumés que nous recevrons jusqu'à l'été 2022. Sans préjuger de ce que sera le **programme scientifique**, les comités d'organisation national et local ont veillé à satisfaire les souhaits que vous avez exprimés à l'issue de Microbes 2021, avec des sessions plénières et de nombreuses sessions parallèles, reflétant la microbiologie dans toute sa diversité. Le programme Microbes 2022 que nous vous proposons s'inspirera donc fortement de celui du précédent congrès Microbes 2021 à Nantes avec des incontournables qui seront :

- **Forum « Carrières en Microbiologie » pour les jeunes microbiologistes**
- **Prix de thèse & prix poster**
- **La parole aux industriels**
- **Le concours photo**
- **L'espace pédagogique**

Bienvenue à Montpellier et à Microbes 2022... « La microbiologie dans tous ses états ».

*Les comités d'organisation national et local.*



Société Française  
de Microbiologie

# MICROBES 2022

## 17<sup>e</sup> Congrès National de la SFM



Au CORUM de MONTPELLIER 3 > 5  
Octobre

### LES COMITÉS

#### Comité d'Organisation

- Gérard Lina
- Marielle Bouix
- Michel Federighi
- Sonia Burrel
- Mathilde Lescat
- Olivier Dussurget
- Christophe Burucoa

#### Comité local d'Organisation

- Laurent Kremer
- Nathalie Chazal

#### Comité Scientifique

- Jean-Louis Herrmann
- Frédéric Laurent
- Marie-Frédérique Lartigue
- Jérôme Le Goff
- Nicolas Papon
- Marie-Noëlle Rosso
- Sarah Dellière
- Céline Bressollette
- Monique Zagorec
- Sébastien Allix
- Olivier Neyrolles
- Eric Oswald
- Yann Héchard
- Corentine Alauzet
- Carmen Buchrieser
- Maxime Pichon
- Theodore Bouchez
- Julie Leloup
- Gaëtan Ligat
- Sophie Jarraud
- Brigitte Lamy
- Théo Ghelfenstein-Ferreira

#### Comité local Scientifique

- Hélène Marchandin
- Jean-Philippe Lavigne
- Sabine Galindo
- Laurence Lachaud
- Agnès Ageorges
- Jean-Mathieu Bart
- Yannick Gueguen
- Élie Le Quemener
- Vincent Foulongne

### SECRÉTARIAT ADMINISTRATIF

#### Alpha Visa Congrès / SFM 2022

624 rue des Grèzes

34070 Montpellier - France

Tél. : +33 4 67 03 03 00

[sfm@alphavisa.com](mailto:sfm@alphavisa.com) - [www.alphavisa.com/sfm/2022](http://www.alphavisa.com/sfm/2022)

## REMERCIEMENTS

Les Comités d'Organisation et Scientifique remercient vivement les partenaires publics et les sociétés savantes partenaires pour leur soutien dans le cadre du 17<sup>e</sup> congrès national de la SFM.

### Partenaires publics



### Sociétés savantes partenaires



FFBiotech



### Presse



## REMERCIEMENTS

Les Comités d'Organisation et Scientifique remercient vivement les sponsors et exposants pour leur soutien dans le cadre du 17<sup>e</sup> congrès national de la SFM.

### Sponsors - Exposants



## REMERCIEMENTS

Les Comités d'Organisation et Scientifique remercient vivement les sponsors et exposants pour leur soutien dans le cadre du 17<sup>e</sup> congrès national de la SFM.

### Sponsors - Exposants





18<sup>e</sup> CONGRÈS NATIONAL DE LA SFM



Société Française  
de Microbiologie

# MICROBES 2023

Un monde à explorer

**Mikroboù 2023**

*Ur bed da ergerzhout*

**4-6 octobre  
2023**

Rencontres  
Exposition  
Conférences  
Communications

**LE COUVENT  
DES JACOBINS**

**R** Centre des congrès de  
**RENNES** Métropole

[www.alphavisa.com](http://www.alphavisa.com/sfm/2023)  
/sfm/2023

## TABLE DES MATIÈRES

### PROGRAMME



• <b>Planning</b> .....	14
• <b>Lundi 3 octobre</b> .....	16
• <b>Mardi 4 octobre</b> .....	20
• <b>Mercredi 5 octobre</b> .....	29

### RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS DU LUNDI 3 OCTOBRE

#### SESSIONS PLÉNIÈRES

• <b>Conférence plénière</b> <i>Delphine Planas</i> .....	36
• <b>Audition Prix de thèse</b> .....	37
• <b>Conférences plénières</b> <i>Martine Peeters &amp; Olivier Ferraris</i> .....	43

#### SESSIONS PARALLÈLES

• <b>SP1 - Microbiologie fondamentale / Pathogénie</b>  Life on the inside: the intracellular lifestyle of pathogens .....	45
• <b>SP2 - Virologie</b> Impacts de la pandémie COVID-19 .....	50
• <b>SP3-T - Innovations pédagogiques</b> Innovations pédagogiques en microbiologie .....	55
• <b>SP4 - Environnement</b> Extremophiles et autres extravagances .....	62
• <b>SP5 - Mycologie / Parasitologie</b>  Tropical parasitoses (in association with SFP) .....	67
• <b>SP6-T - Microbiote</b> Microbiote .....	71

### RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS DU MARDI 4 OCTOBRE

#### SESSIONS PARALLÈLES

• <b>SP7 - Microbiologie fondamentale / Pathogénie</b>  Subversion of innate immunity by bacteria .....	77
• <b>SP8 - Virologie</b> (Ré)-émergences virales .....	82
• <b>SP9 - Microbiologie des aliments</b> Hétérogénéité cellulaire : impact sur les risques microbiologiques des aliments ? .....	87

- SP10 - **Environnement**  
One health ..... 92
- SP11 - **Mycologie** / **Parasitologie**  
Environnement et risque fongique chez l'Homme (en association avec la SFMM) ..... 97
- SP12 - **Clinique**  
Place de la métagénomique pour le diagnostic microbiologique ..... 101

#### SESSION PLÉNIÈRE

- **Conférence plénière** *Christel Paillé* ..... 106


#### SESSIONS PARALLÈLES

- SP13 - **Session Histoire** ..... 107
- SP14 - **Session Prix poster Jeunes Microbiologistes** ..... 108

#### SESSIONS PARALLÈLES

- SP15 - **Microbiologie fondamentale** / **Pathogénie**   
Communication between Bacteria in Pathogenesis and Commensalism ..... 112
- SP16 - **Virologie**  
Stratégies antivirales : cibles cellulaires, antiviraux directs, anticorps monoclonaux ..... 116
- SP17 - **Microbiologie des aliments**  
Microbiologie des aliments : y'a comme des « ...iques » ..... 121
- SP18 - **Environnement**  
Interactions microbiennes dans l'environnement (en association avec l'AFEM) ..... 126
- SP19 - **Antimicrobiens**  
Diffusion de la résistance ..... 131
- SP20 - **Clinique**  
Le flacon pour hémoculture dans tous ses états (en association avec le Col.BVH) ..... 136



#### SESSIONS PARALLÈLES

- SP21 - **Microbiologie fondamentale** / **Pathogénie**   
Persistence and Tolerance ..... 140
- SP22 - **Virologie**  
Infections virales de l'immunodéprimé ..... 144
- SP23 - **Microbiologie des aliments**   
Food, yeast and mold: the good and the bad ..... 149
- SP24 - **Biotechnologies microbiennes**  
Comprendre, sélectionner et exploiter les microbiotes pour les biotechnologies environnementales ..... 154

- SP25 - **Antimicrobiens**  
Lutte contre l'antibio-résistance : Stratégies innovantes de criblage et nouvelles molécules ..... 159
- SP26 - **Clinique**  
Infections d'origine animale et environnementale ..... 165

## RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS DU MERCREDI 5 OCTOBRE


### SESSIONS PARALLÈLES

- SP27 - **Microbiologie fondamentale** / **Pathogénie**   
Secretion systems & effectors in bacterial infections ..... 170
- SP28 - **Virologie**  
SP28-A - **Virus d'insectes** (en association avec la SFV) ..... 175  
SP28-B - **Viral pathogenesis**  ..... 177
- SP29 - **Sécurité et Sureté biologiques Parcours Charles Mérieux**  
La désinfection en 2022 (en association avec la SF2H) ..... 181
- SP30 - **Biotechnologies microbiennes**  
Interfacer des microbes et des circuits électriques : nouvelles technologies électromicrobiennes ..... 185
- SP31 - **Antimicrobiens**  
Alternatives aux antimicrobiens conventionnels ..... 190
- SP32 - **Clinique**  
Les mycobactéries non-tuberculeuses : pathogénèse et prévention ..... 195

### SESSION PLÉNIÈRE

- **Conférence plénière**  *Graham Hatfull* ..... 200

### SESSIONS PARALLÈLES

- SP33 - **Microbiologie fondamentale** / **Pathogénie**   
Epigenetics, RNA & infection ..... 201
- SP34-T - **Autre**  
Nouveaux modèles pour l'étude de la physiopathologie des infections ..... 206
- SP35 - **Sécurité et Sureté biologiques Parcours Charles Mérieux**  
Diagnostic hors laboratoire : Nouveaux outils & SSB ..... 211
- SP36 - **Biotechnologies microbiennes**  
Production de métabolites par fermentation (en association avec la FFBiotech) ..... 215
- SP37 - **Antimicrobiens**  
Antibactériens, antiviraux : nouvelles cibles, nouveaux inhibiteurs ..... 219
- SP38 - **Clinique**  
Adaptation et persistance microbienne au cours des infections chroniques ..... 223

## RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES

• A-P	Autres	229
• AA-P	Agents antimicrobiens et résistance	232
• B-P	Bactériologie	264
• BM-P	Biotechnologies microbiennes	285
• DM-P	Diagnostic microbiologique	291
• IH-P	Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite	304
• IT-P	Innovations technologiques en microbiologie	326
• M-P	Microbiote	340
• MA-P	Microbiologie des aliments	351
• MC-P	Microbiologie clinique	370
• ME-P	Microbiologie environnementale	390
• MF-P	Microbiologie fondamentale	402
• MH-P	Microbiologie One Health	425
• MP-P	Mycologie-Parasitologie	428
• O-P	Omiques	438
• PP-P	Prix poster Jeunes Microbiologistes	443
• V-P	Virologie	449
<hr/>		
•	Liste des posters	463
<hr/>		
•	Liste des participants	475
<hr/>		
•	Liste des sponsors et exposants	504
•	Plan de l'exposition & Liste des stands	509
<hr/>		
•	Plan de situation des hôtels	510



<b>Audit.</b>	<b>Auditorium Pasteur</b> Niveau 1 (700)	<b>Antigo.</b>	<b>Espace Antigone</b> Niveau 2	<b>BC2</b>	<b>Bureau orateurs</b> Niveau 2
<b>Sully 1</b>	<b>Salle Sully 1 - Niveau 1</b> (80)	<b>Barthez</b>	<b>Salle Barthez</b> Niveau 2 (140)	<b>BC3</b>	<b>Bureau du Comité d'Organisation</b> Niveau 2
<b>Sully 2</b>	<b>Salle Sully 2 - Niveau 1</b> (80)	<b>Ronde.</b>	<b>Salle Rondelet</b> Niveau 2 (140)		
<b>Sully 3</b>	<b>Salle Sully 3 - Niveau 1</b> (70)				

**LUNDI 3 OCTOBRE**

10h00-13h00	3 <sup>e</sup> Forum "Carrières en Microbiologie" pour les jeunes microbiologistes <b>Ronde.</b>				
11h00-12h30	Réunion des responsables de sections <b>Barthez</b>				
12h30-13h30	Accueil des participants <b>Antigo.</b>				
13h30-14h15	Conférence plénière - <i>Delphine Planas</i> <b>Audit.</b>				
14h15-15h45	AUDITION Prix de thèse <b>Audit.</b>				
15h45-16h15	Parole aux industriels <b>Audit.</b>				
16h15-17h00	Pause café - Visite exposants - Posters <b>Antigo.</b>				
17h00-18h25	Conférences plénières - <i>Martine Peeters &amp; Olivier Ferraris</i> <b>Audit.</b>				
18h25-18h30	Changement de salle				
18h30-20h00	<b>SP1 - MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE / PATHOGÉNIE</b> Life on the inside: the intracellular lifestyle of pathogens <b>Audit.</b>	<b>SP2 - VIROLOGIE</b> Impacts de la pandémie COVID-19 <b>Ronde.</b>	<b>SP3 - T - INNOVATIONS PÉDAGOGIQUES</b>	<b>SP4 - ENVIRONNEMENT</b> Extremophiles et autres extravagances <b>Sully 1</b>	<b>SP5 - MYCOLOGIE / PARASITOLOGIE</b> Tropical Parasitoses (SFP) <b>Sully 3</b>
20h00	Apéritif dînatoire <b>Antigo.</b>				

**MARDI 4 OCTOBRE - MATINÉE**

07h45-08h30	Accueil des participants <b>Antigo.</b>				
08h30-10h00	<b>SP7 - MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE / PATHOGÉNIE</b> Subversion of innate immunity by bacteria <b>Audit.</b>	<b>SP8 - VIROLOGIE</b> (Ré)-émergences virales <b>Ronde.</b>	<b>SP9 - MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS</b> Hétérogénéité cellulaire : impact sur les risques micro- biologiques des aliments ? <b>Sully 2</b>	<b>SP10 - ENVIRONNEMENT</b> One health <b>Sully 1</b>	<b>SP11 - MYCOLOGIE / PARASITOLOGIE</b> Environnement et risque fongique chez l'Homme (SFMM) <b>Sully 3</b>
10h00-10h45	Pause café - Visite exposants - Posters <b>Antigo.</b>				
10h45-11h30	Conférence plénière - <i>Christel Paillé</i> <b>Audit.</b>				
11h30-12h20	Parole aux industriels <b>Audit.</b>				
12h20-12h25	Changement de salle				
12h25-13h05	<b>SP13 - SESSION HISTOIRE - Michel Simonet</b> <b>Audit.</b>				
13h05-14h30	<b>SP14 - SESSION PRIX POSTER JEUNES MICROBIOLOGISTES</b> <b>Ronde.</b>				
	Déjeuner - Visite exposants - Posters <b>Antigo.</b>				

MARDI 4 OCTOBRE - APRÈS-MIDI			
Symposium bioMérieux <b>Audit.</b>			
14h30-15h15	SP15 - MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE / PATHOGÉNIE	SP16 - VIROLOGIE	SP17 - MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS
15h15-16h45	Communication between Bacteria in Pathogenesis and Commensalism <b>Barthez</b>	Stratégies antivirales : cibles cellulaires, antiviraux directs, anticorps monoclonaux <b>Sully 1</b>	Interactions microbiennes dans l'environnement (AFEM) <b>Ronde.</b>
16h45-17h15			Diffusion de la résistance dans tous ses états (Col.BVH) <b>Sully 3</b>
Pause café - Visite exposants - Posters <b>Antigo.</b>			
SESSION POSTERS 1 - Numéros pairs <b>Antigo.</b>			
17h15-18h00	SP21 - MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE / PATHOGÉNIE	SP22 - VIROLOGIE	SP23 - MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS
18h00-19h30	Persistence and Tolerance <b>Barthez</b>	Infections virales de l'immunodéprimé <b>Sully 1</b>	Food, yeast and mold: the good and the bad <b>Sully 2</b>
19h30			Lutte contre l'antibio-résistance : Stratégies innovantes de criblage et nouvelles molécules <b>Audit.</b>
Cocktail dînatoire du congrès <b>Antigo.</b>			
MERCREDI 5 OCTOBRE			
Accueil des participants <b>Antigo.</b>			
07h45-08h30			
08h30-10h00	SP27 - MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE / PATHOGÉNIE	SP28 - VIROLOGIE	SP29 - SÉCURITÉ ET SURETÉ BIOLOGIQUES PARCOURS CHARLES MÉRIEUX
	Secretion systems & effectors in bacterial infections <b>Barthez</b>	Virus d'insectes + Viral pathogenesis (SFV) <b>Sully 1</b>	La désinfection en 2022 (SF2H) <b>Sully 2</b>
10h00-10h15			Alternatives aux antimicrobiens conventionnels <b>Audit.</b>
10h15-11h00			Les mycobactéries non-tuberculeuses : pathogénèse et prévention <b>Sully 3</b>
11h00-11h45			
11h45-12h20			
12h30-12h35			
12h35-12h45			
12h45-14h00			
Pause café - Visite exposants - Posters <b>Antigo.</b>			
SESSION POSTERS 2 - Numéros impairs <b>Antigo.</b>			
Symposium <b>Audit.</b>			
Conférence plénière - <i>Graham Hatfull</i> <b>Audit.</b>			
Prestation de la Société Tunisienne de Microbiologie <b>Audit.</b>			
Annnonce des prix <b>Audit.</b>			
Déjeuner - Visite exposants - Posters <b>Antigo.</b>			
14h00-15h30	SP33 - MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE / PATHOGÉNIE	SP34 - T - AUTRE	SP35 - SÉCURITÉ ET SURETÉ BIOLOGIQUES PARCOURS CHARLES MÉRIEUX
	Epigenetics, RNA & infection <b>Barthez</b>	Nouveaux modèles pour l'étude de la physiopathologie des infections <b>Sully 3</b>	Diagnostic hors laboratoire : Nouveaux outils & SSB <b>Sully 2</b>
			Production de métabolites par fermentation (FFBiotech) <b>Ronde.</b>
			Antibactériens, antiviraux : nouvelles cibles, nouveaux inhibiteurs <b>Sully 1</b>
			Adaptation et persistance microbienne au cours des infections chroniques <b>Audit.</b>
Clôture du congrès			

## PROGRAMME - LUNDI 3 OCTOBRE

10:00-13:00	<b>3<sup>e</sup> Forum "Carrières en Microbiologie" pour les jeunes microbiologistes</b>	<i>Salle Rondelet - Niv. 2</i>
11:00-12:30	<b>Réunion des responsables de sections</b>	<i>Salle Barthez - Niv. 2</i>
12:30-13:30	<b>Accueil des participants</b>	<i>Espace Antigone - Niv. 2</i>

### CONFÉRENCE PLÉNIÈRE

13:30-14:15	<p><i>Modératrice : Céline Bressollette-Bodin</i></p> <p><b>• Réponse immunitaire et variants SARS-CoV-2</b> <i>Delphine Planas (Institut Pasteur, Paris)</i></p>	<i>Auditorium Pasteur - Niv. 1</i>
-------------	---	------------------------------------

### SESSIONS PLÉNIÈRES

14:15-15:45	<p><b>Audition Prix de thèse</b></p> <p><i>Modérateurs : Gérard Lina &amp; Sarah Dellière</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Décryptage des interactions bactériennes entre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> dans un contexte d'infection pulmonaire</b> <i>Laura Camus (Infection Biology, Interfaculty Institute of Microbiology and Infection Medicine (IMIT), Tübingen, Germany)</i></li> <li>• <b>Étude de la colibactine dans les infections urinaires</b> <i>Camille Chagneau (IRSD, Inserm, Toulouse, France)</i></li> <li>• <b>Étude polyphasique de <i>Xanthomonas hortorum</i> à l'ère de la génomique : focus sur <i>X. hortorum</i> pv. <i>vitians</i>, agent causal de la bactériose foliaire de la laitue</b> <i>Lucas Morinière (UMR 5557 Ecologie microbienne, Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France)</i></li> <li>• <b>Modèles d'infection de la plaie du pied chez le diabétique : approche <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> de la formation de biofilms de bactéries pathogènes seules ou en association</b> <i>Cassandra Pouget (Service de Microbiologie, CHU Nîmes, Nîmes, France)</i></li> <li>• <b>Impact de l'infection congénitale par le Cytomégalovirus humain sur la sécrétion de petites vésicules extracellulaires placentaires et conséquences sur le développement cérébral fœtal</b> <i>Mathilde Bergamelli (Centre Physiopathologie, Toulouse Purpan, France)</i></li> <li>• <b>Déterminismes environnementaux de la diffusion et de la survie des bacilles à Gram négatif commensaux et pathogènes dans les hydrosystèmes</b> <i>Charles Henriot (UMR 6249, Université de Bourgogne Franche-Comté, Besançon, France)</i></li> </ul>	<i>Auditorium Pasteur - Niv. 1</i>
-------------	--	------------------------------------

15:45-16:15	<p><b>Parole aux industriels</b></p> <p><i>Modérateur : Jean-Louis Herrmann</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>bioMérieux : MAESTRIA™, un middleware pour répondre aux nouveaux besoins des microbiologistes</b> <i>Samuel Tesson et Renan Legeas (bioMérieux)</i></li> <li>• <b>Alliance Bio Expertise / Molzym : Solutions de diagnostic moléculaire innovantes et flexibles pour l'identification large spectre de bactéries et de champignons</b> <i>Charline Sabin (Alliance Bio Expertise) et Laureen Ferchaud (Molzym)</i></li> </ul>	<i>Auditorium Pasteur - Niv. 1</i>
-------------	---	------------------------------------



... / ...



- Agilent : Des technologies simples et innovantes pour l'étude de vos micro-organismes

*Jérôme Darakdjian (Agilent Technologies)*

- BD : BD MAX, un partenaire performant, efficient et polyvalent tout au long du parcours diagnostic

*Emmanuelle Bensaude (BD Biosciences)*



16:15-17:00 **Pause café - Visite de l'exposition - Posters**

*Espace Antigone - Niv. 2*

### CONFÉRENCE PLÉNIÈRE

17:00-18:25 *Modérateur : Vincent Foulongne*

*Auditorium Pasteur - Niv. 1*

**Émergence et ré-émergence virale**

- Le cas du virus Ebola

*Martine Peeters (IRD, Montpellier)*

- Le cas Monkeypox virus

*Olivier Ferraris (CNR LE-Orthopoxvirus, Brétigny-sur-Orge)*

18:25-18:30 **Changement de salle**

### SESSIONS PARALLÈLES

18:30-20:00 **SP1 - Microbiologie fondamentale / Pathogénie** 

*Auditorium Pasteur - Niv. 1*

**Life on the inside: the intracellular lifestyle of pathogens**

*Chairs: Olivier Dussurget & Marie-Frédérique Lartigue*

- Deciphering the host nucleus subversion by HIV-1 to replicate

*Francesca Di Nunzio (Institut Pasteur, Paris)*

*Selected short oral presentations*

- New insights on the biogenesis of *Coxiella*-containing vacuoles revealed by phospholipid profiling

*Matteo Bonazzi (IRIM, CNRS, Montpellier, France)*

- Vacuolar or cytoplasmic lives - *Listeria* plays on both sides

*Alice Lebreton (IBENS, UMR CNRS 8197, Inserm 1024, Institut de biologie de l'ENS, Paris, France)*

- Reverting the mode of action of the mitochondrial  $F_0F_1$ -ATPase by *Legionella pneumophila* preserves its replication niche

*Pedro Escoll (Biologie des Bactéries Intracellulaires, Institut Pasteur, Paris, France)*

- *Staphylococcus aureus* perturbs the host cell SUMOylation response to promote intracellular survival

*Nadhuma Youssouf (LPHI, Université de Montpellier, Montpellier, France)*

18:30-20:00 **SP2 - Virologie**

*Salle Rondelet - Niv. 2*

**Impacts de la pandémie COVID-19**

*Modérateurs : Jérôme Le Goff & Gaëtan Ligat*

- Impact de la pandémie de Covid-19 sur l'épidémie de VRS

*Jean-Sébastien Casalegno (MCU-PH, Virologie, CHU, Lyon)*

*Communications orales courtes sélectionnées*

- Real-time quantitative epidemiology & modelling of an emerging infectious disease - a French retrospective on SARS-CoV-2

*Mircea T. Sofonea (MIVEGEC - UM, CNRS, IRD, Univ. de Montpellier, Montpellier, France)*

... / ...

- **Challenges of SARS-CoV2 serology in the context of the Omicron variant: implications in field surveys**  
*Martine Peeters (TransVIHMI, IRD, Montpellier, France)*
- **Association between the COVID-19 pandemic and pertussis in France using multiple nationwide data sources**  
*Soraya Matczak (Institut Pasteur, Paris, France)*
- **Emergences de rash rougeoleux chez les enfants en Guinée pendant l'épidémie COVID19 : confirmation moléculaire de la situation épidémique**  
*Pierre Roques (Unité de Virologie, Institut Pasteur de Guinée, Conakry, Guinée)*

18:30-20:00

**SP3-T - Innovations pédagogiques**Salle Sully 2 - Niv. 1**Innovations pédagogiques en microbiologie***Modérateurs : Mathilde Lescat & Michel Federighi*

- **Ma stratégie pédagogique face à la multiplicité des outils pédagogiques, lesquels choisir ?**  
*Hubert Javaux (Université Sorbonne - Nouvelle, Paris)*

*Communications orales courtes sélectionnées*

- **Évaluation du jeu BacteriUno en tant qu'outil pédagogique dans l'initiation à la bactériologie**  
*Julien Delmas (Service de Bactériologie, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France)*
- **MIKROS : le Cluedo® des micro-organismes !**  
*Sylvain Meyer (UMR INSERM 1092 : RESINFIT, Université de Limoges, Limoges, France)*

*Présentation de table de jeux**Communications orales courtes sélectionnées*

- **Soirée Serious game : Évaluation de l'impact pédagogique des jeux de société sur l'apprentissage des internes**  
*Valentine Berti (Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris, France)*
- **Utilisation de Labster, un outil de simulations en laboratoire virtuel, en enseignement de microbiologie. Retour d'expérience**  
*Maud Salmona (Virologie, Hôpital Saint Louis, APHP - Université Paris-Cité, Paris, France)*
- **Évaluation et comparaison de deux enseignements multidisciplinaires sur les antibiotiques reposant sur une forte participation des étudiants à la construction du contenu**  
*Matthieu Eveillard (Faculté de Santé - Département Pharmacie, Université d'Angers, Angers, France)*
- **TIACEscape : Investigation d'une Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC) en mode immersif**  
*Michel Federighi (HQSA, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France)*

18:30-20:00

**SP4 - Environnement**Salle Sully 1 - Niv. 1**Extremophiles et autres extravagances***Modérateurs : Yann Héchard & Camille Mangin*

- **Biogeography of bathyal and abyssal seafloor Bacteria and Archaea along a Mediterranean - Atlantic gradient**  
*Blandine Trouche (BEEP, unité mixte Université Brest, Ifremer, CNRS, Brest)*

*Communications orales courtes sélectionnées*

- **Les microorganismes magnétotactiques**  
*Caroline Monteil (BIAM, CEA, Saint-Paul-lez-Durance, France)*
- **Méthylation du mercure et impact des interactions microbiennes sur son cycle biogéochimique**  
*Diva Scuvee (Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, CNRS, IPREM UMR 5254, Pau, France)*

... / ...

- Les *Pseudomonas* fluorescents, une stratégie de bioremédiation des déchets amiantés  
Marion Lemare (BSC, CNRS UMR 7242, Illkirch-Graffenstaden, France)
- Evolution des bactéries électroactifs dans la bioremédiation électrochimique des sols contaminés avec des hydrocarbures pétroliers  
Azariel Ruiz-Valencia (Environmental Microbial Genomics Group, Laboratoire Ampère/Ecole Centrale de Lyon, Ecully, France)

18:30-20:00 **SP5 - Mycologie / Parasitologie**  Salle Sully 3 - Niv. 1

**Tropical parasitoses** (in association with SFP)

Chairs: Jean-Mathieu Bart & Laurence Lachaud

- Bilharziose uro-génitale en Corse du sud : histoire de l'endémisation d'une maladie tropicale dans le sud de l'Europe  
Jérôme Boissier (Université de Perpignan, Perpignan)
- The RNA-binding protein RBP33 dampens non-productive transcription in trypanosomes  
Antonio Estévez (CSIC/IPBLN Granada, Espagne)

*Selected short oral presentations*

- Epidemiological profile of intestinal protozoan infection in Dakar, Senegal: Results from hospital based survey  
Khadime Sylla (Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal)
- La maladie du sommeil éliminée d'ici 2030 ? Le point sur les grands défis qu'il reste à relever  
Jean-Mathieu Bart (UMR INTERTRYP (IRD/CIRAD), Montpellier, France et Programme National de Lutte contre la Trypanosomiase Humaine Africaine (PNLTHA), Conakry, Guinée)

18:30-20:00 **SP6-T - Microbiote** Salle Barthez - Niv. 2

**Microbiote**

Modérateurs : Jean-Philippe Lavigne & Corentine Alauzet

- Microbiote et plaies chroniques  
Catherine Dunyach-Remy (CHU de Nîmes, Nîmes)

*Communications orales courtes sélectionnées*

- Pressure ulcer and delay of healing: role of *Proteus mirabilis* and Gram positive anaerobic cocci  
Martin Fayolle (Laboratoire de Microbiologie et Hygiène Hospitalière, INSERM U 1047 VBIC, Nîmes, France)
- Exploring associations between the use of menstrual cups or tampons and the vaginal environment  
Nicolas Tessandier (CIRB, CNRS, Paris, France)
- Caractérisation du microbiote associé aux lieux de stockage de fruits et légumes frais chez le consommateur  
Damien Ballan (LUBEM, Université de Bretagne Occidentale, Plouzané, France)
- A short *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) bloom triggers major changes in the gut microbiota and holobiont's metabolome of the medaka fish (*Oryzias latipes*)  
Pierre Foucault (UMR7245 - Molécules de Communication et Adaptation des Micro-organismes, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, France)

20:00 **Apéritif dînatoire** Espace Antigone - Niv. 2

## PROGRAMME - MARDI 4 OCTOBRE

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

Espace Antigone - Niv. 2

## SESSIONS PARALLÈLES

08:30-10:00

**SP7 - Microbiologie fondamentale / Pathogénie** 

Auditorium Pasteur - Niv. 1

**Subversion of innate immunity by bacteria**

Chairs: Eric Oswald &amp; Carmen Buchrieser

- **When bacterial toxins met inflammasomes**  
Laurent Boyer (Université Côte-d'Azur, Nice)

*Selected short oral presentations*

- **Caspase-1 driven neutrophil pyroptosis and its role in host susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa***  
Karin Santoni (IPBS, CNRS, Toulouse, France)
- **Manipulation of intracellular microbial sensors by the stealth pathogen *Coxiella burnetii***  
Dylan Ruart (Molecular and cellular biology of bacterial infections, IRIM CNRS UMR9004, Université de Montpellier, Montpellier, France)
- **Impact of *Klebsiella pneumoniae* enterobactin on NLRP3 inflammasome activation in lung epithelial cells**  
Julien Verlaquet (Laboratoire microorganisme génome et environnement, Université Clermont Auvergne, Clermont ferrand, France)
- **Characterization of SepA and SigA, two serine proteases autotransporters of *Enterobacteriaceae* secreted by *Shigella***  
Lorine Debande (CNRS - UPR 9002, IBMC, Strasbourg, France)

08:30-10:00

**SP8 - Virologie**

Salle Rondelet - Niv. 2

**(Ré)-émergences virales**

Modérateurs : Nathalie Chazal &amp; Vincent Foulongne

- **Arboviruses: Emerging and Re-emerging Diseases**  
Julien Pompon (IRD, Montpellier)

*Communications orales courtes sélectionnées*

- **Innovative, fast and flexible magnetic field enhanced agglutination readout for both molecular and serological diagnostic of arbovirus infections**  
Chantal Fournier-Wirth (UMR Pathogénèse et Contrôle des Infections Chroniques et Emergentes, UMR Pathogénèse et Contrôle des Infections Chroniques et Emergentes, Montpellier, France)
- **Séroprévalence des arbovirus en République du Congo**  
Nanikaly Moyen (Laboratoire de bactériologie-Virologie, Université Marien Ngouabi/Faculté des Sciences de la Santé, Brazzaville, Congo-Brazzaville)
- **Bats in West and Central Africa are infected with a wide diversity of coronaviruses, including variants closely related to human coronaviruses, at high prevalences**  
Martine Peeters (TransVIHMI, Université de Montpellier, INSERM, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier, France)
- **Seroprevalence of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus among people living with HIV in Brazzaville, Congo and among blood donors in Bamako, Mali**  
Stéphane Marot (Virologie - UMR-S 1136, Sorbonne Université / Hopital Pitié-Salpêtrière, Paris, France)

- 08:30-10:00 **SP9 - Microbiologie des aliments** Salle Sully 2 - Niv. 1
- Hétérogénéité cellulaire : impact sur les risques microbiologiques des aliments ?**
- Modérateurs : Sabine Leroy & Mickaël Desvaux
- Contribution de l'hétérogénéité physiologique et cellulaire à l'hétérogénéité phénotypique de bactéries pathogènes alimentaires  
Mickaël Desvaux (INRAe, Clermont-Ferrand)
- Communications orales courtes sélectionnées*
- Spatial organization and phenotypic heterogeneity of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in model gel matrices  
Romain Briandet (MICALIS, INRAe, Jouy-en-Josas, France)
  - *Escherichia coli* O157:H7 exposée à des consortia microbiens alimentaires : quels impacts sur sa croissance cellulaire ?  
Valérie Stahl (Aerial, Illkirch, France)
  - Population genetic structure of *Listeria monocytogenes* strains isolated from salmon and trout products and in food plants in France  
Graziella Midelet (Anses, Boulogne-sur-Mer, France)
  - Hétérogénéité cellulaire : cas du variant monophasique de *Salmonella Typhimurium* 1,4,[5],12:i:- dans la filière avicole  
Emilie Esnault (HQPAP/Laboratoire Ploufragan-Plouzané-Niort, Anses, Ploufragan, France)
- 
- 08:30-10:00 **SP10 - Environnement** Salle Sully 1 - Niv. 1
- One health**
- Modérateurs : Julie Leloup & Cédric Delmon
- Régulations biotiques des populations de cyanobactéries lacustres toxigènes  
Sébastien Halary (UMR 7138 SAE, Paris)
- Communications orales courtes sélectionnées*
- Des concentrations sous-inhibitrices de gentamicine induisent des changements structuraux dans les intégrons de classe 1 dans l'environnement  
Concepcion Sanchez-Cid (Environmental Microbial Genomics, Laboratoire Ampère, École Centrale de Lyon, Ecully, France)
  - Comparaisons génomique et phénotypique de souches de *Pseudomonas aeruginosa* ST27 isolées des voies respiratoires et de l'environnement domestique d'un patient atteint de mucoviscidose  
Chloé Dupont (HSM, Univ. de Montpellier, CNRS, IRD, Montpellier, France)
  - Détection de *Legionella pneumophila* résistante aux macrolides dans un réseau d'ECS : rôle du WGS  
Ghislaine Descours (CNR des Légionelles, Hospices Civils de Lyon, Institut des Agents Infectieux, Lyon, France)
  - Extensive serosurvey for anti-Ebolavirus antibodies in bats from the West and Central Africa  
Maëliiss Champagne (TransVIHMI, University of Montpellier, INSERM, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier, France)
- 
- 08:30-10:00 **SP11 - Mycologie / Parasitologie** Salle Sully 3 - Niv. 1
- Environnement et risque fongique chez l'Homme** (en association avec la SFMM)
- Modérateurs : Nicolas Papon & Marie-Noëlle Rosso
- Conséquences collatérales des fongicides agricoles sur les levures pathogènes : une perspective de santé unique pour lutter contre la résistance aux azolés  
Florent Morio (CHU de Nantes, Nantes)
- ... / ...

- Diversité génétique de *Cryptococcus* : impact sur l'épidémiologie, la clinique et la résistance aux antifongiques

Sébastien Bertout (Université de Montpellier, Montpellier)

#### Communications orales courtes sélectionnées

- Mining BRC collections through the identification of gene family expansions  
Marie-Noëlle Rosso (Biodiversité et Biotechnologie Fongiques, INRAE, Aix-Marseille Univ., Marseille, France)
- Gene repertoires of the *Pneumocystis jirovecii* major surface antigen within infected patients from different geographical locations  
Caroline Meier (Institut de Microbiologie, Lausanne, Suisse)

08:30-10:00

### SP12 - Clinique

Salle Barthez - Niv. 2

#### Place de la métagénomique pour le diagnostic microbiologique

Modérateurs : Maxime Pichon & Corentine Alauzet

- Diagnostic microbiologique par métagénomique : recommandations du groupe MicMac  
Geneviève Hery-Arnaud (CHRU de Brest, Brest)

#### Communications orales courtes sélectionnées

- Internalisation de bactéries commensales du microbiote dans les cellules intestinales  
Robin Louail (UMR INSERM 1073 Nutrition, Inflammation et dysfonction de l'axe intestin-cerveau, Université de Rouen Normandie, Rouen, France)
- Evolution of gut microbiota, bacterial translocation and acute intestinal injury in patients admitted in intensive care unit for septic shock  
Chloé Magnan (Service de Microbiologie et Hygiène Hospitalière, CHU Nîmes, Nîmes, France)
- Détection de Mycobacterium dans le microbiote pulmonaire de patients atteints de la mucoviscidose par métaprotéomique  
Pauline Hardouin (LI2D, Université de Montpellier, Bagnols-sur-Cèze, France)
- Study of the effects of different ammonia sources on anaerobic digestion by time-course analysis and untargeted metabolomics  
Xiaoqing Wang (INRAE, Antony, France)

10:00-10:45

### Pause café - Visite de l'exposition - Posters

Espace Antigone - Niv. 2

#### CONFÉRENCE PLÉNIÈRE

10:45-11:30

Modératrice : Marielle Bouix

Auditorium Pasteur - Niv. 1

- MELiSSA : un écosystème simplifié pour les futures missions spatiales habitées  
Christel Paillé (ESA / ESTEC, Noordwijk, Hollande)




#### SESSION PLÉNIÈRE

11:30-12:20

#### Parole aux industriels

Auditorium Pasteur - Niv. 1

Modérateur : Gérard Lina

- BYG4lab® : Les bénéfices d'un système d'épidémiologie et d'hygiène centralisé  
Matthieu Mulot (Byg Informatique) 
- ThermoFisher Scientific : See your cells - Clone your cells - ThermoFisher Innovation  
Guerric Epron (Europe Thermo Fisher Scientific) 
- Interscience : Dénombrement automatisé, pour plus de données  
Mohamed Mehadji (Interscience) 

... / ...

- **Beckman Coulter** : Comment évaluer des populations microbiennes en utilisant le Biolector XT et la cytométrie en flux  
*Alban Gervais (Beckman Coulter France)*
- **Bruker** : Du nouveau en 2022 chez Bruker Microbiologie  
*Renaud Joly (Bruker)*
- **Smaltis** : Un projet collaboratif et innovant participant à la lutte mondiale contre l'antibiorésistance  
*Zofia Scibor, Clarisse Meneghel (Smaltis) et Régis Villet (Bioaster)*
- **SBI** : Non-Invasive Online Biomass Monitoring in Shake Flasks and Bioreactors  
*Julius Muno (Scientific Bioprocessing)*
- **Nosotech** : Votre partenaire en infectiovigilance et antibiogouvernance  
*Sarah Gosselin (Nosotech)*



## 12:20-12:25 **Changement de salle**

### SESSIONS PARALLÈLES

- 12:25-13:05 **SP13 - Session Histoire** Auditorium Pasteur - Niv. 1  
 Modérateurs : *Christophe Burucoa & Valentine Berti*
- **Louis Pasteur (1822-1895) : de la cristallographie à la biologie**  
*Michel Simonet (Verrières-le-Buisson)*

- 12:25-13:05 **SP14 - Session Prix poster Jeunes Microbiologistes** Salle Rondelet - Niv. 2  
 Modérateurs : *Sarah Dellière & Théo Ghelfenstein-Ferreira*
- Evaluation of viability of cells of *Listeria innocua* with Raman microspectroscopy after incorporation of heavy water (D<sub>2</sub>O)  
*Thomas Brauge - Laboratory for Food Safety, B3PA, ANSES, Boulogne-sur-Mer, France*
  - Deciphering the RNA targetome of SprF1 antitoxin to elucidate its role in *Staphylococcus aureus* antibiotic persistence - *Emeline Ostyn - U1230 BRM, INSERM-Université Rennes 1, Rennes, France*
  - Identification des récepteurs cellulaires et des ligands fongiques impliqués dans la synthèse d'IL-8 par les cellules épithéliales bronchiques infectées par *Aspergillus fumigatus*  
*Jeanne Bigot - U938, Inserm, CRSA, Paris, France*

- 13:05-14:30 **Déjeuner - Visite de l'exposition - Posters** Espace Antigone - Niv. 2


### SESSION PLÉNIÈRE

- 14:30-15:15 **SYMPOSIUM bioMérieux** Auditorium Pasteur - Niv. 1
- Place de l'approche syndromique BioFire dans la prise en charge des infections respiratoires**  
 Modérateur : *Frédéric Laurent*
- Le point de vue du microbiologiste - *Olivier Dauwalder (CHU de Lyon)*
  - Le point de vue du clinicien en réanimation pédiatrique - *Guillaume Geslain (CHU Robert Debré, Paris)*



## Changement de salle

### SESSIONS PARALLÈLES

- 15:15-16:45 **SP15 - Microbiologie fondamentale / Pathogénie**  Salle Barthez - Niv. 2
- Communication between Bacteria in Pathogenesis and Commensalism**  
 Chairs: *Eric Oswald & Typhaine Brual*
- Genetic bases of bacterial adaptation during the experimental evolution of a plant pathogen into a legume symbiont - *Delphine Capela (INRAE, Toulouse)* ... / ...

*Selected short oral presentations*

- **Disrupting bacterial quorum sensing with enzymes towards bacterial control**  
*Raphaël Billot (Gene&GreenTK, Marseille, France)*
- **Single-cell dynamics and persistence of *Legionella pneumophila***  
*Nicolas Personnic (Equipe PERSIST, Centre International de Recherche en Infectiologie, Villeurbanne, France)*
- **c-di-AMP signaling is required for osmotolerance and bile salt resistance in *Clostridioides difficile***  
*Johann Peltier (ARNCLO, I2BC, Gif-Sur-Yvette, France)*
- **Characterization of the molecular determinants and the consequences of intra and inter-species interactions of the atypical diderm Firmicute *Veillonella parvula***  
*Louis Dorison (UMR6047 / Genetic of Biofilms, Institut Pasteur, Paris, France)*

15:15-16:45

**SP16 - Virologie***Salle Sully 1 - Niv. 1***Stratégies antivirales : cibles cellulaires, antiviraux directs, anticorps monoclonaux***Modératrices : Sonia Burrel & Valentine Berti*

- **Polymérase, Methyltransférases et Exonucléases : les avantages d'un ménage à trois chez les virus à ARN**  
*Bruno Canard (AFMB Aix-Marseille, Marseille)*

*Communications orales courtes sélectionnées*

- **Inhibiteurs du transport membranaire cellulaire contre les virus respiratoires**  
*Adrien Le Rouzic (Unité de Virologie et Immunologie Moléculaires (VIM), INRAE, Jouy-en-Josas, France)*
- **Serum neutralization of SARS-CoV-2 Omicron BA.1, BA.2 and BA.5 in patients receiving monoclonal antibodies**  
*Timothée Bruel (Institut Pasteur, Paris, France)*
- **Des cribles CRISPR bidirectionnels à l'échelle du génome révèlent de nouveaux facteurs de l'hôte régulant la réplication de SARS-CoV-2, MERS-CoV et des coronavirus saisonniers HCoV**  
*Antoine Rebendenne (Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, Montpellier, France)*
- **Antiretroviral drugs effect against Equine Infectious Anemia Virus**  
*Cécile Schimmich (Laboratoire de Santé Animale, Unité PhEED, ANSES, Goustranville, France)*

15:15-16:45

**SP17 - Microbiologie des aliments***Salle Sully 2 - Niv. 1***Microbiologie des aliments : y'a comme des « ...iques »***Modérateurs : Michel Federighi & Agnès Ageorges*

- **L'apport et les hics des approches « iques » en science des aliments : exemple du projet ANR Redlosses**  
*Monique Zagorec (INRAE, Nantes)*

*Communications orales courtes sélectionnées*

- **Enterobacteria and lactic acid bacteria fight during spontaneous vegetable fermentation**  
*Anne Thierry (UMR1253 STLO, INRAE, Rennes, France)*
- **Microbiome engineering as a biopreservation approach to reduce *Listeria monocytogenes* in food**  
*Frédéric Borges (LIBio, Université de Lorraine, Vandœuvre, France)*
- **Mango Microbiota: From the Orchard to the Plate**  
*Jean-Christophe Meile (UMR QUALISUD, CIRAD, Montpellier, France)*



- 15:15-16:45 **SP18 - Environnement** Salle Rondelet - Niv. 2  
**Interactions microbiennes dans l'environnement** (en association avec l'AFEM)  
*Modérateurs : Julie Leloup & Yannick Gueguen*
- **Évolution des interactions plantes-microorganismes et sélection artificielle de microbiotes**  
*Manuel Blouin (AgroSup - Université de Bourgogne, Dijon)*
- Communications orales courtes sélectionnées*
- **Top-down effects on bacterial carbon metabolism: A case study from lakes of French Massif Central**  
*Pradeep Ram Angia Sriram (Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement (LMGE), UMR CNRS 6023, CNRS, Aubière, France)*
  - **Pattern and causes of the establishment of the invasive bacterial potato pathogen *Dickeya solani***  
*Denis Faure (I2BC, Univ. Paris-Saclay-CNRS-CEA, Gif-sur-Yvette, France)*
  - **Abortive infection and defensive symbiosis - novel defense strategies against giant viruses**  
*Vincent Delafont (UMR CNRS Ecologie et Biologie des Interactions, Univ. de Poitiers, Poitiers, France)*
  - **Seasonal monitoring reveals concomitant and rapid changes of bacterioplankton and phytoplankton communities**  
*Julie Leloup (iEES-Paris, Sorbonne Université, Paris, France)*
- 
- 15:15-16:45 **SP19 - Antimicrobiens** Auditorium Pasteur - Niv. 1  
**Diffusion de la résistance**  
*Modératrices : Marie-Frédérique Lartigue & Mathilde Lescat*
- **Data-driven modeling to understand the evolutionary dynamics of ESBL resistance in *E. coli* over the last decade**  
*Olivier Cotto (INRAe)*
- Communications orales courtes sélectionnées*
- **Replication of the Salmonella Genomic Island 1 (SGI1) triggered by helper IncC conjugative plasmids promotes incompatibility and plasmid loss**  
*Kévin Huguet (CIRI -ENS Lyon, Université de Lyon 1, Villeurbanne, France)*
  - **Interbacterial transfer of large antibiotic resistance islands by natural transformation in *Acinetobacter baumannii***  
*Maria-Halima Laaberki (HORIGENE, VetAgro Sup/CIRI (U1111), Villeurbanne, France)*
  - **ST38 *E. coli* evolution in response to the natural conjugative plasmids carrying the carbapenemase gene blaOXA 48**  
*Pengdbamba Dieudonné Zongo (EERA, Institut Pasteur, Paris, France)*
  - **La D-alanylation de la surface de *Clostridioides difficile* permet une résistance accrue aux antibiotiques**  
*Pierre-Alexandre Lacotte (Equipe BaPS, Institut MICALIS, Univ. Paris-Saclay, Chatenay-Malabry, France)*
- 
- 15:15-16:45 **SP20 - Clinique** Salle Sully 3 - Niv. 1  
**Le flacon pour hémoculture dans tous ses états** (en association avec le Col.BVH)  
*Modérateurs : Sophie Jarraud & Christian Cattoen*
- **Restitution de l'observatoire national des bactériémies**  
*Christian Cattoen (Centre Hospitalier, Valenciennes)*
  - **Nouvelles approches de prise en charge rapide des bactériémies**  
*Brigitte Lamy (CHU, Nice)*

... / ...

*Communications orales courtes sélectionnées*

- **Le flacon d'hémoculture intelligent : détection multiparamétrique des métabolites pour une identification sans a priori**  
*Thibaut Cohu (LETI / DTBS, Univ. Grenoble-Alpes - CEA, Grenoble, France)*
- **Use of peptide microarrays for the early detection of pathogens during hemoculture: validation with *Staphylococcus aureus***  
*Loïc Leroy (SyMMES, UMR 5819, CNRS-CEA-Univ. Grenoble Alpes, Grenoble, France)*

16:45-17:15 **Pause café - Visite de l'exposition - Posters** *Espace Antigone - Niv. 2*

17:15-18:00 **SESSION POSTERS 1 - Numéros pairs** *Espace Antigone - Niv. 2*

Modérateur : *Olivier Dussurget*

## SESSIONS PARALLÈLES

18:00-19:30 **SP21 - Microbiologie fondamentale / Pathogénie**  *Salle Barthez - Niv. 2*

### **Persistence and Tolerance**

*Chairs: Laurent Kremer & Maxime Pichon*

- **Intrabacterial lipid inclusions: their role in the survival and persistence of pathogenic mycobacteria**  
*Stéphane Canaan (LISM, CNRS, Marseille)*
- **TisB toxin-induced tolerance to antibiotics in *Escherichia coli***  
*Ivan Matic (Institut Cochin, Paris)*

#### *Selected short oral presentations*

- ***Mycobacterium tuberculosis* genetic features associated with pulmonary tuberculosis severity**  
*Charlotte Genestet (CIRI - Centre International de Recherche en Infectiologie, Lyon, France)*
- **Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* and its interaction with *Staphylococcus aureus* in Cystic Fibrosis patients**  
*Karen Moreau (Pathogénie des Staphylocoques, CIRI, Lyon, France)*

18:00-19:30 **SP22 - Virologie** *Salle Sully 1 - Niv. 1*


### **Infections virales de l'immunodéprimé**

*Modérateurs : Céline Bressollette-Bodin & Jérôme Le Goff*

- **Apport du suivi immunologique pour le traitement des infections à CMV**  
*Sophie Alain (CNR Herpèsvirus CMV, CHU, Limoges)*

#### *Communications orales courtes sélectionnées*

- **Torquetenovirus viral load predicts SARS-CoV-2 vaccine response in kidney transplant recipients**  
*Morgane Solis (Laboratoire de Virologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France)*
- **Infection à adénovirus F41 et cytolysse hépatique chez des adultes greffés de cellules souches hématopoïétiques**  
*Maud Salmona (Virologie, Hôpital Saint-Louis APHP, Paris, France)*
- **A new immunosuppressed pig model to study chronic Hepatitis E infection and the genetic viral diversity**  
*Nancy León-Janampa (Université de Tours, INSERM U1259, Tours, France)*
- **Surveillance de la résistance des virus herpes simplex et du virus de la varicelle et du zona aux antiviraux sur une période de 14 ans**  
*David Boutolleau (Service de Virologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, CNR Herpèsvirus HSV, Paris, France)*

- 18:00-19:30 **SP23 - Microbiologie des aliments**  *Salle Sully 2 - Niv. 1*
- Food, yeast and mold: the good and the bad**  
*Chairs: Sabine Galindo & Monika Coton*
- The multiple facets of food associated molds  
*Monika Coton (Université de Brest, Brest)*
- Selected short oral presentations*
- Impact of biotic and abiotic factors on the efficacy of antifungal biocides used in the dairy industry  
*Emmanuel Coton (LUBEM UR 3882 USC INRAe, Université de Bretagne Occidentale, Plouzané, France)*
  - Contamination de pommes par *Penicillium expansum* et la patuline : points critiques, écosystèmes microbiens et biocontrôle par des levures  
*Sabine Schorr-Galindo (UMR Qualisud, Université de Montpellier, Montpellier, France)*
  - Interactions entre levures œnologiques : association d'effets entre souches et espèces  
*Eléonore Pourcelot (SPO, Univ Montpellier, INRAe, Institut Agro, Montpellier, France)*
  - Injera et Ochratoxine A : réduction du risque par des bactéries lactiques  
*Christele Humblot (QualiSud, IRD, Montpellier, France)*
- 
- 18:00-19:30 **SP24 - Biotechnologies microbiennes** *Salle Rondelet - Niv. 2*
- Comprendre, sélectionner et exploiter les microbiotes pour les biotechnologies environnementales**  
*Modérateurs : Théodore Bouchez & Olivier Chapleur*
- Vers une meilleure compréhension de la digestion anaérobie par une combinaison d'approches méta-omiques et biostatistiques  
*Olivier Chapleur (INRAe, PROSE, Antony)*
- Communications orales courtes sélectionnées*
- Effet de fluctuations de la concentration en ammonium sur le microbiome de laméthanisation : approche métatranscriptomique  
*Patricia Bonin (UM 110 CNRS/IRD, Aix Marseille Univ., Mediterranean Institute of Oceanography (MIO), Marseille, France)*
  - Characterization of virus-host dynamics in anaerobic digesters under abiotic stress  
*Marion Coves (PROSE, INRAe, Antony, France)*
  - Effet de la source de carbone et du niveau de limitation de P sur la sélection microbienne de surproducteurs de Polyhydroxybutyrate dans des cultures continues ouvertes  
*Etienne Paul (Toulouse Biotechnology Institute, INSA Toulouse, Toulouse, France)*
  - Enrichissement de bactéries chimiolithotrophes du sol pour la fixation biologique de l'azote sur une biocathode  
*Axel Rous (LBE, Univ Montpellier, INRAe, Narbonne, France)*
- 
- 18:00-19:30 **SP25 - Antimicrobiens** *Auditorium Pasteur - Niv. 1*
- Lutte contre l'antibio-résistance : Stratégies innovantes de criblage et nouvelles molécules**  
*Modérateurs : Mathilde Lescat & Jean-Maxime Devaux*
- Structure-function studies and screening for efflux pumps inhibitors after their reconstitution of in biomimetic systems  
*Martin Picard (CNRS / Université Paris-Diderot, Paris)*
- Communications orales courtes sélectionnées*
- Nouvelle approche pour lutter contre les résistances bactériennes  
*Miyanou Rosales-Hurtado (Institut de Biomolécules Max Mousseron, Montpellier, France)*

... / ...

- **1,2,4-Triazole-3-thione compounds potently inhibit VIM and NDM-1 metallo-beta-lactamases and re-sensitize multi-resistant clinical isolates to meropenem**  
*Jean-François Hernandez (Institut des Biomolécules Max Mousseron, Université Montpellier, CNRS, ENSCM, Montpellier, France)*
- **Le cluster de biosynthèse de l'antibiotique odilorhabdine et le locus d'auto-résistance codant l'acétyl-transférase OatA sont spécifiques à une niche et aux bactéries productrices**  
*Anne Lanois (DGIMI UMR1333 UM-INRAE, INRAE, Montpellier, France)*
- **Est-ce que les pharmacopées anciennes peuvent être utiles à la recherche de stratégies anti-infectieuses ?**  
*Pierre Fechter (UMR7242, CNRS - Université de Strasbourg, Illkirch, France)*

18:00-19:30

**SP26 - Clinique**Salle Sully 3 - Niv. 1**Infections d'origine animale et environnementale***Modérateurs : Hélène Marchandin & Christophe Burucoa*• **Actualités sur la Brucellose***Jean-Philippe Lavigne (CHU de Nîmes, Nîmes)**Communications orales courtes sélectionnées*• **Case presentation and management of Lyme disease patients: a retrospective analysis in France during 9 years***Valérie Choumet (Environnement et Risques Infectieux, Institut Pasteur, Paris, France)*• **Clinical and bacterial determinants of *Yersinia pestis* bacteremia***Pierre Lê-Bury (Unité de Recherche Yersinia, Institut Pasteur, Université Paris Cité, CNRS UMR6047, Paris, France)*• **La charge en ADN et en LPS sérique de *Legionella* et le profil cytokinique comme potentiels biomarqueurs pronostics des légionelloses***Sophie Jarraud (CNR des Légionelles, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France)*

19:30

**Cocktail dînatoire du congrès**Espace Antigone - Niv. 2

## PROGRAMME - MERCREDI 5 OCTOBRE

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

Espace Antigone - Niv. 2

## SESSIONS PARALLÈLES

08:30-10:00

**SP27 - Microbiologie fondamentale / Pathogénie** 

Salle Barthez - Niv. 2

**Secretion systems & effectors in bacterial infections**

Chairs: Olivier Neyrolles &amp; Sophie Jarraud

- The type III secretion system effector network postulates

Gad Frankel (Imperial Collège of London, Londres, UK)

*Selected short oral presentations*

- Type IV pilus retraction plays a key role in meningococcal pathogenesis by regulating endothelial microparticle release  
Isabel dos Santos Souza Ribeiro Gomes (Institut Cochin, Paris, France)
- Insights into the structure and the mechanism of action of two type I toxins expressed by *Staphylococcus aureus*  
Laurence Fermon (Université Rennes 1, Rennes, France)
- Oxygen inhibits colibactin production by *Escherichia coli*  
Nadège Greif (Institut de Recherche en Santé Digestive, INSERM Toulouse, Toulouse, France)

08:30-10:00

**SP28 - Virologie**

Salle Sully 1 - Niv. 1

**SP28-A - Virus d'insectes** (en association avec la SFV)

Modérateurs : Nathalie Chazal &amp; Gaëtan Ligat

- Les densovirus, de petits virus entomopathogènes, agents potentiels de biocontrôle des insectes ravageurs et vecteurs de maladies  
Anne-Sophie Gosselin-Grenet (Université de Montpellier, Montpellier)
- Virus associés à des insectes ravageurs de cultures : diversité et écologie des communautés  
Sarah François (University of Oxford, UK)

**SP28-B - Viral pathogenesis** 

Chairs: Nathalie Chazal &amp; Gaëtan Ligat

*Selected short oral presentations*

- Human NLRP1 is a sensor of pathogenic coronavirus 3CL proteases in lung epithelial cells  
Miriam Pinilla (IPBS-CNRS, Toulouse, France)
- A case of convergent evolution: Several viral and bacterial pathogens hijack RSK kinases through a common linear motif  
Nicolas Capelli (Virology Unit (VIRO), DeDuve Institute, Univ. Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique)
- Deciphering HIV post-nuclear entry steps  
Francesca Di Nunzio (Advanced Molecular Virology, Institut Pasteur, Paris, France)
- Impact de l'épissage de l'ARNm bicistronique E6E7 sur l'initiation de la traduction de l'oncoprotéine E7 des HPV oncogènes type 16 et 18  
Philippe Paget-Bailly (MIVEGEC, Virostyle, CNRS, IRD, Montpellier, France)

- 08:30-10:00 **SP29 - Sécurité et Sureté biologiques Parcours Charles Mérieux** Salle Sully 2 - Niv. 1
- La désinfection en 2022** (en association avec la SF2H)  
*Modérateurs : Brigitte Lamy & Sébastien Allix*
- **Le rationnel pour une évaluation rapide d'efficacité virucide en contexte d'émergence/ ré-émergence de maladies virales**  
*Christine Roques (LGC - UMR 5503 - UFR Pharmacie, Toulouse)*
  - **Optimisation des procédures de désinfection pour réduire le gaspillage alimentaire lié au développement de moisissures**  
*Aurélien Hanin (Actalia, Saint-Lô)*
- Communications orales courtes sélectionnées*
- **The potential of cold atmospheric plasma technology in the reduction of horizontal genes transfer (HGT)**  
*Ibtissam Courti (DPHE, INU J.-F. Champollion, Albi, France)*
  - **Validation of the biocidal capacity to destroy antibiotic resistant plasmids by qPCR**  
*Suzanne Loret (SerP, Université de Namur (UNamur), Namur, Belgique)*
- 
- 08:30-10:00 **SP30 - Biotechnologies microbiennes** Salle Rondelet - Niv. 2
- Interfacer des microbes et des circuits électriques : nouvelles technologies électromicrobiennes**  
*Modérateurs : Elie Le Quémener & Benjamin Erable*
- **Investigation macro et micro échelle de la dynamique structurale et catalytique des biofilms microbiens électroactifs**  
*Benjamin Erable (CNRS-LGC, Toulouse)*
- Communications orales courtes sélectionnées*
- **Halothermophilic microbial consortium selected for the bioelectrochemical treatment of saline textile effluents containing recalcitrant azo dyes**  
*Sirine Saadaoui (Laboratoire de génie chimique de Toulouse, Université de Toulouse, CNRS, INPT, UPS, Toulouse, France)*
  - **Impact de la stratégie d'inoculation microbienne sur les performances long-terme de traitement d'eaux résiduaires urbaines par des systèmes bioélectrochimiques**  
*Valentin Larzilliere (BRS, SUEZ, Le Vesinet, France)*
  - **Performances de biofilms électromicrobiens pour l'abattement de la matière organique des eaux résiduaires en conditions hydrodynamiques contrôlées**  
*Florent Bouchon (PROSE, INRAe, Antony, France)*
  - **Improvement of microbial electrosynthesis by pure homoacetogens using a low redox potential mediator**  
*María Fernanda Pérez Bernal (LBE, Univ. de Montpellier, INRAe, Narbonne, France)*
- 
- 08:30-10:00 **SP31 - Antimicrobiens** Auditorium Pasteur - Niv. 1
- Alternatives aux antimicrobiens conventionnels**  
*Modérateurs : Frédéric Laurent & Mathilde Lescat*
- **Compréhension des phénomènes évolutifs phages/bactéries et phagothérapie 2.0**  
*Camille Kolenda (Hospices Civils de Lyon, Lyon)*
- Communications orales courtes sélectionnées*
- **La guerre bactérienne à longue distance : lyse par voie aérienne de *Legionella pneumophila* par *Pseudomonas fluorescens***  
*Julien Verdon (Ecologie & Biologie des Interactions (EBI) UMR 7267, Univ. de Poitiers, Poitiers, France)*

... / ...

- **PHAGEinLYON - PHAG-ONE** : Isolement et caractérisation de phages actifs contre des souches d'*E. coli* du ST131 productrices de carbapénèmes et/ou de BLSE  
*Floriane Laumay (Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France)*
- **La matière noire microbienne pour lutter contre l'antibiorésistance**  
*Sophie Kypraios (Bio Banking, DEINOVE, Grabels, France)*
- **Potentiel des microcines, bactériocines des entérobactéries, en tant qu'alternatives aux antibiotiques**  
*Séverine Zirah (Unité MCAM UMR 7245 CNRS-MNHN, Paris, France)*

08:30-10:00

**SP32 - Clinique**Salle Sully 3 - Niv. 1**Les mycobactéries non-tuberculeuses : pathogénèse et prévention**

Modérateurs : Jean-Louis Herrmann &amp; Genevière Héry-Arnaud

- ***Mycobacterium abscessus* : pathogénèse et traitements dans le modèle zebrafish**  
*Laurent Kremer (CNRS - UMR 9004, Montpellier)*

Communications orales courtes sélectionnées

- **Disruption of membrane microdomains increases resistance to *Mycobacterium marinum* infection**  
*Angélique Perret (Biochemistry, University of Geneva, Geneva, Switzerland)*
- ***Mycobacterium genavense* in France : An observational multicentric study over the last decade**  
*Cécile Le Brun (Bactériologie, CHU de Tours - Hôpital Bretonneau, Tours, France)*
- **Épidémie de bactériémies à *Mycolicibacterium mucogenicum* : Recherche d'un potentiel réservoir dans le réseau d'eau d'un Centre Hospitalo-Universitaire**  
*Jérôme Ory (Service de microbiologie et hygiène hospitalière, CHU Nîmes, Nîmes, France)*
- **Étude des risques d'exposition à *Mycobacterium ulcerans* dans les espaces de vie quotidiens au sud du Bénin**  
*Alexandra Boccarossa (INCIT - ATOMyCA, Inserm, Angers, France)*

10:00-10:15

**Pause café - Visite de l'exposition - Posters**Espace Antigone - Niv. 2

10:15-11:00

**SESSION POSTERS 2 - Numéros impairs**Espace Antigone - Niv. 2

Modérateur : Olivier Dussurget

**SESSION PLÉNIÈRE**

11:00-11:45

**Symposium**Auditorium Pasteur - Niv. 1**Observatoire sur le déploiement d'automates de biologie moléculaire rapide COVID-19 en France**

Modérateur : David Boutolleau

- **Présentation des résultats de l'enquête**  
*Sonia Burrel (CHU, UFR Médecine, Bordeaux)*

11:45-12:20

**Conférence plénière**Auditorium Pasteur - Niv. 1

Chair: Laurent Kremer

- **From Petri Dish to Patient: Mycobacteriophages and Their Therapeutic Potential**  
*Graham Hatfull (Pittsburgh, USA)*

12:20-12:35

**Prestation de la Société Tunisienne de Microbiologie**Auditorium Pasteur - Niv. 1

- *Meriam Zribi (Tunisie)*


12:35-12:45

**Annnonce des prix**Auditorium Pasteur - Niv. 1

12:45-14:00

**Déjeuner - Visite de l'exposition - Posters**Espace Antigone - Niv. 2

## SESSIONS PARALLÈLES

- 14:00-15:30 **SP33 - Microbiologie fondamentale / Pathogénie**  Salle Barthez - Niv. 2
- Epigenetics, RNA & infection**  
Chairs: Carmen Buchrieser & Grégoire Pasquier
- **Chemical targeting the Epigenetics to fight AMR: a promise and a difficult challenge**  
Paola Arimondo (Institut Pasteur, Paris)
- Selected short oral presentations*
- **RNA-RNA network in the regulation of *Staphylococcus aureus* metabolism and virulence**  
Isabelle Caldelari (UPR9002, CNRS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France)
  - ***Brucella* targeting of nuclear dynamics**  
Amandine Blanco (MMSB / UMR5086, CNRS - Université Lyon I, Lyon, France)
  - **Mécanisme moléculaire de H3K4me2, une modification d'histone induite par *Streptococcus pneumoniae***  
Justine Matheau (Unité Chromatine et Infection, Département de Biologie Cellulaire et Infection, Institut Pasteur, Paris, France)
  - ***Staphylococcus aureus* induces DNA damage in host cell**  
Nadia Berkova (UMR 1253 STLO, Laboratoire de microbiologie, INRAe, Rennes, France)
- 
- 14:00-15:30 **SP34-T - Autre** Salle Sully 3 - Niv. 1
- Nouveaux modèles pour l'étude de la physiopathologie des infections**  
Modérateurs : Nathalie Chazal & Mathieu Lepas
- **Using organoids to decipher the molecular mechanisms underlying viral neuroinfections**  
Raphaël Gaudin (IRIM, CNRS, Montpellier)
- Communications orales courtes sélectionnées*
- **A Zebrafish model of persistent *Salmonella* infection reveals dynamic changes of macrophage polarization**  
Jade Leiba (LPHI, CNRS, Université Montpellier, Montpellier, France)
  - **Le système de recombinaison phagique <sup>mvaI</sup>Int/attP : vers un outil reprogrammable d'ingénierie des génomes bactériens ?**  
Kevin Debatisse (Toulouse Biotechnology Institute, INSA, Toulouse, France métropolitaine)
  - **Infection congénitale par le hCMV : impact sur la composition des petites vésicules extracellulaires placentaires et conséquences sur les cellules fœtales**  
Charlène Martin (Institut Toulousain des Maladies Infectieuses et Inflammatoires (Infinity), Toulouse, France)
  - **Réplication de sapovirus humains dans le modèle entéroïde intestinal**  
Gabriel Euller-Nicolas (MASAE/LSEM, IFREMER, Nantes, France)
- 
- 14:00-15:30 **SP35 - Sécurité et Sureté biologiques Parcours Charles Mérieux** Salle Sully 2 - Niv. 1
- Diagnostic hors laboratoire : Nouveaux outils & SSB**  
Modérateurs : Sébastien Allix & Camille Cordier
- **Diagnostic biologique délocalisé et SSB : de la Maladie à virus Ebola à la COVID-19**  
Audrey Merens (Hôpital d'Instruction des Armées BEGIN, Saint-Mandé)
  - **Impact du diagnostic rapide des virus respiratoires**  
Jérôme Le Goff (APHP, Paris)

... / ...



*Communications orales courtes sélectionnées*

- Initiatives récentes pour le déploiement de laboratoires mobiles  
*Christophe Batejat (Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence, Institut Pasteur, Paris, France)*
- Automated and combined HIV, HBV, HCV, and syphilis testing among illegal gold miners in French Guiana using a standardized dried blood device  
*Edouard Tuillon (Pathogenesis & Control of Chronic and Emerging Infections, Université de Montpellier, Montpellier, France)*

14:00-15:30

**SP36 - Biotechnologies microbiennes***Salle Rondelet - Niv. 2***Production de métabolites par fermentation** (en association avec la FFBiotech)*Modérateur : Marielle Bouix & Jean-Luc Simon*

- Production efficace d'acide 3-hydroxypropionique par une cascade de conversion mettant en œuvre des bactéries lactiques puis des bactéries acétiques en bioréacteurs  
*Claire Saulou-Bérion (INRAe, Thiverval-Grignon)*
- Augmentation de 28% de la productivité industrielle de la pénicilline, en améliorant le transfert d'oxygène dans un réacteur de 200 m<sup>3</sup>, grâce à une modification morphologique de la souche productrice  
*Jean-Luc Simon (FFBiotech, Marœuil)*

*Communications orales courtes sélectionnées*

- Valorization of lignocellulose by microbial processes into high-value added molecules  
*Ludovic Besaury (Université de Reims Champagne Ardenne, INRAe, FARE, UMR A 614, chaire AFERE, Reims, France)*
- Enrichissement d'une culture microbienne mixte pour la valorisation CO<sub>2</sub> en acétate  
*Léa Laguillaumie (TBI, INRAe, Toulouse, France)*

14:00-15:30

**SP37 - Antimicrobiens***Salle Sully 1 - Niv. 1***Antibactériens, antiviraux : nouvelles cibles, nouveaux inhibiteurs***Modérateurs : Jean-Louis Herrmann & Céline Bressollette-Bodin*

- Targeting the electron transport chain: a new paradigm in Antimycobacterial Drug Discovery  
*Baptiste Villemagne (Université de Lille, Lille)*
- Antiviraux de nouvelle génération ciblant l'import nucléaire du VIH  
*Nathalie Arhel (IRIM, CNRS, Montpellier)*

*Communications orales courtes sélectionnées*

- Utilisation de vésicules membranaires produites par *Lactocaseibacillus casei* pour prévenir la formation de biofilms de *Salmonella* Enteritidis  
*David da Silva Barreira (UMR PAM, Université de Bourgogne, Dijon, France)*
- Container material dictates stability of bacteriophage suspensions: Light scattering and infectivity measurements reveal mechanisms of infectious titre decay  
*Pierre Marcoux (LETI/DTBS, CEA, Grenoble, France)*

14:00-15:30

**SP38 - Clinique***Auditorium Pasteur - Niv. 1***Adaptation et persistance microbienne au cours des infections chroniques***Modérateurs : Jean-Philippe Lavigne & Brigitte Lamy*

- Capacités adaptatives des pathogènes opportunistes d'origine environnementale et persistance au cours de la mucoviscidose  
*Hélène Marchandin (CHU de Nîmes, Nîmes)*

... / ...

*Communications orales courtes sélectionnées*

- **Within-host microevolution of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii***  
*Léa Bednarczuk (Equipe Transferts horizontaux de gènes et bactéries pathogènes, Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Villeurbanne, France)*
- **Caractérisation des persisters intracellulaires de *Staphylococcus aureus* : Ressuscitation, Localisation et *Small Colony Variants***  
*Florian C. Marro (Evotec ID Lyon, In Vitro Biology, Infectious Diseases and Antibacterials Unit, Lyon, France)*
- ***Staphylococcus aureus* biofilm in *in vitro* bone microenvironment model**  
*Fany Reffuveille (EA 4691 BIOS, Université de Reims Champagne Ardenne, Reims, France)*
- **Vaccine-escape evolution of *Bordetella parapertussis***  
*Valérie Bouchez (Unité Biodiversité et Epidémiologie des bactéries pathogènes, Institut Pasteur - Université Paris Cité, Paris, France)*

**Clôture du congrès**



Société Française  
de Microbiologie

# MICROBES 2022

17<sup>e</sup> Congrès National de la SFM



Au CORUM de **MONTPELLIER**

**3 > 5**  
Octobre

## RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS

Lundi 3 octobre

## Conférence plénière

### Réponse immunitaire et variants SARS-CoV-2

Delphine Planas<sup>1</sup> (delphine.planas@pasteur.fr), Isabelle Staropoli<sup>1</sup>, Florence Guivel-Benhasinne<sup>1</sup>, Françoise Porrot<sup>1</sup>, David Veyer<sup>2</sup>, Hélène Péré<sup>2</sup>, Benjamin Terrier<sup>3</sup>, Jérôme Hadjajd<sup>3</sup>, Mathieu Hubert<sup>1</sup>, Pedro Goncalves<sup>4</sup>, James DiSanto<sup>4</sup>, Etienne Simon-Loriere<sup>4</sup>, Laurent Hocqueloux<sup>5</sup>, Thierry Prazuck<sup>5</sup>, Timothée Bruel<sup>1</sup>, Olivier Schwartz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Virus et Immunité, Institut Pasteur, Paris, France*

<sup>2</sup> *Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France*

<sup>3</sup> *Hôpital Cochin, Paris, France*

<sup>4</sup> *Institut Pasteur, Paris, France*

<sup>5</sup> *CHR Orléans, Orléans, France*

La propagation pandémique du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère de type 2 (SARS-CoV-2) a provoqué l'apparition de nombreuses mutations dans le génome viral. De nouvelles souches, appelées « variants », créent des vagues épidémiques successives, car elles présentent une transmissibilité accrue et/ou un échappement partiel à la réponse immunitaire. Ce phénomène culmine fin 2021, avec l'émergence d'Omicron, un variant extrêmement contagieux et très peu sensible aux vaccins, qui provoque un raz-de-marée d'infection. Il comprend 5 sous-lignées principales (BA.1, BA.2, BA.3, BA.4 et BA.5) La lignée Omicron est caractérisée par la présence de 30 mutations dans la protéine spike (S), la plupart dans des « sites de vulnérabilités », cibles des anticorps neutralisants produits après vaccination ou infection et présente un fort échappement au système immunitaire. Des caractéristiques pathologiques et virologiques le distinguent également des variants antérieurs.

Nous caractérisons l'échappement immunitaire des variants en étudiant leur sensibilité aux anticorps provenant de personnes vaccinées ou convalescentes de la COVID-19. Nous évaluons la durée de la réponse des anticorps neutralisants, jusqu'à 18 mois après la vaccination par Pfizer BNT162b2, chez des individus avec ou sans breakthrough infection par Omicron.

Par ailleurs, nous étudions les composants de l'immunité mucoale nasale et les réponses inflammatoires précoces dans une cohorte de 218 personnes infectées par les variants Delta ou Omicron. Nous évaluons et comparons la charge virale infectieuse et les réponses immunologiques adaptatives (anticorps anti-SARS-CoV-2) et innées (IFN-I et autres cytokines) induites après infection.

Cette caractérisation virologique et immunologique permet de mieux comprendre l'évolution des variants de SARS-CoV-2 d'adapter les approches thérapeutiques et vaccinales.

**Mots clés :** SARS-CoV-2 - Réponse immunitaire - Anticorps.

**Audition Prix de thèse****Décryptage des interactions bactériennes entre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* dans un contexte d'infection pulmonaire**

Laura Camus (laura.camus@uni-tuebingen.de)

*Infection Biology, Interfaculty Institute of Microbiology and Infection Medicine (IMIT), Tübingen, Germany*

Les patients atteints de mucoviscidose souffrent d'infections pulmonaires polymicrobiennes dont les principaux agents d'intérêt clinique sont *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces deux bactéries co-infectent jusqu'à 40% des patients et sont capables, dans ces conditions, d'interagir de deux façons différentes. Les souches d'infection précoce de *P. aeruginosa* sont dans un état de compétition avec *S. aureus*, alors que les souches d'infection chronique sont capables de coexister. Ce dernier état reste peu décrit mais pourrait favoriser la persistance des deux pathogènes dans les poumons des patients. Nous cherchons donc à comprendre les mécanismes de cet état de coexistence par l'étude de souches cliniques.

Nous avons tout d'abord étudié l'impact de la coexistence sur la physiologie bactérienne de *P. aeruginosa* par une approche transcriptomique, et avons mis en évidence une coopération trophique entre les deux espèces. La production d'acétoïne par *S. aureus* et le catabolisme de cette molécule par *P. aeruginosa* favorisent ainsi la survie des deux pathogènes.

Parallèlement à cela, nous avons étudié les facteurs génétiques de *P. aeruginosa* impliqués dans l'établissement et le maintien de la coexistence avec *S. aureus*. Différentes approches ont été utilisées : (i) le séquençage de souches isolées de patients présentant différents états d'interaction ; (ii) l'établissement d'un protocole d'évolution expérimentale *in vitro* et (iii) le criblage d'une banque de mutants par Transposon-sequencing. Ces approches ont permis l'identification de deux facteurs impliqués dans l'établissement de l'état de coexistence : le gène codant pour le régulateur du quorum-sensing *lasR*, et l'opéron *yecS-fliY*, impliqué dans le transport de la cystéine. Le maintien *P. aeruginosa* dans cet état de coexistence avec *S. aureus* semble quant à lui faire intervenir le métabolisme de différents acides aminés et du glucose de *P. aeruginosa*.

Ces travaux ont donc démontré l'importance du métabolisme carboné de *P. aeruginosa* dans l'interaction de coexistence avec *S. aureus*, et ont permis de mieux comprendre les causes et impacts de cet état encore peu décrit. Ces résultats ouvrent également de nombreuses perspectives pour l'étude des interactions entre *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

**Mots clés :** *P. aeruginosa* - *S. aureus* - Mucoviscidose - Interaction - Coexistence.

## Audition Prix de thèse

### Étude de la colibactine dans les infections urinaires

Camille Chagneau (camille.chagneau@inserm.fr)

*IRSD, Inserm, Toulouse, France*

Les infections urinaires (UTI) sont parmi les infections bactériennes communautaires ou nosocomiales les plus fréquentes. Elles sont le plus souvent causées par des *Escherichia coli* uropathogènes (UPEC). Nous avons constitué une collection d'UPEC issus de 223 patients souffrants d'UTI communautaires afin de comprendre le rôle et l'impact de potentiels facteurs de virulence des UPEC jusque-là peu étudiés. En particulier nous avons montré que 43% des UPEC portaient un îlot de pathogénicité, l'îlot *pks*. Il code pour une machinerie de synthèse de différents métabolites secondaires dont une génotoxine, la colibactine. Chez les *E. coli* commensales intestinales, la colibactine est suspectée de promouvoir le cancer colorectal.

Mon objectif a été d'étudier l'impact et le rôle de l'îlot *pks* et de ses métabolites dans la physiopathologie des UTI. Nous avons montré que la machinerie de biosynthèse *pks* était active chez l'Homme durant l'UTI. Nous avons ainsi retrouvé pour la première fois un métabolite témoin de la production de la colibactine dans plus de la moitié des urines des patients atteints d'une UTI à UPEC *pks+*. Ces isolats cliniques d'UPEC *pks+* sont génotoxiques *in vitro*. En reproduisant une UTI en modèle murin, nous avons démontré l'expression de la machinerie *pks* dans les communautés bactériennes intracellulaires formées dans les cellules vésicales et nous avons mis en évidence la présence de dommages à l'ADN dans les cellules urothéliales liés à la production de colibactine. Ces dommages surviennent y compris dans des cellules KRT14+ progénitrices de la vessie. Cette étude suggère que les UTI pourraient par ce biais avoir des conséquences à plus long terme sur l'hôte, en particulier dans le cancer de la vessie.

En perspective, il convient également de questionner l'actuelle recommandation d'absence de traitement des bactériuries asymptomatiques, qui peuvent ainsi persister des mois voire des années alors qu'elles sont causées par des souches fréquemment porteuses de l'îlot *pks* et génotoxiques.

**Mots clés :** Infections urinaires - *Escherichia coli* uropathogènes - Îlot *pks* - Colibactine - Métabolites secondaires.

**Audition Prix de thèse****Étude polyphasique de *Xanthomonas hortorum* à l'ère de la génomique : focus sur *X. hortorum* pv. *vitians*, agent causal de la bactériose foliaire de la laitue**

Lucas Morinière (lucasmoriniere@gmail.com)

UMR CNRS 5557 INRAE 1418 Écologie Microbienne, Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France

Le genre *Xanthomonas* représente un réservoir majeur d'espèces bactériennes phytopathogènes. Parmi celles-ci, les différents pathovars de *X. hortorum* s'attaquent à une grande variété d'espèces végétales phylogénétiquement distantes. La bactériose foliaire de la laitue, causée par *X. hortorum* pv. *vitians*, est l'une des de ces pathologies dont les conséquences pour les cultures sont les plus importantes à l'échelle mondiale. Toutefois, les questions liées à l'étiologie de cette maladie infectieuse végétale nécessitaient une étude approfondie pour être élucidées. De plus, les aspects moléculaires et génétiques de l'interaction hôte-pathogène et de l'adaptation environnementale n'avaient jamais été investigués.

À travers une approche mixte alliant les principes de la taxonomie polyphasique et le criblage par Tn-seq des gènes contribuant à la valeur sélective de *X. hortorum* pv. *vitians* en conditions *in vitro* et *in planta*, cette étude entend répondre à ces problématiques en se reposant sur les dernières évolutions dans le champ de la génomique. La taxonomie de *X. hortorum* a tout d'abord été remaniée en proposant sa combinaison avec *X. cynarae*. Ensuite, le génome essentiel de *X. hortorum* pv. *vitians* a été caractérisé et distingué entre gènes conservés et gènes accessoires « égoïstes » acquis par transferts horizontaux.

Enfin, les gènes et fonctions importants pour la valeur sélective du pathogène lors des phases successives épiphytes et endophytes de l'interaction avec la laitue ont été identifiés. Ces travaux révèlent la complexité insoupçonnée de l'espèce *X. hortorum* et éclairent les bases génétiques de la plasticité écologique de *X. hortorum* pv. *vitians*.

**Mots clés :** *Xanthomonas hortorum* - Bactériose de la laitue - Taxonomie - Tn-seq - Génomique.

**Audition Prix de thèse****Modèles d'infection de la plaie du pied chez le diabétique : approche *in vitro* et *in vivo* de la formation de biofilms de bactéries pathogènes seules ou en association**

Cassandra Pouget (cassandra.pouget@gmail.com)

Service de Microbiologie, CHU Nîmes, Nîmes, France

Les plaies chroniques sont un réel problème de santé publique. L'une des principales complications est l'évolution fréquente vers l'infection avec un risque sous-jacent d'amputation. La difficulté de prise en charge repose notamment sur la présence d'un biofilm polymicrobien au niveau du lit de la plaie. L'objectif de cette thèse était de promouvoir l'amélioration de l'état de l'art relatif à la compréhension de ce phénomène physiopathologique important mais également de développer de nouvelles approches concernant le traitement thérapeutique des plaies chroniques pour réduire les risques d'infections morbides. Ce travail de doctorat a permis : i) de parfaire les outils diagnostiques de par la création d'un nouveau modèle *in vitro* mimant l'environnement dans lequel les bactéries évoluent au niveau des plaies chroniques ; ii) d'étudier le comportement (virulence, fitness, génomique, morphologie, formation de biofilm précoce, expression de gènes clés pour la formation de biofilm) de souches de références et de souches cliniques de *Staphylococcus aureus* (SA) et *Pseudomonas aeruginosa* (PA). Ces souches, isolées au sein d'une même plaie, étaient exposées de façon courte ou prolongée, à un milieu classique ou mimant l'environnement chronique d'une plaie. Les résultats ont montré qu'une exposition dans des conditions environnementales stressantes réduisaient la virulence et le fitness des souches au profit d'un comportement plus tourné vers la formation de biofilm ; iii) de démontrer l'impact de la présence de plusieurs bactéries au sein d'un environnement. Ce travail a particulièrement mis en évidence la baisse de pathogénicité et l'évolution de l'expression de certains gènes impliqués dans le biofilm de souche de SA en présence de PA. Enfin ce travail s'est concentré sur iv) la mise au point d'une technique de formation de biofilm dynamique et d'imagerie confocale permettant la visualisation d'un biofilm polymicrobien en trois dimensions et l'évaluation de molécules antimicrobiennes sur chaque espèce bactérienne composant le biofilm polymicrobien après un débridement mécanique automatisé. La combinaison de notre nouveau milieu « plaie chronique » et du système de formation en flux et visualisation en 3D du biofilm polymicrobien représente des outils puissants pour améliorer la compréhension des interactions régissant les biofilms mais aussi pour évaluer l'efficacité de molécules candidates dans la prise en charge des plaies chroniques.

**Mots clés** : Plaies chroniques - Infections - Biofilms - Coopération bactérienne.



**Audition Prix de thèse****Impact de l'infection congénitale par le Cytomégalovirus humain sur la sécrétion de petites vésicules extracellulaires placentaires et conséquences sur le développement cérébral fœtal**

Mathilde Bergamelli (mathilde.bergamelli@gmail.com)

Centre Physiopathologie, Toulouse Purpan, France

L'infection congénitale par le Cytomégalovirus humain (hCMV) constitue une problématique majeure de santé publique. Dans les pays dits développés, c'est la première cause d'atteintes neurosensorielles néonatales d'origine infectieuse. L'infection par le hCMV induit des lésions placentaires et cérébrales chez le fœtus, d'intensité très variable. Les mécanismes physiopathologiques conduisant aux lésions fœtales restent toutefois peu compris. Par ailleurs, le suivi médical de cette infection en cours de grossesse est rendu complexe par le manque d'outils diagnostics et pronostics non invasifs.

La production de certains médiateurs par le placenta infecté pourrait expliquer en partie la typologie des atteintes retrouvées au niveau fœtal. Parmi ces médiateurs, les petites vésicules extracellulaires (sEV) placentaires transmettent des informations biologiques dans les compartiments maternel et fœtal. Ces nanovésicules lipidiques, chargées entre autres en protéines et miARN, présentent donc un intérêt particulier dans le cadre de l'infection congénitale par le hCMV, car elles pourraient 1/ jouer un rôle dans la transmission d'informations biologiques depuis le placenta infecté vers le fœtus et 2/ permettre, *via* leur présence dans le compartiment plasmatique maternel, de développer des biomarqueurs permettant de monitorer les grossesses positives pour le hCMV.

Au cours de ma thèse j'ai cherché à évaluer ces deux hypothèses, en combinant des modèles cellulaires trophoblastique, d'explants placentaires *ex vivo* et des prélèvements cliniques *in vivo*. Dans un premier temps, mes résultats ont montré que l'infection par le hCMV modifie la sécrétion et la composition des sEV trophoblastiques, qui présentent notamment un profil protéique théoriquement facilitateur d'infection. Par la suite, j'ai montré que ces sEV trophoblastiques modifiées par le hCMV exercent un effet proviral sur des cellules fœtales naïves de toute infection (fibroblastes et cellules souches neurales). Cet effet proviral sur le taux d'infection des cellules souches neurales naïves est également retrouvé avec des sEV issues de placenta précoce infecté *ex vivo* par le hCMV et avec des sEV issues de liquide amniotique de patientes enceintes présentant une séroconversion hCMV.

Par ailleurs, j'ai développé une collection biologique visant à prélever différents échantillons chez des patientes présentant une séroconversion hCMV en cours de grossesse. Les deux objectifs de ce biobanking sont de pouvoir valider nos résultats très fondamentaux avec des prélèvements cliniques et, d'autre part, de poser les bases permettant à terme de mettre au point un biomarqueur pronostic de suivi des grossesses positives au hCMV.

Dans son ensemble, ce travail propose que les sEV placentaires pourraient participer aux atteintes fœtales observées au cours de l'infection congénitale par le hCMV en facilitant la dissémination virale *via* une modification de leur composition induite par le virus. Par ailleurs, les sEV placentaires présentes au niveau plasmatique chez la mère pourraient être des candidats de choix dans le développement de nouveaux biomarqueurs pronostiques.

**Audition Prix de thèse****Déterminismes environnementaux de la diffusion et de la survie des bacilles à Gram négatif commensaux et pathogènes dans les hydrosystèmes**

Charles Henriot (charles.henriot@univ-fcomte.fr)

UMR 6249, Université de Bourgogne Franche-Comté, Besançon, France

Le concept *One Health* suppose que les santés humaine, animale et environnementale sont interconnectées. Il promeut une approche holistique et transdisciplinaire pour appréhender les problèmes de santé publique. Les risques infectieux et la résistance aux antibiotiques sont des préoccupations majeures du concept *One Health*. L'environnement est souvent relégué au second plan lors de la mise en place d'approches *One Health*.

Ce travail de recherche vise à combler le manque de connaissances quant à la diffusion des bacilles à Gram négatif commensaux et pathogènes (BGN-CP) dans l'environnement. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* sont trois espèces bactériennes associées à l'Homme qui acquièrent facilement des déterminants de résistance aux antibiotiques. Ces BGN-CP contaminent l'environnement, principalement *via* les eaux usées et les activités agricoles. Dans ce travail, nous avons étudié le devenir des BGN-CP dans les écosystèmes aquatiques des plaines alluviales. *E. coli*, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* sont largement dispersées dans les hydrosystèmes. Leur survie, influencée par les facteurs abiotiques et biotiques, est généralement faible dans l'environnement. Toutefois, certaines conditions favorisent leur survie, voire leur prolifération dans des écosystèmes spécifiques. Certaines zones humides peuvent constituer des réservoirs environnementaux de BGN-CP. L'environnement joue un rôle mineur dans la contamination par les BGN-CP dans les pays à revenus élevés, où la transmission interhumaine prédomine. En revanche, la situation peut être beaucoup plus complexe dans les pays à revenus faibles et intermédiaires où les compartiments humain et environnement sont plus connectés. Bien que l'environnement est supposé jouer un rôle limité dans la rétro contamination de l'Homme par les BGN-CP dans les pays à revenus élevés, sa prise en compte dans l'approche *One Health* est indispensable car les changements induits par l'Anthropocène pourraient accroître le risque sanitaire pour les populations humaines.

**Mots clés :** One Health - Bacilles à Gram négatif - Antibiorésistance - *Escherichia coli* - Écosystèmes alluviaux - Zones humides.

## Conférences plénières

### Le cas du virus Ebola

Martine Peeters (martine.peeters@ird.fr)

*TransVIHMI, IRD, Montpellier, France*

Depuis la première épidémie reconnue de maladie à virus Ebola (MVE) en 1976 en République Démocratique du Congo (RDC), plus de 30 épidémies ont été documenté dans plusieurs pays africains. La majorité des épidémies ont eu lieu dans des zones reculées avec un nombre de cas relativement faible. Cependant les épidémies en Afrique de l'Ouest (décembre 2013 à mars 2016) et dans l'Est de la RDC (août 2018 à juin 2020) ont clairement montré que des milliers d'individus peuvent être infecté sur de vastes zones géographiques et dans des zones urbaines.

La majorité des épidémies sont très probablement le résultat de transmissions zoonotiques indépendants et les chauves-souris sont considérées comme des espèces réservoirs. Une seule étude a pu détecter l'ARN viral, cependant, la présence d'anticorps a été documenté chez au moins huit espèces frugivores et une espèce insectivore. Malgré l'absence de preuves directes d'exposition des cas index à des chauves-souris infectées, deux épidémies ont été suspectées d'être liées aux chauves-souris; à savoir Luebo (RDC) en 2007 et la principale épidémie en Afrique de l'Ouest en 2013.

Les deux grandes épidémies ont aussi permis d'obtenir de nouvelles informations sur la maladie elle-même, ainsi que sur les implications médicales, sociales et psychologiques pour les survivants. Il a également été possible d'estimer les proportions d'infections asymptomatiques ou pauci-symptomatiques et d'identifier leur rôle dans des chaînes de transmissions inhabituelles. Plusieurs études ont démontré la persistance virale dans les fluides biologiques (ex. sperme, lait maternelle) qui peuvent être a des nouvelles chaines de transmission, ainsi que des cas de rechute de la MVE qui ont été rapportés sporadiquement. L'épidémie de 2021 en Guinée a mis en évidence que la persistance et la réactivation virale peuvent se produire même 5 ans plus tard.

Malgré le nombre croissant d'épidémies de MVE et leur importance croissante, l'écologie des virus Ebola est encore mal comprise et le rôle des chauves-souris dans les épidémies doit être précisé davantage. Aujourd'hui, avec les deux grandes épidémies qui ont infecté des milliers de personnes sur de vastes zones géographiques le risque de ré-émergence est aussi plus élevé.

*Mots clés* : Ebola - Afrique - Chauves souris - Zoonose - Re-emergence.

**Conférences plénières****Le cas Monkeypox virus**

Olivier Ferraris

*CNR LE-Orthopoxvirus, Brétigny-sur-Orge, France*

Résumé non parvenu.

**SP1 - Life on the inside: the intracellular lifestyle of pathogens** **SP1-O.1****Deciphering the host nucleus subversion by HIV-1 to replicate**

Francesca Di Nunzio<sup>1</sup> (francesca.di-nunzio@pasteur.fr), Viviana Scoca<sup>1</sup>, Renaud Morin<sup>2</sup>, Maxence Collard<sup>1</sup>, Jean-Yves Tinevez<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Department of Virology, Advanced Molecular Virology Unit, Institut Pasteur-Université de Paris, Paris, France*

<sup>2</sup> *Imactiv-3D, Toulouse, France*

<sup>3</sup> *Image Analysis Hub / C2RT, Institut Pasteur-Université de Paris, Paris, France*

HIV integration occurs in chromatin sites that favor the release of high levels of viral progeny, alternatively the virus is also able to coexist discreetly with the host. The viral infection perturbs the cellular environment inducing the remodeling of the nuclear landscape. Indeed, HIV-1 triggers the nuclear clustering of the host factor CPSF6, but the underlying mechanism is poorly understood. Our data indicate that HIV usurps a recently discovered biological phenomenon, called liquid-liquid phase separation (LLPS), to hijack the host cell. We observed CPSF6 clusters as part of HIV-induced membraneless organelles (HIV-1 MLOs) in macrophages, which are one of the main HIV target cells. We describe that HIV-1 MLOs follow phase separation rules and represent functional biomolecular condensates. We highlight HIV-1 MLOs as hubs of nuclear reverse transcription, while the double stranded viral DNA, once formed, rapidly migrates outside these structures. Transcription-competent proviruses localize outside but near HIV-1 MLOs, in LEDGF-abundant regions, known to be active chromatin sites. Therefore, HIV-1 MLOs orchestrate viral events prior to the integration step and create a favorable environment for the viral replication. This study uncovers single functional host-proviral complexes in their nuclear landscape, which is markedly restructured by HIV-1.

SP1 - Life on the inside: the intracellular lifestyle of pathogens 

SP1-1

Pathogénie

Microbiologie fondamentale

**New insights on the biogenesis of *Coxiella*-containing vacuoles revealed by phospholipid profiling**

Arthur Bienvenu<sup>1</sup> (matteo.bonazzi@irim.cnrs.fr), Arthur Bienvenu<sup>1</sup>, Melanie Burette<sup>2</sup>, Benoit Bordignon<sup>3</sup>, Jittendriya Swain<sup>1</sup>, Delphine Muriaux<sup>1</sup>, Eric Martinez<sup>1</sup>, Matteo Bonazzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> IRIM, CNRS, Montpellier, France

<sup>2</sup> LPHI, CNRS, Montpellier, France

<sup>3</sup> Biocampus, CNRS, Montpellier, France

*Coxiella burnetii* is a class 3 pathogen responsible for the zoonosis Q fever, a debilitating disease with severe health and economic impact. Key to *Coxiella* virulence is the Dot/Icm-dependent secretion of bacterial effector proteins that coordinate the biogenesis of a large *Coxiella*-Containing vacuole (CCV) with autolysosomal features. Phosphoinositides (PIs) are emerging as targets for a growing number of bacterial effector proteins. These lipids are key players in eukaryotic cell homeostasis, define the identity of intracellular membranes and serve as regulators of eukaryotic signal transduction. Importantly, we have observed that perturbing the capacity of *Coxiella* to manipulate PI metabolism for CCVs biogenesis has *in vivo* relevance.

Here we used automated microscopy and screening approaches to define the PI profile of CCVs and identify PI-interacting effector proteins (PIEs) regulating the biogenesis of CCVs.

We observed that PI(3)P, PI(4)P and LBPA are actively enriched at CCVs in a Dot/Icm-dependent manner. Screening a sub-library of *Coxiella* transposon mutants in genes encoding candidate effector proteins we identified a new *Coxiella* effector protein, VicE (for Vacuole-inducing *Coxiella* Effector) as important for CCVs biogenesis and responsible for LBPA enrichment at CCVs. VicE specifically associates with LBPA-enriched large unilamellar vesicles (LUVs) and surprisingly, its ectopic expression in eukaryotic cells is sufficient to trigger the formation of a large vacuole that is reminiscent in morphology and composition to CCVs.

Our results further expand on *Coxiella* subversion of host lipid trafficking for CCV biogenesis and shed light on a new *Coxiella* effector involved in the manipulation of secretory membrane traffic during infections. Drawing a comprehensive map of the PI/*Coxiella* interactome that orchestrates CCVs biogenesis will help identifying key interaction hubs for the development of new, tailored antimicrobials.

**Mots clés :** *Coxiella burnetii* - Phosphoinositides - Membrane traffic.

**SP1 - Life on the inside: the intracellular lifestyle of pathogens** 

SP1-2

Pathogénie

Microbiologie fondamentale

**Vacuolar or cytoplasmic lives - *Listeria* plays on both sides**

Alice Lebreton<sup>1,2</sup> (alice.lebreton@ens.psl.eu), Caroline Peron-Cane<sup>1,3</sup>, Thomas Petit<sup>1</sup>, Arnaud Gautier<sup>4</sup>, Nicolas Desprat<sup>3</sup>

<sup>1</sup> IBENS, UMR CNRS 8197, Inserm 1024, Institut de biologie de l'ENS (IBENS), Paris, France

<sup>2</sup> INRAE, Paris, France

<sup>3</sup> Laboratoire de Physique de l'ENS (LPENS), Paris, France

<sup>4</sup> Laboratoire des biomolécules, Sorbonne Université, Paris, France

**Introduction and Objectives:**

The onset of host-pathogen interactions constitutes a remarkable example of dynamic phenomena in biology, where both the host and pathogen respond to each-other. In this molecular crosstalk, secretion of protein effectors is key to the virulence of microbial pathogens, by allowing them to interact with their host and subvert molecular mechanisms to their benefit. However, tracking the dynamics of secreted virulence factors in real time has long been impaired by a paucity of appropriate fluorescent tools.

**Material and Method:**

We took advantage of the properties of the fluorogenic probe FAST to analyse by live microscopy and quantify the secretion of virulence factors from the foodborne pathogen *Listeria monocytogenes* during infection. This versatile tool allowed us to monitor infection dynamics in real time among a population of *Listeria*-infected epithelial cells, as well as to assess the residence time of *Listeria* inside internalisation vacuoles.

**Results:**

We unveiled a surprising heterogeneity in residence time of *Listeria* inside its entry vacuoles. By tracking the localisation of the secreted pore-forming toxin listeriolysin O over time, we observed that it labelled not only the membrane of entry vacuoles, but also compartments that enlarged over time and where the bacteria could multiply as fast as in the cytosol.

**Conclusions:**

We provide evidence that these compartments result from a process analogous to LC3-associated phagocytosis and constitute an alternative replication niche for *Listeria* in epithelial cells, with potential implications on dissemination and virulence that we are now investigating in-depth.

**Mots clés :** *Listeria monocytogenes* - Virulence factors - Bacterial secretion - Pore-forming toxin - Intravacuolar replication.

**Références :**

1. Peron-Cane C, Fernandez J-C, Leblanc J, Wingertsmann L, Gautier A, Desprat N, Lebreton A. 2020. Fluorescent secreted bacterial effectors reveal active intravacuolar proliferation of *Listeria monocytogenes* in epithelial cells. PLoS Pathog. 16(10):e1009001.
2. Petit T, Lebreton A. 2022. Adaptations of intracellular bacteria to vacuolar or cytosolic niches. Trends Microbiol.

SP1 - Life on the inside: the intracellular lifestyle of pathogens 

SP1-3

Pathogénie

Microbiologie fondamentale

**Reverting the mode of action of the mitochondrial  $F_0F_1$ -ATPase by *Legionella pneumophila* preserves its replication niche**

Pedro Escoll<sup>1,2</sup> (pescoll@pasteur.fr), Lucien Platon<sup>1,2,3</sup>, Mariatou Dramé<sup>1,2,4</sup>, Tobias Sahr<sup>1,2</sup>, Silke Schmidt<sup>1,2,5</sup>, Christophe Rusniok<sup>1,2</sup>, Carmen Buchrieser<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Biologie des Bactéries Intracellulaires, Institut Pasteur, Paris, France*

<sup>2</sup> *UMR3525, CNRS, Paris, France*

<sup>3</sup> *Faculté des Sciences, Université de Montpellier, Montpellier, France*

<sup>4</sup> *Faculté des Sciences, Université de Paris, Paris, France*

<sup>5</sup> *Collège Doctoral, Sorbonne Université, Paris, France*

**Introduction and Objectives:**

*Legionella pneumophila*, the causative agent of Legionnaires' disease, is an intracellular bacterium that injects via a type 4 secretion system (T4SS) more than 300 proteins into macrophages, its main host cell in humans. Certain of these proteins are implicated in reprogramming the metabolism of infected cells by reducing mitochondrial oxidative phosphorylation (OXPHOS) early after infection. As reducing OXPHOS could lead to the premature death of the infected cell, which might be detrimental for the intracellular pathogen, we aim to understand what the mechanisms are employed by *L. pneumophila* to regulate the OXPHOS machinery and the cell death of the infected macrophage cell.

**Material and Methods:**

We have used automated confocal microscopy and High-Content Analyses of living, human monocyte-derived macrophages (hMDMs), infected or not with GFP-expressing *L. pneumophila* (WT strain and mutants), to monitor the mitochondrial membrane potential ( $\Delta\psi_m$ ) and early cell death of infected cells by using TMRM dye and Annexin V labelling. We have also quantified oxygen consumption rate (OCR) of infected hMDMs, as a surrogate of OXPHOS functioning, by using the Seahorse technology to measure extracellular metabolic fluxes.

**Results, Discussion and Conclusions:**

Our results show that despite reduced OXPHOS, the  $\Delta\psi_m$  is maintained during infection of hMDMs. *L. pneumophila* reverses the ATP-synthase activity of the mitochondrial  $F_0F_1$ -ATPase to ATP-hydrolase activity in a T4SS-dependent manner, which leads to a conservation of the  $\Delta\psi_m$ , preserves mitochondrial polarization, and prevents macrophage cell death. Analyses of T4SS effectors known to target mitochondrial functions revealed that *LpSpl* is partially involved in conserving the  $\Delta\psi_m$ , but not *LncP* and *MitF*. The inhibition of the *L. pneumophila*-induced 'reverse mode' of the  $F_0F_1$ -ATPase collapsed the  $\Delta\psi_m$  and caused cell death in infected cells. Single-cell analyses suggested that bacterial replication occurs preferentially in hMDMs that conserved the  $\Delta\psi_m$  and showed delayed cell death. This direct manipulation of the mode of activity of the  $F_0F_1$ -ATPase is a newly identified feature of *L. pneumophila* allowing to delay host cell death and thereby to preserve the bacterial replication niche during infection.

*Mots clés* : Legionella pneumophila - OXPHOS - Mitochondria - FOF1-ATPase - Macrophages.



SP1 - Life on the inside: the intracellular lifestyle of pathogens 

SP1-4

***Staphylococcus aureus* perturbs the host cell SUMOylation response to promote intracellular survival**Nadhuma Youssouf (nadhuma.youssouf@umontpellier.fr)

LPHI, Univeristé de Montpellier, Montpellier, France

**Introduction:**

*S. aureus* can invade a variety of non-professional phagocytes and can survive within professional phagocytes for several days. During infection, pathogen bacteria exploit several eukaryotic signaling pathways and manipulate their host cells to allow their replication and propagation. SUMOylation is an essential mechanism regulating cellular processes such as DNA replication, RNA processing, and cell signaling. In this study, we aim to demonstrate for the first time the role of host SUMOylation response toward *S. aureus* infection.

**Materials and Methods:**

The clinical *S. aureus* strain was plated on Tryptic Soy Agar or grown in Tryptic Soy Broth medium at 37 °C under agitation. The murine macrophage cell line Raw264.7 was maintained in Dulbecco's modified Eagle medium supplemented with 10% of fetal bovine serum at 37 °C in a humidified atmosphere at 5% CO<sub>2</sub>. Raw264.7 cells expressing 6His-tagged SUMO1 and SUMO3 proteins were generated using lentiviral transduction. For macrophage infection, cells were seeded at 5×10<sup>5</sup> cells/mL 24 h before infection and infected at a multiplicity of infection of 10:1 (bacteria:cells) or 1:20 depending on the used strain. After 24h of infection, macrophages were lysed and intracellular bacteria were counted. Western blot was done to determine the profile of SUMOylated proteins and these proteins were quantified with ImageLab Software.

**Results, Discussions and Conclusion:**

Interestingly, *S. aureus* impact on SUMOylation host response occurs at longer times post-infection. We showed (i) that the over-expression of SUMO in macrophages host cells reduces *S. aureus* survival, thus confirming the role of this SUMO-dependent regulation, (ii) that when macrophages were treated with SUMOylation inhibitor, *S. aureus* was able to proliferate at a higher rate, (iii) that when macrophages were infected with *S. aureus*, the level of Ubc9 was significantly reduced in infected macrophages. We also observe that the phosphatase ptpA, an important factor of *S. aureus* intracellular survival is involved in SUMOylated protein decreases. These results suggest that *S. aureus* induces a general deSUMOylation in host cells at the late infection stage, at least through the decrease of the Ubc9 protein and also through the activity of ptpA to favor intracellular replication of *S. aureus*.

**Mots clés :** Infection - S.aureus - SUMOylation - Ubc9 - PtpA.

## SP2 - Impacts de la pandémie COVID-19

SP2-O.1

Virologie

## Impact de la pandémie de Covid-19 sur l'épidémie de VRS

Jean-Sébastien Casalegno<sup>1,2</sup> (jean-sebastien.casalegno@chu-lyon.fr), Mary-Anne Rameix-Welti<sup>3</sup>, Martine Valette<sup>2</sup>, Yves Gillet<sup>4</sup>, Etienne Javouhey<sup>4</sup>, Dominique Ploin<sup>4</sup>, Florence Morfin<sup>1</sup>, VRS study group in Lyon<sup>4</sup>, Bruno Lina<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Virologie Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> CNR des virus des infection respiratoires, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>3</sup> CNR des virus des infection respiratoires, Université Paris Saclay, Paris, France

<sup>4</sup> Service de Réanimation Pédiatrique et d'Accueil des Urgences, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Plus de 2 ans après l'émergence du SARS-Cov-2, les épidémies respiratoires hivernales ne sont toujours pas revenues à une saisonnalité classique dans la majorité des pays. Cette incertitude sur la taille et le timing des futures épidémies de bronchiolites à VRS pose de nombreux problèmes d'anticipation et d'organisation. Les saisons post-covid-19 sont malgré tout une opportunité unique de mieux comprendre la dynamique du VRS dans notre population avant la mise en place de futures interventions pharmacologiques. La France a été un des premiers pays d'Europe à voir resurgir une épidémie de VRS avec « seulement » 4 mois de retard. Survenue en plein confinement, cette épidémie était très atypique caractérisée par une incidence d'hospitalisation réduite dans les populations à risque (< 3 mois et plus de 65 ans) et une augmentation de l'âge moyen des enfants hospitalisés. Etonnement, comme cela a pu être aussi observé d'entre d'autres pays, la circulation de VRS s'est poursuivie tout l'été 2021. En septembre 2021, l'épidémie de bronchiolite a démarré avec 1 mois d'avance, avec une taille supérieure ou égale à une saison pré covid-19, pour se terminer en janvier 2022 avec un retour à une circulation inter saisonnière classique. L'analyse croisée de la situation des pays européens voisins, des données de surveillance virologique, des modèles de transmission dynamique nous permettent maintenant de mieux comprendre cette séquence. Les principaux facteurs identifiés sont : les périodes de fermeture d'école, les variations de transmission saisonnière, les interventions non-pharmacologiques, l'alternance de sous-types VRS (A/B), le taux de natalité, l'interférence virale, et l'augmentation de la susceptibilité de la population avec le temps. Les simulations produites par les modèles de transmission dynamique intégrant certaines de ces variables nous permettront d'illustrer la forte interconnexion des ces différents facteurs et peut-être de présenter quelques scénarios plausibles pour les prochains hivers.

**Mots clés :** VRS - bronchiolite - covid-19 - saisonnalité - NPI.

## Références :

1. Casalegno JS, Ploin D, Cantais A, Masson E, Bard E, Valette M, Fanget R, Targe SC, Myar-Dury AF, Doret-Dion M, Massoud M, Queromes G, Vanhems P, Claris O, Butin M, Pillet S, Ader F, Bin S, Gaymard A, Lina B, Morfin F; VRS study group in Lyon, Javouhey E, Gillet Y. Characteristics of the delayed respiratory syncytial virus epidemic, 2020/2021, Rhône Loire, France. *Euro Surveill.* 2021 Jul;26(29):2100630. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2021.26.29.2100630. PMID: 34296674; PMCID: PMC8299747.
2. van Summeren J, Meijer A, Aspelund G, Casalegno JS, Erna G, Hoang U, Lina B; VRS study group in Lyon, de Lusignan S, Teirlinck AC, Thors V, Paget J. Low levels of respiratory syncytial virus activity in Europe during the 2020/21 season: what can we expect in the coming summer and autumn/winter? *Euro Surveill.* 2021 Jul;26(29):2100639. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2021.26.29.2100639. Erratum in: *Euro Surveill.* 2021 Jul;26(30): PMID: 34296672; PMCID: PMC8299745.
3. Delestrain C, Danis K, Hau I, Behillil S, Billard MN, Kraijten L, Cohen R, Bont L, Epaud R. Impact of COVID-19 social distancing on viral infection in France: A delayed outbreak of RSV. *Pediatr Pulmonol.* 2021 Dec;56(12):3669-3673. doi: 10.1002/ppul.25644. Epub 2021 Sep 2. PMID: 34473914; PMCID: PMC8662089.
4. Baker RE, Park SW, Yang W, Vecchi GA, Metcalf CJE, Grenfell BT. The impact of COVID-19 nonpharmaceutical interventions on the future dynamics of endemic infections. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020 Dec 1;117(48):30547-30553. doi: 10.1073/pnas.2013182117. Epub 2020 Nov 9. PMID: 33168723; PMCID: PMC7720203.

## SP2 - Impacts de la pandémie COVID-19

SP2-1

Virologie

**Real-time quantitative epidemiology & modelling of an emerging infectious disease - a French retrospective on SARS-CoV-2**

Mircea T. Sofonea<sup>1</sup> (mircea.sofonea@umontpellier.fr), Corentin Boennec<sup>2</sup>, Alexander Massey<sup>1</sup>, Bastien Reyné<sup>1</sup>, Samuel Alizon<sup>3</sup>, The ETE Modelling Team<sup>4</sup>

<sup>1</sup> MIVEGEC - UM, CNRS, IRD, Univ. Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> LAPLACE - Université de Toulouse, UPS, INPT - Toulouse, France, Univ. Toulouse, Toulouse, France

<sup>3</sup> CIRB - Collège de France, CNRS, INSERM, Université PSL - Paris, France, CNRS, Paris, France

<sup>4</sup> MIVEGEC - UM, CNRS, IRD, Univ. Montpellier/CNRS/IRD, Montpellier, France

**Introduction:**

SARS-CoV-2 virus has spread over the world rapidly creating one of the largest pandemic ever. The absence of immunity, presymptomatic transmission, and the relatively high level of virulence of the COVID-19 infection led to a massive flow of patients in critical care units (CCU). This unprecedented situation called for rapid and accurate mathematical models to best inform public health policies as well as hospital administrations [1].

As the epidemic unfolded, the number of essential processes involved in the dynamics of bed occupancy – such as improved care, combinations of non pharmaceutical interventions (NPIs), variants of concern (VOCs) and vaccines – have gradually accumulated. However, up-to-date field data required to set up key parameter values were either lacking or too dispersed in many cases. Moreover, future dynamics depended on numerous uncertain guesses. Facing this multiplicity of degrees of freedom, epidemiological modelling found itself having to choose between precision and robustness, between objectivity and utility [1].

**Methods:**

Here, we present achievements of a parsimonious discrete-time framework, developed in March 2020 and gradually improved since, that combined the computational and tractability benefits of deterministic systems and the short-term accuracy of non-Markovian dynamics, taking into account the effect of age of infection on the natural history of the disease [2].

**Results and Discussion:**

By analysing the hospital time series of COVID-19 in France, we were able to provide early estimates of the main epidemiological parameters with only limited publicly available data [2]. Since then, the model provided an everyday robust framework used to nowcast the epidemic in France, investigate counterfactual scenarios of public health interventions and anticipate CCU overload, while gradually updating hospital care kinetics, variant of concern dynamics and vaccine rollout [3, 4]. The model translated into an online forecasting application and several published projections and support to decision-making at both local and national scale [5]. In the light of successes and failures, we review the real-time improvement history of the model and its related communication and implications with health institutions, authorities and medias.

*Mots clés* : COVID-19 - Epidemiology - Modelling - Hospital burden - Public health.

**Références :**

1. Sofonea MT, Cauchemez S, Boëlle PY. (2022) Epidemic models: why and how to use them. *Anaesth Crit Care Pain Med*. <https://doi.org/10.1016/j.accpm.2022.101048>
2. Sofonea MT, Reyné B, Elie B, Djidjou-Demasse R, Selinger C, Michalakos Y et al. (2021) Memory is key in capturing COVID-19 epidemiological dynamics. *Epidemics*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1755436521000189>
3. Alizon S, Haim-Boukoba S, Foulongne V, Verdurme L, Trombert-Paolantoni S, Lecorche E et al. (2021) Rapid spread of the SARS-CoV-2 delta variant in French regions in June 2021. *Eurosurveillance*. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.28.2100573>
4. Sofonea MT, Roquebert B, Foulongne V, Morquin D, Verdurme L, Trombert-Paolantoni S et al. (2022) Analyzing and modeling the spread of SARS-CoV-2 Omicron lineages BA.1 and BA.2 in France (September 1, 2021, to February 28, 2022). *Emerg Infect Dis*. [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/28/7/22-0033\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/28/7/22-0033_article)
5. Sofonea MT & Alizon S (2021) Anticipating COVID-19 intensive care unit capacity strain: A look back at epidemiological projections in France. *Anaesth Crit Care Pain Med*. <https://doi.org/10.1016/j.accpm.2021.100943>

## SP2 - Impacts de la pandémie COVID-19

SP2-2

Virologie

**Challenges of SARS-CoV2 serology in the context of the Omicron variant: implications in field surveys**

Ahidjo Ayouba<sup>1,2</sup> (ahidjo.ayouba@ird.fr), Guillaume Thaurignac<sup>1</sup>, Alpha Kabinet Keita<sup>1,3</sup>, Dowbiss Meta-Djomsi<sup>2</sup>, Emilande Guichet<sup>1</sup>, Edouard Tuailon<sup>4</sup>, Abdoulaye Touré<sup>3</sup>, Charles Kouanfack<sup>5</sup>, Eric Delaporte<sup>1</sup>, Martine Peeters<sup>1</sup>

<sup>1</sup> TransVIHMI, IRD, Montpellier, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Virologie sur les émergences de la Faune sauvage, CREMER, Yaoundé, Cameroun

<sup>3</sup> CERFIG, Conakry, Guinée

<sup>4</sup> Pathogenesis and Control of Chronic Infections, CHU Montpellier, Montpellier, France

<sup>5</sup> Unité de Santé Publique, CREMER, Yaoundé, Cameroun

**Background:**

Data from sero-epidemiological surveys in Africa showed that SARS-CoV-2 has spread in the general population at higher levels than reported by cases and mortality records. Like elsewhere, the African COVID-19 epidemic was driven by successive waves of the different SARS-CoV-2 variants of concern (VOC). While the first VOCs induced highly cross-reactive antibodies with the ancestral strain, the high number of different amino-acid substitutions, especially in the Spike protein of the Omicron variant, raised concerns on the ability of serological tools developed with antigens from the ancestral strain, to readily detect antibodies directed against all SARS-CoV2 variants. Here, we report on the update of an inhouse Luminex-based assay to detect all SARS-CoV2 variants.

**Material and Methods:**

We updated our Luminex based serological assay for the detection of IgG antibodies to SARS-CoV2 by including Spike (SP) and Nucleocapsid (NC) antigens from Omicron. We used blood samples from COVID-19 positive patients collected in early 2020 (n=39), from vaccinees (n=51), from serosurveys in Cameroon and Guinea after the Delta wave (n=302) and from patients with documented cases of Omicron infection (n=8).

**Results:**

Of the 39 samples from patients in early 2020, all were positive on NC and SP of the ancestral antigens and on NC of Omicron, but only 20% (8/39) were positive on SP of Omicron. This finding prompted us to test field samples from Africa, collected after the Delta wave of COVID-19: 48.7% (174/302) and 44.4% (134/302) were positive on NC of Wuhan and Omicron lineage, respectively ( $p=0.0511$ ). On the SP antigen, 53.3% (161/302) and 3% (9/302) were positive on Wuhan and Omicron, respectively ( $p<10^{-4}$ ). We then tested samples from 8 individuals (2-4 sequential samples) with documented Omicron infection, 22 to 100 days post-infection. All the eight presented antibodies to SP Omicron. Finally, we tested samples from 51 fully vaccinated individuals and 100% presented antibodies against SP Wuhan while only 33.3% (17/51) had antibodies to SP Omicron.

**Conclusion:**

Our data show that serological assays for the detection of IgG antibodies to SARS-CoV2 should be regularly updated to cope with the continuous diversification of the virus. Erroneous results might be released otherwise.

*Mots clés* : SARS-CoV2 - Serology - Luminex - Variants - Africa.

## SP2 - Impacts de la pandémie COVID-19

SP2-3

Virologie

**Association between the COVID-19 pandemic and pertussis in France using multiple nationwide data sources**

Soraya Matczak<sup>1,2</sup> (soraya.matczak1@pasteur.fr), Corinne Levy<sup>3,4,5</sup>, Camille Fortas<sup>6</sup>, Jérémie F Cohen<sup>2,7</sup>, Stéphane Béchet<sup>3</sup>, Fatima Aït El Belghiti<sup>6</sup>, Sophie Guillot<sup>1</sup>, Sabine Trombert-Paolantoni<sup>8</sup>, Véronique Jacomo<sup>9</sup>, Yann Savitch<sup>6</sup>, Juliette Paireau<sup>1</sup>, Sylvain Brisse<sup>1</sup>, Nicole Guiso<sup>1</sup>, Daniel Lévy-Bruhl<sup>6</sup>, Robert Cohen<sup>10,3,5</sup>, Julie Toubiana<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup> Institut Pasteur, Paris, France

<sup>2</sup> Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France

<sup>3</sup> ACTIV, Créteil, France

<sup>4</sup> Université Paris Est, Créteil France, France

<sup>5</sup> GPIIP, Paris, France

<sup>6</sup> Santé Publique France, Saint-Maurice, France

<sup>7</sup> Centre de Recherche en épidémiologie et statistiques, Paris, France

<sup>8</sup> Laboratoire CERBA, Saint Ouen L'Aumône, France

<sup>9</sup> Laboratoire Eurofins Biomnis, Lyon, France

<sup>10</sup> Université Paris Est, Créteil, France

**Background:**

Interventions to mitigate the COVID-19 pandemic may impact other respiratory diseases.

**Aims:**

We aimed to study the course of pertussis in France over an 8-year period including the beginning of the COVID-19 pandemic and its association with COVID-19 mitigation strategies, using multiple nationwide data sources and regression models.

**Methods:**

We analysed the number of French pertussis cases between 2013 and 2020, using PCR test results from nationwide outpatient laboratories (Source 1) and the paediatric network of 41 hospitals (Source 2). We also used reports of a national, office-based paediatric network (Source 3). We conducted a quasi-experimental interrupted time series analysis, relying on negative binomial regression models. The models accounted for seasonality, long-term cycles and secular trend, and included a binary variable for the first national lockdown (start 16 March 2020).

**Results:**

We identified 19,039 pertussis cases from these data sources. There was a significant decrease in pertussis cases following the implementation of mitigation measures, with adjusted incidence rate ratios of 0.10 (95% CI: 0.04–0.26) and 0.22 (95% CI: 0.07–0.66) for Source 1 and Source 2, respectively. The association was confirmed in Source 3 with a median of, respectively, one (IQR: 0–2) and 0 cases (IQR: 0–0) per month before and after lockdown ( $p = 0.0048$ ).

**Conclusions:**

The strong reduction in outpatient and hospitalised pertussis cases suggests an impact of COVID-19 mitigation measures on pertussis epidemiology. Pertussis vaccination recommendations should be followed carefully, and disease monitoring should be continued to detect any resurgence after relaxation of mitigation measures.

*Mots clés* : Pertussis - Epidemiology - COVID-19 - Lockdown.

## SP2 - Impacts de la pandémie COVID-19

SP2-4

Virologie

**Émergences de rash rougeoleux chez les enfants en Guinée pendant l'épidémie COVID19 : confirmation moléculaire de la situation épidémique**

Reine Anguinze<sup>1</sup> (ReineSalome.ANGUINZE@pasteur-guinee.org), Angéline Touré<sup>2</sup>, Fatoumata Cissé<sup>3</sup>, Edwige Kouamou<sup>3</sup>, [Pierre Roques](#)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Unité de Virologie, Institut Pasteur de Guinée, Conakry, Guinée*

<sup>2</sup> *Dispensaire Saint Gabriel, Conakry, Guinée*

<sup>3</sup> *Laboratoire de Biologie Médicale, Institut Pasteur de Guinée, Conakry, Guinée*

**Introduction et objectifs :**

Les crises de santé publique majeure telles que les récentes épidémies d'Ebola mais aussi le Covid-19 en Afrique de l'Ouest qui saturent des systèmes de santé publique fragiles peuvent entraîner des épidémies de maladies évitables par la vaccination. En Novembre 2021, l'OMS cite la Guinée comme un des pays ayant probablement sous-notifiés les cas de rougeole en 2020. Faisant le constat du déficit de confirmation des cas suspect, notre étude est destinée à valider une confirmation simplifiée et robuste des cas suspect de rougeole pendant et hors épidémies dans les centres de santé primaire d'un simple prélèvement de salive pour la confirmation moléculaire.

**Matériels et méthodes :**

Sur 213 enfants avec des signes évocateurs de la rougeole consultants au dispensaire St Gabriel de Conakry (5% des cas entre S13-S22 de 2022) nous avons fait des prélèvements de salive entre joue et gencive à l'aide d'embout en éponge dédié (kit Oracol) ou des Swab rendu disponible pour l'évaluation du COVID. Ces prélèvements ont été testés le même jour par RT-qPCR triplex Rougeole, Rubéole et RNaseP en contrôle interne. Une série de 27 échantillons a été gardée à température ambiante (26-32°C) pendant 21 jours et testée à J0, J7, J15 et J21.

**Résultats, discussion conclusion :**

146 échantillons sont confirmés rougeole soit 68,5% du total, 27 positifs à la rubéole soit 12,67%, 5 échantillons positifs à la fois en rougeole et en rubéole soit 2, 34% et 35 échantillons négatifs soit 16,43 %. Le test des échantillons gardés à température ambiante (26-30°C) donne le même résultat de J0 à J15 : 13 positifs rougeole soit 48,1% ; 4 positifs rubéole soit 14,8% ; 3 positifs rougeole+rubéole soit 11,11% et 7 négatifs soit 25,9%. A J21 les échantillons mono-positifs sont toujours identifiable, cependant les cas rougeole+rubéole sont négatifs à l'exception d'un cas où seul le signal rougeole est positif. Ces résultats témoignent de la capacité de confirmer les cas même avec une quinzaine de jours de délais. Le suivi de l'épidémie peut se faire facilement avec des prélèvements salivaires suivant une méthode directement dérivée du système mis en place pour le diagnostic COVID.

**Mots clés :** Rougeole - Rubéole - RTQPCR multiplex - Salive.

**Références :**

1. Remerciements : CNR Rougeole : A Vabret, M LeGuic, Dispensaire St Gabriel : PE Bioche et MSF Guinée : F Kabongo.

## SP3-T - Innovations pédagogiques en microbiologie

**SP3-T-O.1**

Innovations pédagogiques

### Ma stratégie pédagogique face à la multiplicité des outils pédagogiques, lesquels choisir ?

Hubert Javaux<sup>1,2</sup> (hubert.javaux@sorbonne-nouvelle.fr)

<sup>1</sup> UFR Communication et médias, Université Sorbonne nouvelle, Paris, France

<sup>2</sup> Institut Sorbonne Kazakhstan, Université pédagogique d'Etat Abai, Almaty, Kazakhstan

#### Introduction :

Depuis plusieurs années, les outils pédagogiques numériques s'invitent progressivement à l'université. Néanmoins, la pandémie a vu l'émergence massive et rapide de moyens permettant surtout l'enseignement magistral à distance. La réflexion institutionnelle superficielle ainsi que la transposition, non anticipée, à la modalité « tout à distance » imposée par l'épisode pandémique ont dégoûté plus d'un d'utiliser les technologies et ont épuisé les équipes d'appui(1).

#### Questionnement et quelques pistes de solutions :

Quels outils technologiques sont les plus à même d'apporter un réel bénéfice à mes scénarios pédagogiques ?

Cette plus-value peut revêtir plusieurs formes(2).

La première est organisationnelle pour l'enseignant. Les fonctions de centralisation des ressources pédagogiques et des travaux des étudiants proposées par les plateformes numériques institutionnelles en facilitant la gestion des ressources pédagogiques et travaux offrent un gain de temps appréciable. Elles favorisent également la formalisation des feed-back, permettent une certaine « surveillance » de l'activité du cours et donc la détection des risques de décrochage.

La seconde est liée à l'activité immédiate de l'étudiant. L'usage de plus en plus répandu des boîtiers de vote ou de leur équivalent sur smartphone, permet à l'enseignant de sonder régulièrement et rapidement le niveau d'attention, mais aussi la compréhension des concepts.(3)

La troisième vise l'autonomisation et la responsabilisation de l'étudiant. Le scénario lui proposera de prévisualiser « à distance » avant le cours de contenus numérisés et de réaliser une activité introductive finalisée par un test autocorrigé. Le cours en présentiel devient alors un lieu d'échange, d'exercitation et d'approfondissement des concepts abordés.(4)

Par ailleurs, il existe beaucoup d'autres situations pour lesquelles les outils numériques peuvent aider l'enseignant et apporter une plus-value tout en permettant un basculement « à distance » sans générer les dégâts pédagogiques observés durant la pandémie.

#### Conclusion :

La course aux technologies « à la mode » ou « palliatives » en période de crise n'amène en général que frustrations et pertes de temps tant pour l'enseignant que pour l'étudiant.

Par contre, même s'ils nécessitent tous un temps d'adaptation(5), les outils numériques pédagogiques peuvent constituer une aide appréciable tant du point de vue organisationnel que pédagogique.

**Mots clés :** Plus value pédagogique - Activité étudiante - Pédagogies actives.

#### Références :

1. Romero M, Heiser L, Chiardola A, & Faller C. 2020. Poursuivre le programme ou assurer l'engagement ? Analyse des critères de continuité pédagogique et des transformations pédagogiques et en contexte de pandémie. *Formation et profession: revue scientifique internationale en éducation*, 28(4), 1-15.
2. Noben, N, Denis B, 2022. Les plus-values pédagogiques du numérique : représentations d'enseignants ayant mis en place des projets d'intégration du numérique dans leurs pratiques. In Plante, Patrick; Alexandre, Marie; Papi, Cathia et al. (Eds.) Actes du Colloque ROC 2021 : Solidarités numériques en éducation : une culture en émergence.
3. Lamine B, Petit L. 2014 . « Les boîtiers de réponse pour un apprentissage interactif en amphithéâtre. Une expérience d'accompagnement et d'évaluation par la recherche », in Lameul G, Loisy C, dir. (2014) : La pédagogie universitaire à l'heure du numérique. Regards croisés de chercheurs et de praticiens, Bruxelles, De Boeck Université.
4. Guilbault M, Viau-Guay A. 2017 . La classe inversée comme approche pédagogique en enseignement supérieur : état des connaissances scientifiques et recommandations. *Revue internationale de pédagogie de l'enseignement supérieur* [En ligne], 33(1) | 2017, consulté le 02 janvier 2020. URL : <http://journals.openedition.org/ripes/1193> ; DOI : <https://doi.org/10.4000/ripes.1193>
5. Fluckiger C, Bachy S, Daunay B. 2014. Les enseignants face aux ressources numériques. Une recherche didactique. *Journées Communication et Apprentissage Instrumentés en Réseau (JO-CAIR)*, Paris, France. hal-01379365.

**SP3-T - Innovations pédagogiques en microbiologie****SP3-T-1**

Innovations pédagogiques

**Évaluation du jeu BacteriUno en tant qu'outil pédagogique dans l'initiation à la bactériologie**Julien Delmas (julien.delmas@uca.fr)*Service de Bactériologie, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France*

Le jeu comme outil pédagogique est largement utilisé dans l'enseignement primaire et secondaire et son intégration dans l'enseignement supérieur suscitent un intérêt croissant. Le jeu BacteriUno a pour objectif d'aider les étudiants, ayant leurs premiers cours de bactériologie, à mémoriser le nom latin des espèces bactériennes, leur morphologie à la coloration de Gram et le nom de quelques antibiotiques représentant les différentes familles. La mécanique de ce jeu de cartes a été inspirée du jeu Uno. Il a été testé par 20 étudiants de DFGSM3 qui ont fait 12 à 20 manches sur 4 à 5 semaines. La réalisation d'un pré et post-test montre une amélioration significative de leur connaissance, même si elle reste très modeste. La comparaison de ce post-test par rapport à celui des étudiants non joueurs montre une augmentation significative de leur note. Ce jeu a été évalué de façon très positive par les étudiants qui le trouvent simple et ludique. Ils estiment que c'est un complément des cours de bactériologie favorisant l'acquisition des noms des espèces bactériennes et des antibiotiques, mais qu'il n'est pas très adapté à des étudiants n'ayant pas eu de cours de bactériologie. Plusieurs étudiants jugeaient que le nombre de parties jouées était insuffisant pour leur permettre d'assimiler les connaissances proposées, ce qui pourrait expliquer les faibles notes obtenues par les étudiants. Ce jeu pourrait donc être proposé aux étudiants s'initiant à la bactériologie et il est facilement adaptable aux différents domaines de la bactériologie en modifiant la liste des cartes.

*Mots clés* : Pédagogie active - Jeu de cartes - Apprentissage.



**SP3-T - Innovations pédagogiques en microbiologie****SP3-T-2****MIKROS : le Cluedo® des micro-organismes !**

Sylvain Meyer<sup>1,2</sup> (sylvain.meyer@unilim.fr), Lucie Laval<sup>1</sup>, Linda Tlili<sup>1</sup>, Camille Bataille<sup>1</sup>, Ana Catalina Hernandez Padilla<sup>1</sup>, Déborah Andouard<sup>1</sup>, Margaux Gaschet<sup>1</sup>, Marie-Cécile Ploy<sup>1,2</sup>, Yohann Lacotte<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR INSERM 1092 : RESINFIT, Université de Limoges, Limoges, France

<sup>2</sup> Service de Bactériologie Virologie Hygiène, CHU Limoges, Limoges, France

**Introduction :**

Lors de la Nuit Européenne des Chercheur.e.s 2019, l'UMR INSERM 1092 (Université de Limoges) a développé un jeu pédagogique, grand public, pour sensibiliser à la lutte contre les micro-organismes. Il favorise la discussion avec les scientifiques sur des questions telles que la transmission, la prévention et le traitement des infections. Intitulé Mikros, ce jeu inspiré du concept du Cluedo® possède des règles simples et connues dans le monde entier.

**Public :**

Tout public et tout âge (pour les plus jeunes il est conseillé d'être accompagné d'un adulte). De 1 à 6 joueurs, Mikros peut se jouer en individuel, en équipe ou en collaboratif avec l'ensemble des joueurs. La durée d'une partie est de 20 à 30 minutes.

Actuellement 3 infections bactériennes et 3 infections virales ont été développées.

**Règles du jeu :**

« Vous êtes en charge d'un patient, celui-ci arrive à l'hôpital avec des symptômes que vous découvrirez sur une fiche patient fournie. A vous de mener l'enquête et de récolter des indices en vous déplaçant dans les différentes pièces de l'hôpital. Comment est-il tombé malade ? Quel pathogène lui a causé cette maladie et quel traitement lui administrer ? ».

Dans chaque pièce visitée, le joueur lance un dé et gagne le droit de consulter une carte indice (plus la valeur du dé est forte, meilleur sera l'indice). Après avoir récolté suffisamment d'indices, le joueur peut rejoindre la pharmacie, y formuler son hypothèse et choisir le traitement qui lui semble adapté. Le premier joueur qui trouve l'agent pathogène, le mode de contamination et le bon traitement gagne la partie.

**Avantages :**

Le jeu Mikros permet de sensibiliser le grand public, mais également de rappeler aux scientifiques les principaux diagnostics liés à une symptomatologie, aux modes de transmission ainsi qu'au traitement adéquat.

La conception du jeu est telle qu'il est possible de rajouter de nouveaux scénarios plus ou moins complexes sous forme d'extension (exemple : SARS-CoV-2).

**Conclusion :**

Le jeu Mikros est un outil ludique de formation et de communication sur les infections bactériennes et virales et les voies de transmission, simple d'utilisation et adaptable à différents publics.

*Mots clés :* Jeu pédagogique - Enquête - Micro-organismes.

## SP3-T - Innovations pédagogiques en microbiologie

SP3-T-3

Soirée *Serious game* : Évaluation de l'impact pédagogique des jeux de société sur l'apprentissage des internes

Valentine Berti<sup>1</sup> (valentine.berti@aphp.fr), Anne-Lise Beaumont<sup>1</sup>, Théo Ghelfenstein-Ferreira<sup>1</sup>, Brune Joannard<sup>1</sup>, Salam Abbara<sup>2</sup>, Sarah Dellièrè<sup>3</sup>, Nicolas Pineros<sup>4</sup>, Gilbert Greub<sup>5</sup>, Mathilde Lescat<sup>4,6,7</sup>, Liem Binh Luong Nguyen<sup>7,8,9</sup>

<sup>1</sup> Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris, France

<sup>2</sup> U1018 Inserm, UVSQ, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>3</sup> Laboratoire de parasitologie et mycologie, Hôpital Saint Louis, AP-HP, Paris, France

<sup>4</sup> Université Sorbonne Paris Nord, Epinay Villetaneuse, France

<sup>5</sup> Institut de Microbiologie, Département des Laboratoires, CHUV, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse

<sup>6</sup> Laboratoire de Microbiologie Clinique, Hôpitaux Universitaires de Paris Seine-Saint-Denis Assistance Publique-Hôpitaux, Bobigny, France

<sup>7</sup> IAME, INSERM, Paris, France

<sup>8</sup> Université de Paris, Paris, France

<sup>9</sup> Centre d'investigation clinique, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France

Les *serious game* (jeux éducatifs) sont un moyen pédagogique innovant dans l'apprentissage de l'infectiologie et la microbiologie auprès des étudiants en santé (1). En 2019, une première soirée *serious game* destinée aux jeunes infectiologues et microbiologistes avait été organisée par le Réseau des Jeunes Microbiologistes Cliniques de la Société Française de Microbiologie et par le Réseau des Jeunes Infectiologues Français. Les résultats avaient montré une amélioration des scores de 52% à 74% sur l'apprentissage (2). L'objectif d'un deuxième évènement, le 24 mars 2022, avait pour but de confirmer ces premiers résultats.

La deuxième soirée *serious game* a eu lieu le 24/03/2022 pendant 4 heures, avec 4 groupes sur 4 sessions de 30 minutes, une par jeu pédagogique : Bacteria game, KROBS et Dawaa déjà décrits précédemment (2) et une session d'échanges entre participants. Nous avons d'abord évalué d'une part l'expérience utilisateur des jeux de la soirée par 5 questions utilisant une échelle de Likert notées de 1 à 7 et d'autre part l'acquisition de connaissances par questionnaires. La comparaison avant/après des scores, calculés par la somme des réponses correctes moins la somme des réponses incorrectes, a été faite avec le test de Wilcoxon. Les questionnaires initiaux (Q-go) et post-soirée (Q-return) comportaient 7 à 9 QCM de 5 items chacun. L'ordre des questionnaires a été inversé entre les soirées.

Sur la deuxième soirée, 18 participants de 27 ans d'âge médian (15 infectiologues, 3 microbiologistes). L'évaluation qualitative de la soirée montre un avis positif des internes (moyenne 6,7/7) sur l'apport de cette soirée pédagogique sur la formation. Cependant, on ne retrouve pas l'effet observé au cours de la première soirée. L'explication pouvant être le semestre des participants, significativement plus avancé au cours de la deuxième soirée (3,6 vs 5,8, pvalue=0,0079) avec une plus faible marge de progression ou encore une différence de difficulté entre les questionnaires. Nos résultats questionnent notre méthodologie d'évaluation sur l'acquisition des connaissances. Le type d'évaluation choisi n'étant probablement pas le meilleur moyen d'évaluer ce genre de session, des évaluations à plus large échelle avec des méthodes adaptées sont essentielles pour conclure sur l'intérêt des *serious game*.

**Mots clés** : Pédagogie - Jeux - Formation.

## Références :

1. Wu WH, Hsiao HC, Wu PL, Lin CH, Huang SH, 2012, Investigating the learning-theory foundations of game-based learning: a meta-analysis, J Comput Assist Learn. 28(3):26579.
2. Ghelfenstein-Ferreira T, Beaumont AL, Dellièrè S, Peiffer-Smadja N, Pineros N, Carbonnelle E, Gilbert Greub, Salam Abbara, Liem Binh Luong Nguyen, et Mathilde Lescat. 2021, An Educational Game Evening for Medical Residents: A Proof of Concept to Evaluate the Impact on Learning of the Use of Games, J Microbiol Biol Educ. 22(2):e00119-21.

**SP3-T - Innovations pédagogiques en microbiologie****SP3-T-4****Utilisation de Labster, un outil de simulations en laboratoire virtuel, en enseignement de microbiologie. Retour d'expérience**

Maud Salmona<sup>1</sup> (maud.salmona@aphp.fr), Etienne Ruppé<sup>2</sup>, Sarah Delière<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Virologie, Hôpital Saint Louis, APHP - Université Paris-Cité, Paris, France*

<sup>2</sup> *Bactériologie, Hôpital Bichat, APHP - Université Paris-Cité, Paris, France*

<sup>3</sup> *Parasitologie-Mycologie, Hôpital Saint Louis, APHP - Université Paris-Cité, Paris, France*

**Introduction et objectifs :**

L'UFR de médecine de l'Université Paris-Cité a récemment mis en place un parcours d'initiation à la recherche. A cette occasion, nous avons créé une nouvelle UE Recherche « Nouvelles méthodes en microbiologie clinique », avec pour objectif d'initier les futurs professionnels de la santé aux technologies innovantes et de leur en expliquer les limites et avantages. Pour l'année 2021-2022, nous avons intégré à cette UE un outil de simulation en laboratoire virtuel.

**Matériels et méthodes :**

Après un rappel de cours concernant l'utilisation de la PCR en microbiologie, et une séance de travaux pratiques avec la création d'amorces et la réalisation de PCR *in silico*, nous avons proposé aux 27 étudiants de l'UE de réaliser une simulation en laboratoire virtuel. Cette simulation d'une durée estimée de 33 minutes a pour objectifs (i) d'expliquer le fonctionnement de la PCR; (ii) de réaliser une expérience de PCR en utilisant l'ADN d'un échantillon de sang comme matrice ; (ii) d'effectuer une électrophorèse sur gel. La simulation comporte également 32 QCM auxquels l'étudiant doit répondre à chaque étape. Le logiciel Labster a permis d'obtenir les statistiques d'utilisation pour chaque étudiant. Un questionnaire de retour sur l'utilité de Labster a été proposé aux étudiants. A la question « Avez-vous trouvé l'activité Labster utile ? » les étudiants pouvaient répondre selon une échelle de Likert (1« pas du tout d'accord », 2« pas d'accord », 3« sans opinion », 4« d'accord », 5« tout à fait d'accord »).

**Résultats, discussion et conclusion :**

96% des étudiants (26/27) ont réalisé la simulation, et 93 % l'ont terminée (25/27). La durée médiane de la simulation était de 35 minutes. Le taux de bonnes réponses aux QCM était de 93% (40-98%). Un rappel pour chaque notion où les QCMs avaient moins de 50% de réussite a été réalisé au cours suivant. Le taux de réponses au questionnaire de retour des étudiants était de 41 %. La question concernant Labster a obtenu la note moyenne de 4,8. Pour conclure, Labster semble être un outil pédagogique intéressant pour initier les étudiants à différentes techniques de laboratoire dans un cadre ludique.

**Mots clés :** Laboratoire virtuel - PCR - Pédagogie - Enseignement.

## SP3-T - Innovations pédagogiques en microbiologie

SP3-T-5

**Évaluation et comparaison de deux enseignements multidisciplinaires sur les antibiotiques reposant sur une forte participation des étudiants à la construction du contenu**

Matthieu Eveillard<sup>1,2</sup> (MaEveillard@chu-angers.fr), Samuel Legeay<sup>1</sup>, Rafael Mahieu<sup>3</sup>, Olivier Duval<sup>1</sup>, Nicolas Papon<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculté de Santé - Département Pharmacie, Université d'Angers, Angers, France

<sup>2</sup> LIRFE, Université Catholique de l'Ouest, Angers, France

<sup>3</sup> Service des maladies infectieuses et tropicales, CHU d'Angers, Angers, France

**Introduction et objectifs :**

Les enseignements multidisciplinaires et les travaux de groupe ont aujourd'hui toute leur place dans les études de santé en raison des caractéristiques de la future vie professionnelle des étudiants. Notre objectif était d'évaluer et de comparer deux enseignements multidisciplinaires dans lesquels il est demandé à des étudiants de troisième année de pharmacie de s'engager en groupes dans la construction du contenu.

**Matériels et méthodes :**

L'étude a porté sur deux enseignements : « antibiotiques » (ATB) mobilisant trois disciplines (bactériologie, pharmacocinétique et pharmaco-chimie) et « diarrhées d'origine infectieuse » (DI) mobilisant deux disciplines (bactériologie et parasitologie). Au cours de ces enseignements comportant trois séances chacun, les étudiants devaient par groupes de cinq créer un cas *ex nihilo* et poser des questions sur ce cas (DI) ou poser des questions à partir d'une vignette (court énoncé présentant des données cliniques, chimiques et biologiques) (ATB). L'évaluation des enseignements a été réalisée par questionnaires et à l'aide de deux groupes de discussion.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Au total, 68% des étudiants préféraient cette forme pédagogique à des formats d'enseignement classiques. Plus de 90% considéraient avoir réellement construit l'enseignement avec les autres étudiants de leur groupe et avec les enseignants et plus de 95% ont apprécié l'ambiance de travail. Environ 70% ont déclaré avoir bien synthétisé l'ensemble des informations apportées (74% pour ATB et 66% pour DI). La comparaison des deux enseignements indique que 21% seulement préféraient intégralement créer le cas plutôt que de poser des questions à partir d'une vignette. Enfin, 58% déclaraient préférer travailler sur des cas proposés par l'enseignant. D'après les groupes de discussion, certains étudiants ont en effet le sentiment d'une perte d'informations liée à la construction des cas par rapport à des cas déjà construits dans lesquels ils ont plus confiance. Parallèlement, ils se sentent plus sécurisés lorsqu'ils travaillent à partir d'une vignette que lorsqu'ils doivent tout construire.

Même si les étudiants ont apprécié les formats proposés et s'y sont fortement engagés, ils semblent plus confiants et sécurisés lorsque l'enseignant est plus directif. Ceci souligne l'importance de la posture d'accompagnateur de ce dernier dans les pédagogies actives.

**Mots clés :** Co-construction - Enseignement supérieur - Transfert des apprentissages - Multidisciplinarité - Antibiotiques.

**SP3-T - Innovations pédagogiques en microbiologie****SP3-T-6**

Innovations pédagogiques

**TIACEscape : Investigation d'une Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC) en mode immersif**Narjes Mtimet (narjes.mtimet@vet-alfort.fr), [Michel Federighi](#)*HQSA, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France*

Un escape game est un jeu immersif dont l'objectif est de mener une enquête et résoudre en un temps limité une série d'énigmes afin de pouvoir s'évader. Ce format a été adopté et adapté pour une séance de travaux pratiques dispensée aux étudiants de la première année des études vétérinaires. L'intérêt pédagogique de ce format Escape Game était de pouvoir associer à leur apprentissage scientifique un apprentissage des soft skills tels que la communication, la cohésion de groupe et la gestion du temps et du stress.

TIACEscape est un jeu qui simule une enquête vétérinaire d'investigation de toxi-infection alimentaire collective (TIAC). Cette TIAC est survenue suite à la consommation d'un repas contaminé par l'entérotoxine staphylococcique (*Staphylococcus aureus*) par des élèves d'école maternelle. Afin d'identifier l'agent responsable de cette TIAC, l'étudiant doit résoudre une succession d'énigmes en se servant d'indices qui vont l'amener à réaliser successivement une coloration de Gram, une observation microscopique, un test catalase et utiliser aussi une clé d'identification. Ainsi l'acquisition des compétences de base en microbiologie a été associée à une démarche ludique, interactive et stimulante en plus d'une familiarisation avec des notions liées à la santé publique vétérinaire qui seront consolidées tout au long de leurs parcours. Ce format a été testé sur deux groupes de vingt étudiants et le retour sur le déroulement de cette séance était positif et encourageant.

Un deuxième scénario d'escape game est en cours de développement afin de proposer aux étudiants la possibilité d'enquêter sur un agent à Gram positif ou à Gram négatif responsable de TIAC.

*Mots clés* : Escape game - TIAC - Jeu immersif - Soft skills.

**SP4 - Extremophiles et autres extravagances****SP4-O.1**

Environnement

**Biogeography of bathyal and abyssal seafloor Bacteria and Archaea along a Mediterranean – Atlantic gradient**

Blandine Trouche<sup>1</sup> (Blandine.Trouche@univ-brest.fr), Miriam Brandt<sup>2</sup>, Caroline Belser<sup>3</sup>, Covadonga Orejas<sup>4</sup>, Stéphane Pesant<sup>5</sup>, Julie Poulain<sup>3</sup>, Patrick Wincker<sup>3</sup>, Jean-Christophe Auguet<sup>6</sup>, Sophie Arnaud-Haond<sup>2</sup>, Loïs Maignien<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR BEEP, Univ. Brest, CNRS, IFREMER, Plouzané, France

<sup>2</sup> MARBEC, Univ. Montpellier, Ifremer, IRD, CNRS, Sète, France

<sup>3</sup> Géoscope, Evry, France

<sup>4</sup> Centro Oceanográfico de Baleares, Instituto Español de Oceanografía, Palma de Mallorca, Espagne

<sup>5</sup> European Bioinformatics Institute, European Molecular Biology Laboratory, Hinxton, Royaume-Uni

<sup>6</sup> MARBEC, Univ. Montpellier, Ifremer, IRD, CNRS, Montpellier, France

**Introduction and Objectives:**

Seafloor sediments cover the majority of planet Earth and microorganisms inhabiting these environments play a central role in marine biogeochemical cycles. Yet, description of the biogeography and distribution of sedimentary microbial life is still too sparse to evaluate the relative contribution of processes driving this distribution, such as the levels of drift, connectivity, and specialization.

**Material and Methods:**

To address this question, we analyzed 210 archaeal and bacterial metabarcoding libraries from a standardized and horizon-resolved collection of sediment samples from 18 stations along a longitudinal gradient from the eastern Mediterranean to the western Atlantic.

**Results, Discussion and Conclusion:**

Overall, we found that biogeographic patterns depended on the scale considered: while at local scale the selective influence of contemporary environmental conditions appeared strongest, the heritage of historic processes through dispersal limitation and drift became more apparent at regional scale, and ended up superseding contemporary influences at inter-regional scale. When looking at environmental factors, the structure of microbial communities was correlated primarily with water depth, with a clear transition between 800 and 1200 meters below sea level. Oceanic basin, water temperature, and sediment depth were other important explanatory parameters of community structure. Finally, we propose increasing dispersal limitation and ecological drift with sediment depth as a probable factor for the enhanced divergence of deeper horizons communities.

*Mots clés* : Benthic microbiology - Metabarcoding - Biogeography - Distance-decay relationship - Dispersal limitation.

**SP4 - Extremophiles et autres extravagances****SP4-1****Environnement****Les microorganismes magnétotactiques**

Caroline Monteil<sup>1</sup> (caroline.monteil@cea.fr), Karim Benzerara<sup>2</sup>, Nicolas Menguy<sup>3</sup>, Elodie Duprat<sup>4</sup>, David Vallenet<sup>5</sup>, Raphaël Meheust<sup>5</sup>, Stéphanie Fouteau<sup>5</sup>, Camille Mangin<sup>1</sup>, Romain Bolzoni<sup>6</sup>, Cynthia Travert<sup>2</sup>, Béatrice Alonso<sup>1</sup>, Ferial Skouri-Panet<sup>4</sup>, Eric Viollier<sup>7</sup>, Didier Jézéquel<sup>8</sup>, Christopher Lefèvre<sup>6</sup>

<sup>1</sup> BIAM, CEA, Saint-Paul-lez-Durance, France

<sup>2</sup> IMPMC, CNRS, Paris, France

<sup>3</sup> UMR 7590 CNRS MNHN, IMPMC, Paris, France

<sup>4</sup> IMPMC, MNHN, Paris, France

<sup>5</sup> LABGeM, Génomique Métabolique, Genoscope, CEA, Évry, France

<sup>6</sup> BIAM, CNRS, Saint-Paul-lez-Durance, France

<sup>7</sup> LSCE, Université de Paris-Cité, Paris, France

<sup>8</sup> IPGP, Université de Paris-Cité, Paris, France

Les microorganismes peuvent percevoir leur environnement et s'adapter à leurs fluctuations grâce à différents systèmes de senseurs dédiés à toutes sortes de signaux physico-chimiques. Le champ magnétique terrestre ne fait pas exception à la règle, et certains microorganismes magnétotactiques ont élaboré des organites et des stratégies écologiques afin de l'exploiter et s'en servir pour naviguer dans les milieux aquatiques. Depuis quelques années maintenant, notre consortium étudie la diversité de ces organismes, leur biologie et leur évolution, mais s'en sert également pour révéler et caractériser l'ensemble des nano-minéraux qu'ils sont capables de synthétiser. Nous menons des campagnes d'échantillonnage dans différents environnements aquatiques dont nous caractérisons également la géochimie. Les populations de microorganismes magnétotactiques sont concentrées magnétiquement et caractérisées par une combinaison d'approches de microbiologie environnementale, génomique et de minéralogie par des méthodes dépendantes et indépendantes de la culture. Ici, nous vous proposons de présenter quelques-unes des dernières avancées sur la thématique.

**Mots clés :** Microbiologie environnementale - Biominéralisation - Microorganismes magnétotactiques.

## SP4 - Extremophiles et autres extravagances

SP4-2

Environnement

## Méthylation du mercure et impact des interactions microbiennes sur son cycle biogéochimique

Diva Scuvee (diva.scuvee@univ-pau.fr), Marisol Goñi Urriza, Bahia Khalfaoui Hassani, Rémy Guyoneaud

Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, CNRS, IPREM UMR 5254, Pau, France

Le mercure (Hg) est un polluant global qui peut être transformé par certains micro-organismes en monométhylmercure (MMHg) un composé neurotoxique, bioamplifié et bioaccumulé dans les chaînes trophiques. Le périphyton est un mélange complexe d'algues et de bactéries retrouvés sur les racines de certains macrophytes (plantes aquatiques). Il est à la base de la chaîne trophique et présente un haut potentiel de méthylation. L'objectif de notre étude est d'identifier et caractériser les microorganismes méthylateurs du périphyton de *Ludwigia sp.*, une plante aquatique retrouvée dans le lac Sanguinet (Landes, France) afin de comprendre les interactions entre ces microorganismes méthylateurs et d'autres souches microbiennes et l'effet de ces interactions sur le cycle du Hg. Nous étudions la communauté dans sa globalité et la composition de consortia sélectionnés grâce à des marqueurs moléculaires spécifiques de la méthylation. Ces travaux se portent sur le périphyton se développant sur *Ludwigia sp.* dans le lac Sanguinet (lac d'eau douce du sud-ouest de la France). Les principaux méthylateurs dans ce périphyton sont des sulfato-réducteurs affiliés aux *Desulfovibrionaceae* et *Desulfobulbaceae*. Différents potentiels de méthylations ont pu être mesurés dans les consortia, ce qui confirme le périphyton comme une source potentielle de MeHg dans cet écosystème. L'analyse taxonomique par l'ARN 16S a permis d'identifier la composition microbienne de ces consortia. Les micro-organismes retrouvés dans ces consortia associés aux méthylateurs sont affiliés aux *Alphaproteobacteria*, *Bacteroidia*, *Clostridia*, ou *Betaproteobacteria*.

Parmi les *Betaproteobacteria*, des bactéries phototrophes affiliées aux *Rhodocyclaceae*, capables de réduire le Hg, sont fréquemment retrouvés. Dans cet environnement, les bactéries phototrophes présentes pourraient entrer en compétition avec les méthylateurs pour le Hg inorganique. De plus, parmi les *Gammaproteobacteria*, des espèces chimiotrophes sont capables d'hydrolyser les complexes Hg-sulfures formés suite à la production de ces sulfures par les sulfato-réducteurs. Ces bactéries sont donc en mesure d'impacter la biodisponibilité du Hg dans cet environnement complexe et indirectement, le cycle biogéochimique du Hg. Ces consortia représentent des systèmes simplifiés permettant l'étude des transformations du Hg et les interactions qui peuvent avoir lieu dans le périphyton favorisant ou limitant la production du MeHg, forme la plus toxique du Hg, représentant une menace la santé.

**Mots clés :** Mercure - Interactions microbiennes - Periphyton - hgcA - Environnement.



**SP4 - Extremophiles et autres extravagances****SP4-3****Environnement****Les *Pseudomonas* fluorescents, une stratégie de bioremédiation des déchets amiantés**

Marion Lemare (mlemare@unistra.fr), Coraline Rigouin, Valérie Geoffroy

BSC, CNRS UMR 7242, Illkirch-Graffenstaden, France

**Introduction et objectifs :**

Les fibres d'amiantes présentent de nombreux risques pour la santé, notamment liés à la présence de fer à l'origine d'apparition de cancers. Les déchets amiantés sont composés majoritairement de fibres de silice et de divers métaux comme le magnésium ou le fer, éléments indispensables à la croissance des microorganismes. L'objectif du projet est de développer un procédé de bioremédiation permettant de neutraliser la toxicité de ces déchets par élimination du fer. Le laboratoire a récemment montré que les bactéries du genre *Pseudomonas*, productrices de sidérophores, peuvent utiliser les amiantes comme source d'éléments nutritifs par extraction du fer et du magnésium des fibres [1].

**Matériel et méthodes :**

Les pyoverdines, sidérophores sécrétés par les *Pseudomonas*, possèdent une forte affinité pour le fer. La synthèse de ces derniers est réprimée, en présence de fer, via le régulateur Fur (Ferric Uptake Regulator). Au contact d'amiantes, la répression de cette synthèse a été observée compte tenu de la biodisponibilité du fer présent dans les fibres. Pour lever cette inhibition, des mutants bactériens dont la production de pyoverdine est régulée différemment ont été construits. Une fois caractérisés, les mutants ont été testés pour leur capacité à dégrader les amiantes durant plusieurs cycles d'altération. La dissolution des fibres a été évaluée par dosage du fer et du magnésium dans le surnageant de culture et les extraits cellulaires ainsi que dans les fibres par MET-EDX.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Deux mutants ont ainsi été générés. Un premier mutant chez *P. aeruginosa* présente une production de pyoverdine inductible à l'arabinose et un second, construit chez *P. putida*, présente une production constitutive. La production de pyoverdine est ainsi indépendante de la présence du fer, permettant une dissolution continue des fibres d'amiantes lors des cycles d'altération. Cette stratégie permet une extraction plus importante et continue du fer des déchets. De plus, une dissolution active du magnésium par les mutants contribue également à leur altération [2]. Ce procédé constitue une alternative biologique prometteuse pour la gestion de ces déchets, représentant une problématique sociétale majeur.

**Mots clés :** Pseudomonas - Pyoverdine - Régulation - Amiantes - Dégradation.

**Références :**

1. David SR, Geoffroy VA. 2020. A review of asbestos bioweathering by siderophore-producing *Pseudomonas*: a potential strategy of bioremediation. *Microorganisms*. 8:1870.
2. Lemare M et al. 2022 (in press). Engineering siderophore production in *Pseudomonas* to improve asbestos weathering. *Microb. Biotechnol.*

## SP4 - Extremophiles et autres extravagances

SP4-4

Environnement

**Evolution des bactéries électroactifs dans la bioremédiation électrochimique des sols contaminés avec des hydrocarbures pétroliers**Azariel Ruiz-Valencia<sup>1</sup> (azariel.ruiz-valencia@ec-lyon.fr), Timothy M. Vogel<sup>2</sup>, Christoph Keuschnig<sup>1</sup><sup>1</sup> Environmental Microbial Genomics Group, Laboratoire Ampère/Ecole Centrale de Lyon, Ecully, France<sup>2</sup> Environmental Microbial Genomics Group, Laboratoire Ampère/Université Claude Bernard Lyon 1, Ecully, France**Introduction et objectifs :**

Les hydrocarbures pétroliers sont un problème constant depuis le siècle dernier. Malgré les efforts déployés sur différentes technologies, la bioremédiation semble être le moyen le plus efficace de traiter les sites pollués par ces composés [1]. Les systèmes bio-électrochimiques mettent en valeur les micro-organismes qui transfèrent des électrons aux électrodes, et ainsi améliorer la biodégradation des hydrocarbures dans des conditions limitées en accepteurs d'électrons, soit en dégradant directement les hydrocarbures, soit en aidant les bactéries qui le peuvent en consommant leurs métabolites. L'objectif de ce travail est d'étudier le développement de micro-organismes électroactifs après avoir placé des électrodes sur des piles à combustible microbiennes.

**Matériels et méthodes :**

La production de tension a été suivie pendant deux mois pour huit différents sols contaminés, et l'évolution de la population bactérienne a été suivie par séquençage d'amplicons au début et à la fin de l'expérience. Après, des ajouts d'acétate et boues d'épuration ont été fait sur des nouveaux systèmes.

**Résultats, discussion et conclusion :**


La présence des électrodes a influencé la composition du microbiome en augmentant l'abondance des bactéries électroactives pour tous les sols, malgré les faibles performances en matière de production de tension. Une analyse NMDS a montré que les populations bactériennes sont devenues plus similaires avec le temps écoulé. Pour le deuxième parti, la qPCR a été utilisée pour évaluer le nombre total de bactéries, les gènes de dégradation des hydrocarbures, et les *Geobacter* électroactives. Dans les échantillons issus des anodes, l'acétate ajouté a augmenté l'abondance de bactéries totales et de *Geobacter* après le premier mois. L'ajout de boues d'épuration a montré une augmentation de la population de *Geobacter* après le deuxième mois. L'effet synergique des deux paramètres a élevé la quantité de bactéries aux deux moments de l'échantillonnage. L'addition d'acétate a produit un maximum de 12mV avec une diminution à presque zéro. Le système avec les boues d'épuration a produit seulement 10mV, diminuant à 5mV après 60 jours.

L'abondance de *Geobacter* augmente temporairement avec l'ajout d'acétate, et pour assurer son maintien il est nécessaire d'une communauté diverse qui participe à la dégradation des hydrocarbures pour fournir une source carbonée.

**Mots clés :** Biopiles - *Geobacter* - séquençage.


**Références :**

1. Konur O. 2021, Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons in Contaminated Soils: A Review of the Research. *Petrodiesel Fuels*. May 5:995-1013.

**SP5 - Tropical parasitoses** (in association with SFP) **SP5-O.1****Bilharziose uro-génitale en Corse du sud : histoire de l'endémisation d'une maladie tropicale dans le sud de l'Europe**Jérôme Boissier (boissier@univ-perp.fr)*IHPE UMR 5244, Université de Perpignan, Perpignan, France*

Au printemps 2014, en France et en Allemagne, ont été diagnostiqués deux jeunes enfants atteints de Bilharziose uro-génitale. Cette maladie est bien connue dans les pays du sud car elle affecte plus de 250 millions de personnes, principalement en Afrique. Aucune des deux familles auxquelles appartenaient ces enfants n'avaient voyagé dans une zone endémique à la Bilharziose uro-génitale. Très rapidement l'enquête s'est focalisée sur la Corse du Sud où une première rivière, la rivière du Cavu, a été suspectée pour héberger ce pathogène transmis dans les eaux douces. En 2014, une vaste enquête épidémiologique en Corse et sur le continent, a montré que plus de 100 personnes ont été contaminées lors de l'été 2013 dans la rivière du Cavu. Après cette première émergence des cas ont été diagnostiqués tous les étés, dans la rivière du Cavu mais aussi dans la Solenzara (20 km au nord du Cavu). L'analyse génomique du parasite incriminé a montré qu'il s'agit d'un hybride entre *Schistosoma haematobium* (agent de la Bilharziose uro-génitale) et *S. bovis*, un parasite du bétail et des rongeurs. Craignant une transmission zoonotique de vastes enquêtes sérologiques sur le bétail (ovin, caprin et bovin) et des piégeages de rongeurs ont été organisés. Cette présentation propose de retracer l'émergence et l'endémisation de ce pathogène tropical dans le sud de l'Europe. Cet exposé montrera l'importance des approches One Health dans la compréhension des émergences.

*Mots clés* : One Health - Schistosoma - Reservoir - Emergence.


**SP5 - Tropical parasitoses** (in association with SFP) **SP5-O.2****The RNA-binding protein RBP33 dampens non-productive transcription in trypanosomes**

Antonio Estévez (aestevez@ipb.csic.es), Gloria Ceballos-Pérez, Elena Gómez-Díaz, Claudia Gómez-Liñán

*Instituto de Parasitología y Biomedicina «López-Neyra», IPBLN-CSIC, Armilla (Granada), Espagne*

Trypanosomes are single-celled eukaryotes with a very unusual genome architecture. In these organisms, protein-coding genes are organized in large polycistronic transcription units, and individual mRNAs are generated by coupled *trans*-splicing and polyadenylation reactions. Initiation and termination of RNA pol II transcription occur at a limited number of sites per chromosome. While some information regarding transcription initiation is available, very little is known about the regulators involved in transcription termination. We show here that depletion of the RNA-binding protein RBP33 leads to a marked accumulation of transcripts derived from termination sites and expression of silenced subtelomeric genes. RBP33 loss does not result in an apparent increase in chromatin accessibility at termination sites, as judged by ATAC-seq analysis. Finally, we have found that transcripts derived from termination sites are significantly more stable in RBP33-depleted trypanosomes, and that the exosome complex is responsible for their degradation. Our experiments provide strong evidence that RBP33 dampens non-productive transcription in trypanosomes.

*Mots clés* : Transcription termination - *Trypanosoma brucei* - RNA exosome - Chromatin accesibility - Pervasive transcription.

**SP5 - Tropical parasitoses** (in association with SFP) 

SP5-1

**Epidemiological profile of intestinal protozoan infection in Dakar, Senegal: Results from hospital based survey**Khadime Sylla<sup>1,1</sup> (khadimesylla@yahoo.fr)*Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal***Background:**

Intestinal parasitic infections, especially intestinal protozoan parasites remain significant remain public health problem in Senegal. Several studies have demonstrated the endemicity of the diseases. The study was carried out with the objective of assessing the epidemiological profile of intestinal protozoan infection diagnosed at Fann teaching hospital in Dakar.

**Materials and Method:**

A retrospective study was conducted from 2016 to 2020. Samples were collected from patients attending to the laboratory for parasitological confirmation. Fresh stool samples were observed using direct examination, formal-ether concentration method and modified Zeilh Nielsen staining method. Descriptive analysis was performed using Stata MP 16 software. The significance level was set at 5%.


**Results:**

Among 3825 patients selected in the study, 1009 were found with at least one intestinal protozoan parasite representing an overall prevalence of 26.4% [CI 95% (24.7– 28)]. Mono-parasitic and bi-parasitic infection represent 81.6% and 18.2% respectively while polyparasitism was observed in 26 patients representing 2,6%. Among positive samples, 16 (8.7%) were associated with helminths. *Blastocystis hominis* (40.8%), *Cyst Entamoeba Coli* (32.9%), *Cyst Endolimax nana* (8.2%) and *Giardia intestinalis* (7.7%) were mainly observed. Trophozoites of *Entamoeba Coli* and *Entamoeba histolytica* were observed with 5.3% and 1.3% respectively. Frequency of intestinal protozoa was higher in the 15 – 30 age group (28.3%) and in male group (26.9%). The parasite carriage was most important during the wet season comparing the dry season ( $p = 0.65$ ). Asymptomatic patients (29.5%) were more infected than symptomatic patients (23.5%) ( $p < 10^{-3}$ ). The main clinical symptoms were diarrhea, abdominal pain, dysenteric syndrome, fever, dyspeptic disorders, and vomiting.

**Conclusion:**

These results showed that intestinal protozoan infections remain prevalent in Senegal with a high proportion of asymptomatic who constitute an important reservoir of parasites. Effective control strategies such as water supply, hands washing, and mass deworming campaign could reduce the prevalence of these diseases.

*Mots clés* : Intestinal protozoan - Epidemiology - Fann Hospital - Sénégal.

**SP5 - Tropical parasitoses** (in association with SFP) 

SP5-2

**La maladie du sommeil éliminée d'ici 2030 ? Le point sur les grands défis qu'il reste à relever**Jean-Mathieu Bart (jean-mathieu.bart@ird.fr)*UMR INTERTRYP (IRD/CIRAD), Montpellier, France et Programme National de Lutte contre la Trypanosomiase Humaine Africaine (PNLTHA), Conakry, Guinée*

Avec moins de 1000 cas de Trypanosomiase Humaine Africaine (THA), ou maladie du sommeil, officiellement diagnostiqués chaque année depuis 2019, la transmission de cette maladie est sur le chemin de l'interruption. L'OMS a fixé à l'horizon 2030 la fin des contaminations humaines. Si cette perspective semble optimiste, des raisons objectives, telles que l'amélioration des stratégies de dépistage, de prise en charge médicale des patients ou de lutte anti-vectorielle, sont en faveur de l'atteinte de cet objectif. Néanmoins, durant la dernière décennie, certains paradigmes - issue fatale de la maladie en l'absence de traitement, présence exclusive des trypanosomes dans les fluides corporelles ou caractère anthroponotique de la transmission - ont été bousculés. Nous expliquerons comment les recherches, en lien avec les activités de lutte contre la THA, viennent alimenter et enrichir les connaissances sur la biologie et l'épidémiologie du parasite et permettent d'ajuster les stratégies mise en place pour l'éliminer, en prenant en compte les caractéristiques des foyers. Nous illustrerons nos propos à partir des recherches menées par l'IRD et ses partenaires en Afrique de l'Ouest (Guinée, Côte d'Ivoire) et Afrique Centrale (Cameroun, République Démocratique du Congo) sur les patients asymptomatiques, les trypanosomes dermiques et le réservoir animal.

**SP6-T - Microbiote****SP6-T-O.1**

Microbiote

**Microbiote et plaies chroniques**Catherine Dunyach-Remy (catherine.remy@chu-nimes.fr)*Microbiologie et hygiène hospitalière, Inserm U1047 - CHU de Nîmes, Nîmes, France*

Les plaies chroniques incluant les escarres, les ulcères de pied chez le patient diabétique et les ulcères veineux affectent principalement les personnes âgées et polypathologiques. Elles ont un impact non seulement sur la qualité de vie des patients mais également sur le système de santé et constitue un enjeu majeur de santé publique. Ces plaies chroniques sont des plaies polymicrobiennes qui peuvent être colonisées à la fois par des micro-organismes issus du microbiote cutané mais également par des bactéries environnementales.

Ces plaies abritent une niche écologique associée à une diversité bactérienne importante, ces bactéries étant souvent regroupées au sein d'un biofilm qui favorise le retard de cicatrisation, les échanges bactériens et potentiellement une infection pouvant toucher les tissus profonds et l'os. La composition du biofilm dépend d'une architecture organisée évoluant dans le temps. En effet, des successions de communautés bactériennes sont principalement associées au débridement qui va permettre la transition d'une espèce bactérienne majoritairement présente à une autre et aux mécanismes de compétition et/ou collaborations microbiennes. Tout ceci forme un réseau complexe d'espèces interagissant en continu.

Contribuant au devenir de la plaie par la diversité des interactions antagonistes et/ou synergétiques survenant entre les microorganismes présents, la compréhension de ces interactions est essentielle à l'amélioration de la prise en charge des plaies chroniques.

## SP6-T - Microbiote

SP6-T-1

Microbiote

**Pressure ulcer and delay of healing: role of *Proteus mirabilis* and Gram positive anaerobic cocci**

Martin Fayolle<sup>1</sup> (fayolle.martin@gmail.com), Lucia Grenga<sup>2</sup>, Anthony Gelis<sup>3</sup>, Jean Armengaud<sup>2</sup>, Jean-Philippe Lavigne<sup>1</sup>, Catherine Dunyach-Remy<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Microbiologie et Hygiène Hospitalière, INSERM U 1047 VBIC, Nîmes, France

<sup>2</sup> CEA Marcoule, Li2D, laboratory Progenomix National IBISA platform, Bagnols-sur-Cèze, France

<sup>3</sup> Clinique Mutualiste Propara, Montpellier, France

Decubitus Pressure Ulcers (PU) are frequently polymicrobial and can be colonised by numerous bacteria. Some bacteria considered as non-pathogenic organise themselves individually in a pathogroup to live in symbiosis, and have a potential role in delayed wound healing. In this context, the CHU of Nîmes and the Propara Neurological Rehabilitation Center (Montpellier) conducted a cohort study of spinal cord injured patients with decubitus PU (stage III or IV). PU samples (biopsies) were collected at inclusion and 28 days later to assess the role of bacterial colonisation in delayed wound healing. Metabarcoding results showed that Gram-negative bacteria (*Proteus* spp), and Gram-positive anaerobic cocci (*Anaerococcus* spp) were strongly correlated with PU that have a poor outcome, and thus formed a pathogroup. In this context, we phenotypically characterised this pathogroup isolated from a decubitus PU biopsy that stagnates over time.

Growth profiles, biofilm formation (bacterial counts), and motility tests of *Anaerococcus prevotii* and *Proteus mirabilis* in mono and co-culture were performed. Proteomic analysis was also performed to identify protein interactions between these 2 bacteria.

Phenotypic tests showed that *A. prevotii* and *P. mirabilis* can grow together in co-culture. More in co-culture, *A. prevotii* seems to have a longer exponential phase and the biomass formed (stationary phase) seems to be higher in co-culture. The biomass of *A. prevotii* is also significantly higher in co-culture in the biofilm study. *A. prevotii* could be trapped within the biofilm formed by *P. mirabilis*. Proteomic analyses showed that *A. prevotii* may modulate the motility of *P. mirabilis*. Our hypothesis is that the presence of *P. mirabilis* could modify the synthesis of short-chain fatty acids of *A. prevotii* which modifies the motility of *P. mirabilis*. Motility tests showed an increase in the swarming motility of *P. mirabilis* in the presence of *A. prevotii*.

This study establishes a primary basis in the description of the pathogroup composed by *A. prevotii* and *P. mirabilis*, which are involved in delayed healing of PU. These bacteria organise themselves into a pathogenic biofilm. Local and targeted treatment against Gram-negative bacteria and Gram-positive anaerobic cocci can be effective in improving wound healing.

**Mots clés :** Wound microbiota - Pathogroup - *Proteus mirabilis* - Gram positive anaerobic cocci.

**Références :**

1. Dunyach-Remy, C., Salipante, F., Lavigne, JP. et al. Pressure ulcers microbiota dynamics and wound evolution. Sci Rep 11, 18506 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98073-x>



## SP6-T - Microbiote

SP6-T-2

Microbiote

**Exploring associations between the use of menstrual cups or tampons and the vaginal environment**

Nicolas Tessandier<sup>1</sup> (nicolas.tessandier@ird.fr), Ilkay Basak Uysal<sup>2</sup>, Baptiste Elie<sup>2</sup>, Christian Selinger<sup>2</sup>, Claire Bernat<sup>3</sup>, Vanina Boué<sup>2</sup>, Sophie Grasset<sup>2</sup>, Soraya Groc<sup>2</sup>, Tsukushi Kamiya<sup>1</sup>, Massilva Rahmoun<sup>2</sup>, Bastien Reyné<sup>2</sup>, Noemi Bender<sup>4</sup>, Marine Bonneau<sup>3</sup>, Christelle Graf<sup>3</sup>, Vincent Tribout<sup>3</sup>, Vincent Foulogne<sup>3</sup>, Jacques Ravel<sup>5</sup>, Tim Waterboer<sup>4</sup>, Christophe Hirtz<sup>3</sup>, Ignacio Gonzalez Bravo<sup>2</sup>, Jacques Reynes<sup>3</sup>, Michel Segondy<sup>3</sup>, Carmen Lia Murall<sup>6</sup>, Nathalie Boule<sup>3</sup>, Samuel Alizon<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> CIRB, CNRS, Paris, France

<sup>2</sup> MIVEGEC, IRD, Montpellier, France

<sup>3</sup> CHU de Montpellier, Montpellier, France

<sup>4</sup> DKFZ, Heidelberg, Allemagne

<sup>5</sup> Maryland University, Baltimore, États-Unis

<sup>6</sup> IRD, Montpellier, France

**Introduction and Objectives:**

Menstrual cups are gaining in popularity worldwide as a more environmentally sustainable and affordable alternative to disposable personal hygiene products. However, there is currently a lack of scientific literature regarding the use of this type of menstrual protection. In particular, we know little about potential risks and microbiological and immunological effects associated with cups usage compared to other menstrual hygiene products. Our objective is to test whether the type of menstrual hygiene products can shape the vaginal immunological and microbiological environment.

**Materials and Methods:**

We analysed microbial and immunological data in a cohort of young adult women who reported using more often tampons (n = 81) or menstrual cups (n = 22) while controlling for demographic and behavioural differences. We used statistical linear mixed effects models and a model selection approach to identify profile differences depending on the type of menstrual product used. We performed a profile analysis using a factor analysis of mixed data (FAMD) approach using microbial and immunological data.

**Results, Discussion and Conclusion:**

We found a significant increased risk of fungal infection for women preferring menstrual cups over tampons. We did not detect significant differences between groups in terms of bacterial microbiota composition or local cytokines expression profiles. However, we found that depending on the type of menstrual product they report using more, women fall into two different clusters in a factor analysis of mixed data, which potentially reflects differences in their local vaginal environments. These results underline the need for in-depth studies to better understand the potential associations between the type of menstrual product used and the vaginal local environment, and, more generally, if they affect women's health.

*Mots clés* : Women's health - Vaginal microbiota - Fungal infection - Menstrual hygiene - Immunity.

## SP6-T - Microbiote

SP6-T-3

Microbiote

**Caractérisation du microbiote associé aux lieux de stockage de fruits et légumes frais chez le consommateur**

Damien Ballan<sup>1</sup> (damien.ballan@univ-brest.fr), Adeline Picot<sup>1</sup>, Jérôme Mounier<sup>1</sup>, Louis Coroller<sup>2</sup>, Clément Bovo<sup>1</sup>, Sylvie Tréguer<sup>1</sup>, Emmanuel Coton<sup>1</sup>, Stella Debaets<sup>1</sup>, Audrey Pawtowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LUBEM, Université de Bretagne Occidentale, Plouzané, France

<sup>2</sup> LUBEM, Université de Bretagne Occidentale, Quimper, France

**Contexte et objectifs :**

Le gaspillage des fruits et légumes frais (F&L) représente la plus importante part des pertes alimentaires (35 à 50 % des pertes selon les continents). Une part conséquente du gaspillage (10 kg/an/habitant en France), dont les altérations microbiennes constituent une des causes majoritaires, se fait au niveau du consommateur final. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude était d'étudier le microbiote associé aux lieux de stockage des F&L chez les consommateurs et son lien avec le gaspillage des F&L.

**Matériels et méthodes :**

Près de 400 écouvillonnages ont été effectués sur des compartiments de stockage domestiques (bac à F&L du réfrigérateur, corbeille etc.) chez une cinquantaine de foyers volontaires, sur deux périodes (été/automne) tandis que le gaspillage des F&L a été mesuré sur ces 2 périodes grâce à l'utilisation de poubelles connectées. Les prélèvements ont été mis en culture sur différents milieux pour dénombrer certains groupes microbiens associés aux altérations (bactéries mésophiles/psychrophiles, bactéries lactiques, bactéries sporulées, *Pseudomonas*, entérobactéries, champignons).

**Résultats, discussions et conclusions :**

Nos résultats montrent que les compartiments de stockage constituent un réservoir de micro-organismes d'altération des F&L avec une majorité de bactéries retrouvées en compartiment réfrigéré, (notamment les *Pseudomonas* avec  $1,21 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> en moyenne et les entérobactéries avec  $2,93 \times 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> en moyenne), contre une majorité de champignons en compartiments à température ambiante ( $1,47 \times 10^5$  UFT/cm<sup>2</sup>). Le gaspillage mesuré variait de 0 à 129 g/personne/jour en été (médiane de 28,8 g/personne/jour) et de 1,6 à 34,8 g/personne/jour, en automne (médiane de 6,23 g/personne/jour). Une corrélation significative ( $r=0,4$  ;  $p < 0,05$ ) entre l'humidité relative du compartiment réfrigéré et les populations fongiques a également été observée. Toutefois, aucune corrélation significative n'a été établie avec le volume de gaspillage. L'intégration de données comportementales et socio-démographiques des foyers suivis permettra une meilleure compréhension des facteurs favorisant le gaspillage, tandis que l'identification des micro-organismes responsables d'altérations sur les F&L collectés au cours des 2 périodes et l'analyse de la diversité microbienne des compartiments de stockage par une approche métabarcoding permettront une description plus fine du lien entre écosystèmes associés aux lieux de stockage et gaspillage des F&L frais.

**Mots clés :** Altérations microbiennes - Gaspillage alimentaire.

## SP6-T - Microbiote

SP6-T-4

Microbiote

**A short *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) bloom triggers major changes in the gut microbiota and holobiont's metabolome of the medaka fish (*Oryzias latipes*)**

Pierre Foucault (pierre.foucault@mnhn.fr), Alison Gallet, Charlotte Duval, Benjamin Marie, Sébastien Duperron

UMR7245 - Molécules de Communication et Adaptation des Micro-organismes, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, France

**Introduction and Objectives:**

One of the most common but intense stress in aquatic environments is the occurrence of noxious cyanobacterial blooms. Their adverse effects have been studied on various aquatic organisms, like fishes. Host-associated microbial communities are nowadays considered relevant to ecotoxicology, as their role in holobiont functioning is more and more documented.

First insight into the role and dynamics of microbiota have suggested its potential significance to the holobiont's response to an ecotoxicological stress. Yet, investigation of each holobiont's compartment (microbiota and host organs) are needed to understand their interaction and contribution to the overall response.

**Material and Methods:**

We focused on the early response of the medaka fish, a model organism in ecotoxicology, to a simulated realistically intense 4 days *M. aeruginosa* bloom. We set-up a microcosm experiment to study the dynamics of the gut microbiota composition using 16S rRNA sequencing and of the gut, liver, and muscle metabolomes as a functional status proxy using LC-MS metabolomics. Finally, we designed a new method to compare the compositional changes kinetics of microbiomes and metabolomes in the unexposed versus exposed treatment.

**Results, Discussion and Conclusion:**

The microbiota and the gut metabolome displayed significant composition changes after 2 days of bloom exposure. Notably, a dominant symbiotic genus belonging to the Firmicutes plummeted whereas genera belonging to the Proteobacteria and Actinobacteriota phyla increased, with gut metabolites dynamics correlated to theirs.

In contrast to the gut, no significant variations were detected for the muscle metabolome and only after 4 days for the liver's, supporting the buffering role of the gut and its associated microbiota, and its relevance to host response and ecotoxicology. In the latter, the changes in microbiota composition occurred earlier than the changes in metabolome compositions, suggesting that the microbiota possibly drove the holobiont's response.

This study highlights the complementarity and potential of multi-omics approaches to unravel microbiota and holobionts metabolic responses and should help address the respective roles of host and microbes in the observed response to an ecotoxicological stress.

*Mots clés* : Cyanobacterial bloom - Metabarcoding - Metabolomics - Time-series - Multi-omics.



Société Française  
de Microbiologie

# MICROBES 2022

17<sup>e</sup> Congrès National de la SFM



Au CORUM de MONTPELLIER

3 > 5  
Octobre

## RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS

Mardi 4 octobre

## SP7 - Subversion of innate immunity by bacteria

SP7-O.1

Pathogénie

Microbiologie fondamentale

### When bacterial toxins met inflammasomes

Laurent Boyer (laurent.boyer@univ-cotedazur.fr)

Inserm U1065/ Université Côte d'Azur, C3M, Nice, France

The detection of the activities of pathogen-encoded virulence factors by the innate immune system has emerged as a new paradigm of pathogen recognition (1, 2). Much remains to be determined regarding the molecular components contributing to this defense mechanism in mammals and its importance during infection. Our team showed the central role of the IL-1 $\beta$  signaling axis in controlling the *Escherichia coli* burden in the blood in response to the sensing of the RhoGTPase-activating toxin CNF1 (3). Using the CNF1 toxin, we provided evidence of the role of the NLRP3 inflammasome in sensing the activity of bacterial toxins and virulence factors that activates host RhoGTPases (4). We demonstrated that this activation relies on monitoring of the toxin's activity on the RhoGTPase Rac2. We also showed that the NLRP3 inflammasome is activated by a signaling cascade involving the P21-activated kinases (Pak)-1/2 and the Pak1-mediated phosphorylation of Threonine 659 of NLRP3, which is necessary for the NLRP3-Nek7 interaction, the inflammasome activation and the IL-1 $\beta$  cytokine maturation. Furthermore, inhibition of the Pak1-NLRP3 axis diminished the bacterial clearance of CNF1-expressing *E. coli* during bacteremia. Altogether, our results established Pak1/2 as critical regulators of the NLRP3 inflammasome and revealed the role of the Pak1-NLRP3 signaling axis *in vivo* during bacteremia (4). Building on this expertise, we set up an assay to quantify the NLRP3 activation in the blood of patients with bacteremia and applied it to COVID-19 patients. The analysis of the blood of 66 patients allowed us to reveal the heterogeneous activation of NLRP3 in circulating myeloid cells during COVID-19 and predict severity (5).

**Mots clés :** Toxins - Inflamasomes - NLRP3 - CNF1 - RhoGTPases.

#### Références :

1. Boyer L, Magoc L, Dejardin S, Cappillino M, Paquette N, Hinault C, Charriere GM, Ip WK, Fracchia S, Hennessy E, Erturk-Hasdemir D, Reichhart JM, Silverman N, Lacy-Hulbert A, Stuart LM. (2011) Pathogen-Derived Effectors Trigger Protective Immunity via Activation of the Rac2 Enzyme and the IMD or Rip Kinase Signaling Pathway. *Immunity*, 35(4):536-49.
2. Stuart LM, Paquette N and Boyer L (2013) Effector-triggered versus pattern-triggered immunity: how animals sense virulent pathogens. *Nature Reviews Immunology*, 13(3):199-206.
3. Diabate M, Munro P, Garcia E, Jacquelin A, Michel G, Obba S, Goncalves D, Luci C, Marchetti S, Demon D, Degos C, Bechah Y, Mege JL, Lamkanfi M, Auburger P, Gorvel JP, Stuart LM, Landraud L, Lemichez E and Boyer L. (2015) *Escherichia coli* alpha-Hemolysin counteracts the anti-virulence innate immune response triggered by the Rho GTPase activating toxin CNF1 during bacteremia. *PLOS Pathogens* Mar 17;11(3):e1004732.
4. Dufies O, Doye A, Courjon J, Torre C, Michel G, Loubatier C, Jacquelin A, Chaintreuil P, Majoor A, Guinatard R. R, Gallerand A, Saavedra P.H.V., Verhoeyen E, Rey A, Marchetti S, Ruimy R, Czerucka D, Lamkanfi M, Py B.F, Munro P, Visvikis O, Boyer L. (2021) *Escherichia coli* RhoGTPase-activating toxin CNF1 mediates NLRP3 inflammasome activation via p21 activated kinases-1/2 during bacteremia in mice. *Nature Microbiology* Mar;6(3):401-412.
5. Courjon J, Dufies O, Robert A, Bailly L, Torre C, Chirio D, Contenti J, Vitale S, Loubatier C, Doye A, Pomares-Estran C, Gonfrier G, Lotte R, Munro P, Visvikis O, Dellamonica J, Giordanengo V, Carles M, Yvan-Charvet L, Ivanov S, Auburger P, Jacquelin A, Boyer L. (2021) Heterogeneous NLRP3 inflammasome signature in circulating myeloid cells as a biomarker of COVID-19 severity. *BLOOD Adv.* Mar 9;5(5):1523-1534.

SP7 - Subversion of innate immunity by bacteria 

SP7-1

**Caspase-1 driven neutrophil pyroptosis and its role in host susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa***Karin Santoni (karin.santoni@ipbs.fr)

IPBS, CNRS, Toulouse, France

Multiple neutrophil death programs contribute to host defense against infections. Although expressing all necessary components, neutrophils specifically fail to undergo Caspase-1-dependent pyroptosis, a lytic form of cell death triggered by the activation of the pro-inflammatory complex inflammasome. Here, we hypothesized that intrinsic neutrophil pyroptosis resistance might be bypassed by specific microbial species. We show that *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) triggers a Caspase-1-dependent pyroptosis in human and murine neutrophils. Mechanistically, activated NLRC4 inflammasome supports Caspase-1-driven Gasdermin-D (GSDMD) activation, IL-1 $\beta$  cytokine release and neutrophil pyroptosis. Furthermore, inflammasome activation leads to Peptidyl Arginine Deaminase-4-driven "incomplete NETosis" where neutrophil DNA fills the cell cytosol but fails crossing the plasma membrane. We show that neutrophil Caspase-1 account for IL-1 $\beta$  production and contributes to mouse susceptibility to several *P. aeruginosa* strains. Moreover, studying NADPH oxidase-defective neutrophils from Chronic Granulomatous Diseases (CGDs) patients, we unveiled a key function of the NADPH oxidase at specifically restraining neutrophil pyroptosis. Hence, CGD-associated bacterial pathogens triggered inflammatory Caspases (-1/-4/-11)-dependent pyroptosis in CGD but not in healthy neutrophils. Mechanistically, lack of NADPH-dependent oxidization of inflammatory Caspases in various cysteines unleashed inflammasome-driven pyroptosis specifically in neutrophils. Consequently, neutrophil pyroptosis promoted an inflammatory but incomplete NETosis, inefficient against all CGD pathogen tested. Overall, we demonstrate that neutrophils are not universally resistant for Caspase-1-dependent pyroptosis and identified the neutrophil NADPH oxidase as an essential safe-keeper against neutrophil pyroptosis-driven inflammatory damages.

*Mots clés* : Neutrophil - Pyroptosis - *P. aeruginosa* - NADPH oxydase - CGD.

SP7 - Subversion of innate immunity by bacteria 

SP7-2

**Manipulation of intracellular microbial sensors by the stealth pathogen *Coxiella burnetii***

Dylan Ruart (dylan.ruart@irim.cnrs.fr), Mélanie Burette, Arthur Bienvenu, Matteo Bonazzi, Eric Martinez

*Molecular and cellular biology of bacterial infections, IRIM CNRS UMR9004, Université de Montpellier, Montpellier, France*

*Coxiella burnetii* is a highly infectious pathogen causing the zoonosis Q fever. *Coxiella* can invade and develop in alveolar macrophages and trophoblasts. During infection, *Coxiella* forms an intracellular replicative niche named *Coxiella*-Containing Vacuole (CCV). This is driven by effector proteins secreted by the bacterium into the host cell cytoplasm via a Type 4b Secretion System (T4SS). *Coxiella* can dampen, in a T4SS-dependent manner, the apoptotic and inflammatory response of infected cells to promote intracellular persistence. Analysis of our *Coxiella* mutant library led to the identification of 4 mutants displaying defects in cytoprotection of the infected cells.

We focused on *icaB*::Tn mutant, as this gene encodes a hypothetical protein with features corresponding to secreted effectors. We confirmed that *Coxiella* secretes IcaB in a T4SS-dependent manner. Bioinformatics analysis indicated that IcaB possesses partial structural homology with NLRs, which is unprecedented for bacterial effectors. We thus tested the localisation and interaction of IcaB with a set of NLRs. Interestingly, IcaB colocalised with NLRP1, NLRP3, NLRP5 but not with NLRP2, NLRP10 or NLRP11. Furthermore, we could identify a direct interaction between IcaB and several NLRs by co-immunoprecipitation. This opens new perspectives in the inflammasome control and inhibition of cytosolic detection by *Coxiella*.

**Mots clés :** *Coxiella burnetii* - Inflammation - Bacterial effector protein - NLR.

SP7 - Subversion of innate immunity by bacteria 

SP7-3

Pathogénie

Microbiologie fondamentale

**Rôle de l'entérobactine (entB) sur l'activation de l'inflammasome NLRP3 dans des cellules épithéliales pulmonaires infectées par *Klebsiella pneumoniae***

Julien Verlaquet (julien.verlaquet@uca.fr), Sylvie Miquel, Thomas Merciecca, Nicolas Charbonnel, Christiane Forestier, Marjolaine Varelle-Delarbre

Laboratoire microorganisme génome et environnement, Université Clermont Auvergne, Clermont ferrand, France

**Introduction et objectifs :**

*Klebsiella pneumoniae* est une bactérie ubiquitaire à Gram négatif responsable de cas sévères de pneumonies nosocomiales. Au cours du processus infectieux, *K. pneumoniae* peut entraîner une inflammation excessive et délétère. Les sidérophores, molécules sécrétées par la bactérie et chélatrices des ions ferriques, sont impliqués dans l'induction de cette réponse inflammatoire pulmonaire. Cependant, les effets des sidérophores sur les inflammasomes, inducteurs très puissants de la réponse inflammatoire dans les cellules de l'immunité innée, restent méconnus. L'objectif de cette étude est de caractériser les interactions entre le sidérophore principal de *K. pneumoniae*, l'entérobactine, et la lipocaline-2 (Lcn-2), une sidéocaline de l'hôte, en mesurant leurs capacités à activer l'inflammasome NLRP3 dans les cellules épithéliales pulmonaires humaines (A549).

**Matériels et méthodes :**

Des mutants déficients pour la production de différents facteurs de virulence (capsule, entérobactine, lipopolysaccharides, système de sécrétion de type VI) ont été créés à partir d'une souche clinique de *K. pneumoniae* (LM21). Des cellules pulmonaires A549 ont été infectées avec ces mutants ou avec la souche sauvage. L'activation de NLRP3 a été étudiée *via* la mesure de l'expression du gène *nlrp3* (RT-qPCR), de l'activité enzymatique de la caspase-1 et de la production de cytokines pro-inflammatoires : IL-1 $\beta$  et IL-18 (ELISA).

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'infection de cellules épithéliales pulmonaires par la souche *K. pneumoniae* sauvage, a montré une activation de l'inflammasome NLRP3 : augmentation de l'expression du gène *nlrp3*, de l'activité caspase-1 et de la libération des cytokines IL-1 $\beta$  et IL-18 dans les surnageants de culture. Parmi les mutants testés, seul le mutant  $\Delta$ *entB* (déficient pour la production d'entérobactine) n'induit pas d'activation de l'inflammasome NLRP3. La production de Lcn-2 par les cellules A549 infectées avec ce mutant est diminuée de 23% par rapport à la souche sauvage.

La régulation de NLRP3 par *K. pneumoniae* semble être spécifiquement liée à la production de sidérophores par le pathogène. L'interaction de l'entérobactine avec la Lcn-2 dans l'activation de l'inflammasome NLRP3 au niveau de l'épithélium pulmonaire reste à déterminer. L'élucidation des mécanismes sous-jacents permettra d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques.

**Mots clés :** *Klebsiella pneumoniae* - Inflammasome - Sidérophores - Réponse inflammatoire.



SP7 - Subversion of innate immunity by bacteria 

SP7-4

**Characterization of SepA and SigA, two serine proteases autotransporters of *Enterobacteriaceae* secreted by *Shigella***Lorine Debande<sup>1,2</sup> (l.debande@ibmc-cnrs.unistra.fr), Benoit Marteyn<sup>1,3</sup><sup>1</sup> CNRS - UPR 9002, IBMC, Strasbourg, France<sup>2</sup> Université de Strasbourg, Strasbourg, France<sup>3</sup> Unité de Pathogénèse des Infections Vasculaires, Institut Pasteur, Paris, France

*Shigella* are human pathogenic enterobacteria causing shigellosis, which is still a major cause of death among children under 5 in developing countries. Upon an oral inoculation, *Shigella* specifically invade and colonize the colonic mucosa, through the formation of hypoxic foci of infection<sup>1</sup>. *Shigella* Type III secretion system (T3SS) has been extensively characterized for its role in host cell invasion and has been shown to be inactive without oxygen<sup>2</sup>. Our team currently investigate the contribution of the type V secretion system (T5SS) to *Shigella* virulence, which is not yet fully understood. In an oxygen-free environment, *Enterobacteriaceae* serine proteases (SPATEs, T5SS) are the most abundantly secreted proteins by *Shigella*. SepA and SigA are two SPATEs secreted by *Shigella flexneri* 5a and *Shigella sonnei*, respectively. The targets of SepA and SigA are largely unknown in epithelial and immune cells. First, we optimized SepA and SigA purification, produced specific antibodies and constructed corresponding mutants. Our preliminary data show that some *Shigella* SPATEs cleave purified C3 and C5 complement proteins *in vitro*, as previously observed with *E. coli* EspP<sup>3</sup>. Further investigations will be required to determine the specificity of this reaction and to better understand its consequence on the survival of *Shigella* in plasma, which is essential during bacteremia (late stage of *Shigella*'s infection). Current investigations aim at defining SPATEs targets in the colonic mucosa, this point will be addressed by infecting guinea pig with SPATE mutants<sup>4</sup>.

**Mots clés :** *Shigella* - Host-pathogen interaction - SPATE - Plasma - Enterobacteriaceae.

## Références :

1. Tivenez, J.Y. et al. (2019) *Shigella*-mediated oxygen depletion is essential for intestinal mucosa colonization. *Nature Microbiology*. 4, 2001–2009.
2. Marteyn, B., et al. (2010) Modulation of *Shigella* virulence in response to available oxygen in vivo. *Nature*. 465, 355-360.
3. Orth, D. et al. (2010) EspP, a Serine Protease of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, Impairs Complement Activation by Cleaving Complement Factors C3/C3b and C5. *Infect Immun*. 78, 4294-4301.
4. André, A. et al. (2020). The ascorbate-deficient guinea pig model of shigellosis allows the study of the entire *Shigella* life cycle. *BioRxiv*.

**SP8 - (Ré)-émergences virales****SP8-O.1****Virologie****Arboviruses: Emerging and Re-emerging Diseases**Julien Pompon (julien.pompon@ird.fr)*IRD, Montpellier, France*

Arthropod-borne viruses (arboviruses) are a group of viruses that are transmitted by arthropod vectors, such as mosquitoes, midges and ticks. For the majority of infectious diseases caused by arboviruses, there is no treatment and no available vaccine. Over the past 30 years, the emergence and/or resurgence of arboviruses represents a considerable threat to global health. There is currently growing concern in continental France about the constant geographical expansion of the *Aedes albopictus* mosquito, also known as the tiger mosquito, given its capacity to transmit viruses such as dengue, chikungunya and zika virus. This has been revealed by the occurrence of some autochthonous cases of disease caused by these viruses in southern France, as well as the presence of *Aedes albopictus*, in 67 out of 96 French departments. The increase in the number of imported dengue cases reported each year in metropolitan France, due to more frequent international travel, raises the question as to the presence of the pre-requisites for autochthonous transmission of dengue virus which might lead to future outbreaks of dengue. This situation is also relevant for West Nile virus, for which animal and human cases have been reported in recent years in metropolitan France and neighboring countries. The French overseas territories are not spared either from the emergence or re-emergence of arboviruses, with co-circulation of arboviruses and outbreaks of dengue in some regions. In this context, the current situation of some emerging arboviruses will be presented. Knowing that we are in the area of the discovery of new, potentially pathogenic arboviruses, there is a need to define the potential challenges that we will have to face.

*Mots clés* : Arboviruses - Emergence - Flavivirus - Alphavirus.

## SP8 - (Ré)-émergences virales

SP8-1

Virologie

**Innovative, fast and flexible magnetic field enhanced agglutination readout for both molecular and serological diagnostic of arbovirus infections**

Chantal Fournier-Wirth<sup>1</sup> (chantal.fournier@efs.sante.fr), Fanny Leon<sup>1</sup>, Elena Pinchon<sup>1</sup>, François Morvan<sup>2</sup>, Vincent Foulongne<sup>1</sup>, Jean-François Cantaloube<sup>1</sup>, Sylvain Jacquemin<sup>3</sup>, Philippe Vande Perre<sup>1</sup>, Jean-Pierre Molès<sup>1</sup>, Aurélien Daynès<sup>3</sup>

<sup>1</sup> UMR Pathogénèse et Contrôle des Infections Chroniques et Emergentes, UMR Pathogénèse et Contrôle des Infections Chroniques et Emergentes, Montpellier, France

<sup>2</sup> Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM, Montpellier, France

<sup>3</sup> Horiba Medical, Montpellier, France

**Background:**

Arthropod-borne pathogens affect millions of people around the world each year and comprise a significant proportion of emerging human pathogens. Dengue, selected as a model in this study, is the most prevalent mosquito-borne viral disease-affecting humans. Arbovirus diagnostics on blood from patients, or from blood donors and travelers returning from endemic areas, is increasingly important for better patient management and epidemiological surveillance.

**Material and Methods:**

We developed an innovative diagnostic approach based on a magnetic field-enhanced agglutination (MFEA) readout to detect either viral genomes or host-derived antibodies. MFEA consists of applying a magnetic field generated by an electromagnet to a reaction medium to accelerate the formation of sandwich bonds between magnetic nanoparticles (MNPs) by a fast chaining process. The result of this agglutination can then be assayed by simple turbidimetry in less than 5 min.

**Results and Discussion:**

For the molecular detection, a pan-flavivirus amplification by RT-PCR or a fast DENV isothermal amplification by RT-RPA were performed before capture of biotinylated amplicons between MNPs grafted with DENV probes and anti-biotin antibodies. In the rapid format combining RT-RPA and MFEA, the sensitivity and the specificity, obtained on 43 DENV RNA(+) and 30 DENV RNA(-) samples, were 89.19% (95% CI, 72.75%–100.00%) and 100% (95% CI, 81.74%–100%), respectively.

For anti-DENV antibody detection, we developed a very rapid serological assay by simply adding MNPs grafted with DENV NS1 viral antigens to the plasma samples before applying one cycle of magnetization. This method was evaluated on 103 samples. Anti-DENV antibodies were detected with a sensitivity and specificity of 90.62% (95% CI, 83.50%–97.76%) and 97.44% (95% CI, 92.48%–100%), respectively.

**Conclusion:**

This adaptable approach avoiding costly instruments offers flexibility to develop platforms or Point-of-Care tests dedicated to the screening of emerging infections.

**Mots clés :** Innovative diagnostic - Emerging infections - Nanotechnologies.

**Références :**

1. Pinchon E, Leon F, Temurok N, Morvan F, Vasseur JJ, Clot M, Foulongne V, Cantaloube JF, Vande Perre P, Daynès A, Molès JP, Fournier-Wirth C. Rapid and specific DNA detection by magnetic-field enhanced agglutination assay. *Talanta* 2020, 219, 121344.
2. Temurok N, Leon F, Pinchon E, Clot M, Foulongne V, Cantaloube JF, Vande Perre P, Fournier-Wirth C, Moles JP, Daynès A. Magnetic field-enhanced agglutination as a readout for rapid serologic assays with human plasma. *Talanta* 2021, 233:122407.
3. Leon F, Pinchon E, Temurok N, Morvan F, Vasseur JJ, Clot M, Foulongne V, Cantaloube JF, VandePerre P, Moles JP, Daynès A, Fournier-Wirth C: Diagnostic Performance of a Magnetic Field-Enhanced Agglutination Readout in Detecting Either Viral Genomes or Host Antibodies in Arbovirus Infection. *Microorganisms* 2021, 9.
4. Leon F, Pinchon E, Mayran C, Daynès A, Morvan F, Moles JP, Cantaloube JF, Fournier-Wirth C. Magnetic Field-Enhanced Agglutination Readout Combined With Isothermal Reverse Transcription Recombinase Polymerase Amplification for Rapid and Sensitive Molecular Detection of Dengue Virus. *Front Chem* 2021, 9:817.

**SP8 - (Ré)-émergences virales****SP8-2****Virologie****Séroprévalence des arbovirus en République du Congo**

Nanikaly Moyen<sup>1</sup> (moyenmimi@gmail.com), Laurence Thirion<sup>2</sup>, Emmerich Petra<sup>3</sup>, Xavier De Lamballerie<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Laboratoire de bactériologie-Virologie, Université Marien Ngouabi/Faculté des Sciences de la Santé, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

<sup>2</sup> *Unité des Virus Emergents-UMR190, Aix-Marseille Université, Marseille, France*

<sup>3</sup> *Laboratoire de Virologie, Department of Virology, Bernhard-Nocht-Institute for Tropical Medicine, Hamburg, Allemagne*

L'émergence des arbovirus constitue de nos jours un problème majeur de santé publique. En vue de démontrer la circulation des arbovirus en République du Congo, des échantillons de sang ont été prélevés en zone urbaine (Brazzaville et Pointe-Noire) et en zone rurale (Gamboma, Oyo, Owando et Ewo).

Il s'agit d'une étude transversale réalisée chez les donneurs de sang âgés de 18 à 65 ans, ayant exprimés leur consentement à participer à l'étude.

Les sérums provenant de 1009 échantillons ont été testés par la méthode ELISA et les positives confirmés par test de séroneutralisation.

Les résultats de la séroprévalence ont été les suivants : 47,2% virus de la dengue (DENV), 38,8% virus Chikungunya (CHIKV), 27,8% virus de la fièvre jaune (YFV), 24,4% virus du Nil Occidental (VNO), 7,9% Virus de la fièvre de la vallée du Rift (RVFV), 0,1% Virus de la méningoencéphalite à tiques (VMET), 0,1% virus Toscana (TOSV). Aucun cas de virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (CCHFV) n'a été observé.

Ce travail montre qu'au sein de la population congolaise, il y a une forte circulation des virus DENV, CHIKV et VNO. Cependant les autres virus (TBEV, TOSV et RVFV) ont une faible circulation. Au regard de ces résultats, il serait judicieux de mener une surveillance et la mise en place des mécanismes de prévention de ces virus pour une lutte efficace contre les épidémies.

*Mots clés* : Arbovirus - Donneurs de sang - Séroprévalence - Congo.

## SP8 - (Ré)-émergences virales

SP8-3

Virologie

**Bats in West and Central Africa are infected with a wide diversity of coronaviruses, including variants closely related to human coronaviruses, at high prevalences**

Dowbiss Meta-Djoms<sup>1,2</sup> (dowbiss.meta-djoms@ird.fr), Audrey Lacroix<sup>3</sup>, Karim Soumah Abdoul<sup>4</sup>, Eddy Kinganda Lusamaki<sup>5</sup>, Asma Mesdour<sup>3</sup>, Raisa Raulino<sup>3</sup>, Amandine Esteban<sup>6</sup>, Innocent Ndong Bass<sup>1</sup>, Souana Goumou<sup>4</sup>, Simon-Pierre Ndimbo-Kumugo<sup>5</sup>, Steve Ahuka-Mundeke<sup>5,7</sup>, Alpha Kabinet-Keita<sup>4</sup>, Eitel Mpoudi Ngole<sup>1</sup>, Charles Kouanfack<sup>1</sup>, Eric Delaporte<sup>3</sup>, Ahidjo Ayouba<sup>3</sup>, Martine Peeters<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Centre de Recherche sur les Maladies Emergentes et Réémergentes (CREMER), Yaoundé, Cameroun

<sup>2</sup> University of Buea, Buea, Cameroun

<sup>3</sup> TransVIHMI, Université de Montpellier, INSERM, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier, France

<sup>4</sup> Centre de Recherche et de Formation en Infectiologie de Guinée (CERFIG), Conakry, Guinée

<sup>5</sup> National Institute of Biomedical Research (INRB), Kinshasa, Congo-Kinshasa

<sup>6</sup> TransVIHMI, Université de Montpellier, INSERM, Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier, France

<sup>7</sup> Service de Microbiologie, Cliniques Universitaires de Kinshasa, Kinshasa, Congo-Kinshasa

Bats are at the origin of human coronaviruses (CoVs), either directly or by an intermediate host. Documenting the prevalence and genetic diversity of coronaviruses in bats is thus crucial. Here we report on coronaviruses in bats in Guinea, Cameroon and the Democratic Republic of Congo (DRC).

Swabs collected from bats captured in their natural environment and which were released after sampling, were tested for the presence of coronaviruses using a broadly reactive nested PCR in the highly conserved RdRp region (440 bp). The new sequences were analyzed with representatives of subgenera from alpha and beta-coronaviruses to identify the infecting coronavirus lineages. Species identification recorded in the field was molecularly confirmed on a subset of bats and for each bat in which a coronavirus was detected, by sequencing a 800 bp CytB fragment.

We tested swabs from 4597 bats (DRC (897), Cameroon (2191), Guinea (1509); 2986 were frugivorous (at least 12 species) and 1611 were insectivorous bats (at least 10 species). Coronaviruses were detected in 903 (19.6%) bats, in almost all species; 17.2% in frugivorous and 24.2% in insectivorous bats. Highest prevalence was observed in *Eidolon helvum* (239/733; 39.9%) and *Rhinolophus sp* (306/899; 34.1%), followed by *Hipposideros sp* (61/291; 20.9%). Among the positive bats, 93.8% of frugivorous bats versus 57.1% in insectivorous bats were infected with beta coronaviruses. All frugivorous bats (except two) were infected with the NobecoV subgenus, although at least 5 subclades were observed. In insectivorous bats, the subgenera NobeCoV (8.5%), HibeCoV (32.8%), MerbeCoV (0.5%) and SarbeCoV (57.6%) were observed. All SarbeCoVs were detected in *Rhinolophus* bats. HibeCoVs were detected in *Hipposideros* and *Rhinolophus* species. A high diversity of alphacoronaviruses was also observed in insectivorous bats, *i.e.* representatives of DuvinaCoV, MinunaCoV, PedaCoV, RhinaCoV and 2 clades that could not be classified.

Coronaviruses are widespread in African bats and *Rhinolophus* bats are infected at high levels with coronaviruses from the SarbeCoV subgenus, which includes SARS-CoV-2. It is thus important to characterize more in detail the different CoV lineages and their potential to infect human cells as well as frequency and modes of contacts between humans and bats.

**Mots clés :** Coronavirus - Bats - Africa - Diversity - One Health.

## SP8 - (Ré)-émergences virales

SP8-4

Virologie

**Seroprevalence of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus among people living with HIV in Brazzaville, Congo and among blood donors in Bamako, Mali**

Gervillien Arnold Malonga<sup>1,2</sup> (gervillienarnold.malonga@aphp.fr), Almoustapha Issiaka Maiga<sup>3,4</sup>, Dimitry Moudiongui Dimitry Moudiongui Mboundou Malanda<sup>1</sup>, Mahamadou Saliou<sup>5</sup>, Juthece Private Malanda-Kiminou<sup>1</sup>, Oumar Dolo<sup>4</sup>, Anicet Luc Magloire Boumba<sup>6</sup>, Alhassane Ba<sup>7</sup>, Jean Felix Peko<sup>1</sup>, Anne-Geneviève Marcelin<sup>2</sup>, Vincent Calvez<sup>2</sup>, Stéphane Marot<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

<sup>2</sup> *Virologie - UMR-S 1136, Sorbonne Université / Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France*

<sup>3</sup> *Département de Biologie Médicale, Centre Hospitalier Universitaire Gabriel Touré, Bamako, Mali*

<sup>4</sup> *Unité d'Epidémiologie Moléculaire de la Résistance du VIH aux ARV, UCRC/SEREF, University of Sciences, Techniques and Technologies of Bamako, Bamako, Mali*

<sup>5</sup> *Service Médecine Interne, Centre Hospitalier Universitaire Gabriel Touré, Bamako, Mali*

<sup>6</sup> *Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien Ngouab, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

<sup>7</sup> *Centre National de Transfusion Sanguine, Bamako, Mali*

**Objective:**

To assess the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) seroprevalence and evaluate the risk factors of seropositivity among a Congolese population living with HIV and a Malian population of blood donors in urban and semi-urban areas of the capital cities of these countries.

**Methods:**

A retrospective serologic survey was conducted on sera provided from monitoring centers for people living with HIV (PLWH) in Brazzaville, Congo and from the national blood transfusion center in Bamako, Mali. The characteristics such as age, gender, working occupation, education level and marital status were recorded on the questionnaire. Serum samples were tested for the presence of anti-CCHFV IgG antibodies using a double-antigen ELISA kit (ID Screen CCHF Double Antigen Multispecies, ID.Vet) according to the manufacturer's instructions.

**Results:**

581 samples were collected, including 352 sera in Brazzaville, Congo from July to October 2019 and 229 sera in Bamako, Mali from November 2019 to January 2020. Seroprevalence of CCHFV was 0.6% (2/352) in PLWH and 1.75% (4/229) in the blood donors of Bamako. The associated risk factors of seropositivity were residence in a semi-urban area with agriculture or work occupation (working in slaughter or frequent extra-urban travel).

**Conclusions:**

Despite a low CCHFV seroprevalence, our study indicate a potential human contact with CCHFV in sub-urban areas of the capital cities of Congo and Mali, associated to previously described CCHFV risk-factors. Further studies are needed to better assess the spatial distribution of CCFHV in these two countries and to assess the impact of CCHFV in the PLWH population.

*Mots clés* : Crimean-Congo hemorrhagic fever virus - Congo - Mali - Serology.

**SP9 - Hétérogénéité cellulaire : impact sur les risques microbiologiques des aliments ?****SP9-O.1****Contribution de l'hétérogénéité physiologique et cellulaire à l'hétérogénéité phénotypique de bactéries pathogènes alimentaires**Mickaël Desvaux (mickael.desvaux@inrae.fr)*INRAE, Clermont-Ferrand, France*

La physiologie des bactéries est classiquement étudiée et comprise au niveau populationnel, selon un comportement moyen déduit d'un échantillon de cellules. Considérées individuellement, les cellules de ces populations peuvent pourtant présenter certains traits de caractères observables, légèrement différents voire extrêmement divergents, donnant lieu à de l'hétérogénéité phénotypique. Pour une même espèce bactérienne, cette diversité phénotypique est souvent appréhendée en premier lieu au niveau génotypique avec la notion de souche, très familière pour les microbiologistes, chacune possédant des caractéristiques génétiques et/ou génomiques spécifiques. Par ailleurs, dans de nombreux écosystèmes co-existent différents biotopes et biocénoses en interaction, où une multitude de micro-environnements peut être rencontré par une même souche. La diversité des réponses adaptatives des cellules bactériennes à ces différents stimulus va alors entraîner une hétérogénéité physiologique. Enfin, un troisième niveau important d'hétérogénéité phénotypique est lié à l'hétérogénéité cellulaire d'une même souche dans un même microenvironnement qui met en jeu des mécanismes moléculaires tout à fait particuliers de régulation intrinsèque. Pour les bactéries pathogènes alimentaires zoonotiques, ces aspects sont particulièrement pertinents et importants à considérer dans la mesure où les matrices alimentaires présentent fréquemment une structure hétérogène, que les niveaux de contamination sont faibles, de quelques cellules par gramme de produit, et que l'émergence de ces variants aux comportements divergents, même rare, peut être à l'origine d'une augmentation du risque sanitaire avec des niveaux de persistance, résistance, colonisation et/ou de virulence plus élevé.

*Mots clés* : Hétérogénéité du comportement - Cellule unique (single cell) - Variation de phase - Stochasticité - Variants.

**SP9 - Hétérogénéité cellulaire : impact sur les risques microbiologiques des aliments ?****SP9-1****Spatial organization and phenotypic heterogeneity of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in model gel matrices**

Romain Briandet<sup>1</sup> (romain.briandet@inrae.fr), Cedric Saint Martin<sup>1,2</sup>, Maud Darsonval<sup>3</sup>, Nelly Caccia<sup>2</sup>, Marina Grégoire<sup>1</sup>, Grégory Jubelin<sup>2</sup>, Florence Dubois-Brissonnet<sup>3</sup>, Sabine Leroy<sup>2</sup>, Mickael Desvaux<sup>2</sup>

<sup>1</sup> MICALIS, INRAE, Jouy-en-Josas, France

<sup>2</sup> MEDIS, INRAE, Saint-Gènes-Champagnelle, France

<sup>3</sup> MICALIS, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

Food is the main vector for the ingestion of pathogenic microorganisms in humans and animals. These structured environments are heterogeneous and the diversity of microenvironments favors the emergence of bacterial subpopulations. In food matrices, microorganisms can be isolated as single cells or aggregated as surface biofilms or embedded microcolonies. The local activity of microorganisms generates nutrients and metabolites gradients that enhance this biotope heterogeneity and the phenotypic diversity of associated microbiota. The objective of this project was to study the behaviour of two pathogenic bacteria (*Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*) in a model medium, a transparent gel matrix of adjustable composition. The coupling of a synthetic hydrogel model to confocal laser scanning microscopy (CLSM) allowed us highlighting the influence of the initial inoculum, the texture, the NaCl concentration and the pH on the morphodynamics of these bacterial systems, at the single cell scale. Furthermore, the use of a fluorescent transcriptional fusion has allowed us to demonstrate a localised expression of an acid stress response gene of *E. coli* O157:H7, *gadB*, at the periphery of microcolonies, and specifically in acidic matrices. The strong and spatialised expression of this gene correlates with a greater ability of the population to survive an acid stress mimicking gastric digestion. This work demonstrates for the first time the possibility of inducing and observing pathogenic bacterial cell type diversification and emergent properties in food matrix models. This work highlights the importance of the growth conditions on the behaviour of pathogenic bacteria in food matrices and reveals new levers to mitigate infections resulting from the consumption of contaminated foodstuff.

**Mots clés :** Foodborne pathogens - Food matrix - Spatial organization - Phenotypic heterogeneity - Confocal laser Scanning Microscopy.



**SP9 - Hétérogénéité cellulaire : impact sur les risques microbiologiques des aliments ?****SP9-2*****Escherichia coli* O157:H7 exposée à des consortia microbiens alimentaires : quels impacts sur sa croissance cellulaire ?**

Valérie Stahl<sup>1</sup> (v.stahl@aerial-crt.com), Bernard Hezard<sup>1</sup>, Adrienne Lintz<sup>1</sup>, Lysiane Omhover-Fouguy<sup>1</sup>, Mickaël Desvaux<sup>2</sup>, Laurent Guiller<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Aerial, Illkirch, France

<sup>2</sup> UCA, INRAE, UMR454 MEDiS, INRAE, Clermont-Ferrand, France

<sup>3</sup> Risk assesment department, ANSES, Maisons-Alfort, France

**Introduction et objectifs :**

Les *E. coli* entérohémorragiques (ou EHEC) sont responsables d'infections d'origine alimentaire parfois sévères. La contamination des aliments intervient en général accidentellement à de faibles niveaux (exemples : viande hâchée (consommée crue ou insuffisamment cuite), fromage au lait cru). Des travaux précédents menés dans le projet ANR Pathofood ont permis de souligner l'impact des facteurs abiotiques (pH, concentration en acides organiques, température, acides gras) et l'impact du milieu (liquide versus semi-solide de laboratoire) sur la croissance cellulaire du pathogène et de développer un modèle cellulaire pour *E. coli* O157:H7 en fonction de ces conditions environnementales. Dans les environnements alimentaires coexistent différentes communautés bactériennes complexes impactant fortement le développement des bactéries pathogènes. L'objectif de cette étude était de décrire la croissance cellulaire de *E. coli* O157:H7 en présence de consortia alimentaires.

**Matériel et méthodes :**

Pour décrire le comportement cellulaire, *E. coli* O157:H7 CM454 a été soumis à deux consortia microbiens alimentaires, représentatifs des fromages à pâte molle et de la viande hachée de bœuf. Les co-cultures ont été réalisées en milieu semi-solide en prenant en compte différents ratio des concentrations initiales des souches alimentaires combinés à différents niveaux de pH et de température mimant les conditions alimentaires rencontrés par les bactéries pathogènes.

**Résultats, discussion et perspectives :**

La croissance cellulaire a été suivie visuellement dans des plaques 96-puits et le temps de latence cellulaire a été déterminé. Les probabilités de croissance (pg) ont été déduites à partir des concentrations estimées par le calcul du NPP. Les résultats montrent que la présence des consortia microbiens limite la croissance cellulaire du pathogène en milieu semi-solide de laboratoire mimant la structure d'un aliment traduisant une potentielle compétition microbienne. Le modèle cellulaire intégrant ces données biotiques sera développé, puis validé sur les matrices alimentaires fromage et viande hachée de bœuf.

*Ce travail est cofinancé par l'agence nationale de Recherche, Projet PATHOFOOD Décrypter l'hétérogénéité cellulaire et la distribution spatiale de pathogènes dans les matrices alimentaires en interaction avec les communautés microbiennes (ANR-17-CE21-0002), Coordinateur : M. Desvaux UCA, INRAE, UMR454 MEDiS.*

**Mots clés :** Croissance cellulaire - Microbiologie prévisionnelle microbiologie prévisionnelle - *E. coli* EHEC - Consortia microbiens.

**SP9 - Hétérogénéité cellulaire : impact sur les risques microbiologiques des aliments ?****SP9-3****Population genetic structure of *Listeria monocytogenes* strains isolated from salmon and trout products and in food plants in France**Graziella Midelet<sup>1</sup> (graziella.midelet@anses.fr), Guylaine Leleu<sup>1</sup>, Félix Benjamin<sup>2</sup>, Karine Capitaine<sup>2</sup>, Thomas Brauge<sup>1</sup><sup>1</sup> Anses, Boulogne-sur-Mer, France<sup>2</sup> Anses, Maisons-Alfort, France

*Listeria monocytogenes* is a ubiquitous pathogenic bacterium. Salmon and trout have been considered to be at risk from this pathogen. In 2018, the salmon production sector was affected by a multi-country outbreak of 22 listeriosis cases caused by *Listeria monocytogenes* sequence type 1247. Clonal complex (CC) 8 has been identified through whole genome sequencing (WGS) in five EU countries. Several patients have died due to the disease. This has led to several questions about the occurrence of hypervirulent or persistent CC in salmon and trout production. Knowledge of the genetic diversity of strains circulating in the salmon and trout production sector is necessary to assess the risk associated with this pathogen. Until now, no typing data have been available on strains isolated through the salmon and trout production chain.

We have analysed here the genetic structure of the population of more than 700 strains of *L. monocytogenes* isolated from 2006 to 2017 imported on the French market and coming from different salmon and trout European producers.

The genetic structure has been described on the basis of CC of Multilocus sequence typing (MLST). Most of the CCs were obtained by mapping the PFGE profiles of the strains. Another small part of the CCs were determined in the GENOLISTERIA project. The distribution of CCs was first compared between the strains in the study and then with bibliographic and database data.

Eleven CCs were identified with variable distribution depending on the producing country and the processing company. Overall, the two most common CCs in the salmon and trout compartments were CC121 and CC9. Two CCs (CC1 and CC6) considered as potentially dangerous because characterized as hyper-virulent were identified. No CC was exclusively associated with the salmon sector.

This project allowed us to evaluate the diversity of CCs of *L. monocytogenes* in the salmon and trout industry and to provide strains for the GENOLISTERIA project.

**Mots clés :** Listeria - Genetic characterisation - Seafood sector.

**SP9 - Hétérogénéité cellulaire : impact sur les risques microbiologiques des aliments ?****SP9-4****Hétérogénéité cellulaire : cas du variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium 1,4,[5],12:i:- dans la filière avicole**

Emilie Esnault (emilie.esnault@anses.fr), Louise Baugé, Marianne Chemaly, Laetitia Bonifait

HQPAP/Laboratoire Ploufragan-Plouzané-Niort, Anses, Ploufragan, France

**Introduction et objectifs :**

La salmonellose, représente la deuxième cause d'infection humaine d'origine alimentaire en Europe. *Salmonella* Typhimurium (ST) et ses variants monophasiques représentent l'un des sérovars les plus fréquemment rencontrés. Le variant 1,4,[5],12:i:- est apparu il y a 10 ans et son expansion a été rapide à travers le monde. Principalement retrouvé en filière porcine, il est également présent en filière avicole. Surveiller ce sérovar et comprendre les mécanismes d'apparition et d'adaptation de nouvelles formes est important pour prévenir l'émergence de clones à risque pour l'homme. Ce travail consiste à réaliser une étude bibliographique sur les mécanismes à l'origine de l'apparition et l'adaptation de nouvelles formes de ST et à analyser les données issues de la filière avicole française disponibles au Laboratoire National de Référence (LNR) *Salmonella*.

**Matériels et méthodes :**

Les bases de données Scopus et Pubmed ont été consultées pour réaliser une revue bibliographique exhaustive sur les mécanismes pouvant être à l'origine de l'apparition et de l'adaptation de nouvelles formes de ST. L'extraction et l'analyse des données entre 2015 et 2020 de la souchothèque du LNR, en particulier du variant monophasique 1,4,[5],12:i:- a été réalisée sous R

**Résultats, discussion et conclusion :**

La revue bibliographique a permis de montrer qu'en France l'émergence du variant monophasique 1,4,[5],12:i:- a été observée dès fin 2007. Des études portant sur *Salmonella* indiquent que ST présente une hétérogénéité cellulaire naturelle dans l'expression de certains gènes. Les gènes et mécanismes impliqués dans l'hétérogénéité observée au sein d'une lignée cellulaire monoclonale seront exposés et discutés. Le bilan de la souchothèque du LNR a montré la présence constante de ce variant dans la filière avicole en France depuis 2015 avec une augmentation des élevages positifs à partir de 2018.

Les données de surveillance, mécanistiques et génomiques témoignent de l'aptitude de ce sérovar à s'implanter et à se maintenir dans les filières de production.

**Mots clés :** Variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium - Hétérogénéité cellulaire - Surveillance - Filière avicole - Zoonose.

## SP10 - One health

SP10-O.1

Environnement

**Régulations biotiques des populations de cyanobactéries lacustres toxigènes**

Sébastien Halary<sup>1</sup> (sebastien.halary@mnhn.fr), Sébastien Duperron<sup>1</sup>, Kim Tiam Sandra<sup>2</sup>, Duval Charlotte<sup>1</sup>, Cécile Bernard<sup>1</sup>, Benjamin Marie<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR7245 MCAM, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, France

<sup>2</sup> UMR5557 EM, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

Les cyanobactéries, responsables d'au moins 25% de la production primaire globale, jouent un rôle écologique fondamental. Mais sous certaines conditions, elles sont également capables de proliférer rapidement engendrant des efflorescences, des événements écosystémiques catastrophiques qui bouleversent profondément et durablement la biodiversité des environnements aquatiques. La production par certaines efflorescences de métabolites secondaires extrêmement toxiques pour la faune et l'homme (*e.g.* hépatotoxines, neurotoxines), représente de surcroît un problème majeur de santé publique. La fréquence et l'amplitude des efflorescences augmentent rapidement depuis 1945, suivant ainsi l'évolution des changements globaux. De fait, des températures élevées et de fortes concentrations en phosphates sont parmi les facteurs abiotiques bien connus favorisant leur développement. Cependant, ces facteurs seuls ne suffisent pas à prédire de manière robuste l'occurrence, la temporalité et la toxicité des efflorescences. En effet, de nombreux autres facteurs semblent essentiels à leur régulation.

Les populations de cyanobactéries semblent extrêmement hétérogènes, d'un point de vue phénotypique et génotypique. Cette grande diversité, qui permet l'adaptation et la résilience des populations, semble régulée par la présence de phycosphères, des communautés de bactéries hétérotrophes en étroite relation avec les cyanobactéries, et par la virosphère. Loin d'être triviales, les conséquences de ces interactions sur le devenir des populations sont encore mal comprises et leur étude nécessitent la mise en place d'approches systémiques multi-disciplinaires.

Dans cet exposé, je vous présenterai les projets mis en place au sein de mon laboratoire pour tenter de mieux décrire la diversité des populations de cyanobactéries efflorescentes toxigènes, et de mieux comprendre leurs dynamiques intégrées dans un système complexe d'interactions biotiques.

**Mots clés :** Cyanobactéries - Efflorescences - Phycosphère - Cyanophages - Régulation.

## SP10 - One health

SP10-1

Environnement

**Des concentrations sous-inhibitrices de gentamicine induisent des changements structurels dans les intégrons de classe 1 dans l'environnement**

Concepcion Sanchez-Cid<sup>1</sup> (concepcion.sanchezcid-torres@ec-lyon.fr), Timothy Ghaly<sup>2</sup>, Michael Gillings<sup>2,3</sup>, Timothy M. Vogel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Environmental Microbial Genomics, Laboratoire Ampère, École Centrale de Lyon, Ecully, France

<sup>2</sup> School of Natural Sciences, Macquarie University, NSW2109, Australia

<sup>3</sup> ARC Centre of Excellence in Synthetic Biology, Macquarie University, NSW2109, Australia

**Introduction et objectifs :**

Les antibiotiques issus des activités anthropogéniques se retrouvent souvent dans l'environnement à des concentrations sous-inhibitrices. Ces concentrations d'antibiotiques peuvent imposer une pression sélective sur les bactéries environnementales, menant à la sélection et dissémination des résistances. Nous avons observé dans une étude précédente que la gentamicine à des concentrations sous-inhibitrices induit une réponse sélective chez les bactéries environnementales et sélectionne des gènes de résistance à la gentamicine (GRGm) retrouvés dans des intégrons de classe 1 (IC1). L'objectif de cette recherche était d'évaluer les effets de ces concentrations sous-inhibitrices de gentamicine sur la composition des cassettes des IC1, nos hypothèses étant que ces concentrations pourraient induire l'intégration des GRGm dans les intégrons, sélectionner des intégrons qui contiennent des GRGm et/ou rapprocher les GRGm du promoteur des intégrons.

**Matériels et méthodes :**

Les IC1 ont été amplifiés par PCR à partir des échantillons d'eau de rivière pollués avec de la gentamicine à des concentrations sous-inhibitrices et inhibitrices sur deux jours. Les intégrons amplifiés ont ensuite été séquencés en utilisant l'Illumina MiSeq et l'Oxford Nanopore MiniON. Les séquences longues ont été groupées par cassettes en utilisant isONcorrect et les cassettes obtenues ont été annotées en utilisant IntegronFinder. La proportion de GRGm dans les cassettes a été déterminée en BLASTant les séquences longues et courtes contre la base de données CARD. Finalement, l'abondance des IC1 a été quantifiée par qPCR.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Des concentrations sous-inhibitrices de gentamicine augmentent l'abondance des GRGm dans les intégrons sans augmenter l'abondance totale des IC1 dans l'environnement. En outre, plusieurs changements dans la structure des cassettes des intégrons ont été détectés après exposition à de la gentamicine à des concentrations sous-inhibitrices, notamment l'intégration des GRGm dans les cassettes. Ces concentrations ont donc le potentiel d'augmenter la mobilisation des GRGm et éventuellement leur dissémination dans l'environnement. Ces gènes pourraient ensuite disséminer au microbiome humain et aggraver la crise actuelle observée en clinique. Cette étude démontre l'un des effets moléculaires des concentrations sous-inhibitrices d'antibiotiques et le besoin de gérer ces polluants émergents en utilisant une approche OneHealth.

**Mots clés :** Dissémination résistance aux antibiotiques - Concentrations sous-inhibitrices - Intégrons - Métagénomique - pollution par des antibiotiques.

## SP10 - One health

SP10-2

Environnement

**Comparaisons génomique et phénotypique de souches de *Pseudomonas aeruginosa* ST27 isolées des voies respiratoires et de l'environnement domestique d'un patient atteint de mucoviscidose**

Ingrid Surage<sup>1</sup> (ingrid.surage@etu.umontpellier.fr), Fabien Aujoulat<sup>1</sup>, Quentin Menetrey<sup>1</sup>, Isabelle Zorghiotti<sup>1</sup>, Raphaël Chiron<sup>1,2</sup>, Estelle Jumas-Bilak<sup>1,3</sup>, Hélène Marchandin<sup>1,4</sup>, Chloé Dupont<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> HSM, Univ. de Montpellier, CNRS, IRD, Montpellier, France

<sup>2</sup> Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose, CHU Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> Laboratoire d'Écologie Microbienne Hospitalière, CHU Montpellier, Montpellier, France

<sup>4</sup> Service de Microbiologie, CHU Nîmes, Nîmes, France

**Introduction et objectifs :**

*Pseudomonas aeruginosa* est le pathogène opportuniste d'origine environnementale majeur dans la mucoviscidose, capable de coloniser chroniquement les voies respiratoires de patients. La taille et la plasticité de son génome lui permettent de s'adapter et de coloniser de nombreuses niches écologiques. Un patient suivi au Centre de Ressources et de Compétence de la Mucoviscidose de Montpellier a été colonisé au niveau respiratoire en 2010 par une souche de *P. aeruginosa* ST27 et ce même génotype a été isolé de tous les points d'eau de son domicile lors d'investigations environnementales en 2015 et 2020. Malgré une exposition quotidienne à *P. aeruginosa* pendant plusieurs années dans son environnement proche, le patient n'a jamais été recolonisé par ce génotype au niveau pulmonaire. Dans ce contexte, les objectifs étaient, d'une part de comparer les caractéristiques de la souche ayant colonisé le patient avec celles des souches environnementales afin d'identifier des propriétés ayant permis la transmission au patient et d'autre part, d'étudier l'évolution des souches environnementales entre 2015 et 2020 afin de déterminer des caractères permettant la persistance environnementale.

**Matériels et méthodes :**

Des comparaisons génomiques (analyse wgMLST, recherches de SNPs et comparaison du contenu génomique) et phénotypiques (études de motilité, de formation de biofilm et antibiogramme/biocidogramme) des souches clinique et environnementales ont été effectuées.

**Résultats et discussion :**

La souche d'origine clinique présente toutes les caractéristiques d'une souche de primocolonisation : mode de vie planctonique, phénotype sauvage de sensibilité aux antibiotiques et faible production de biofilm. Au cours de la persistance environnementale, la diminution de la motilité et la formation de biofilm étaient les caractères d'adaptation majoritaires. Au niveau génomique, un prophage (49,7 kpb) présent au sein des génomes des souches environnementales était absent du génome de la souche ayant colonisé le patient. Si celui-ci a été acquis après 2010, sa présence participe potentiellement au phénomène de persistance des souches au domicile du patient, son contenu est en cours d'analyse. Cette étude met donc en évidence une potentielle transmission de l'environnement au patient mais aussi pour la première fois une persistance pendant 5 voire 10 ans de *P. aeruginosa* dans des réseaux d'eau domestique.

**Mots clés :** *Pseudomonas aeruginosa* - Mucoviscidose - Persistance environnementale - Transmission environnement-patient - Génomique.

## SP10 - One health

SP10-3

Environnement

**Détection de *Legionella pneumophila* résistante aux macrolides dans un réseau d'ECS : rôle du WGS**

Ghislaine Descours<sup>1,2</sup> (ghislaine.descours@univ-lyon1.fr), Laetitia Beraud<sup>1</sup>, Isabelle Pionnier<sup>3</sup>, Cassandra Sallabery<sup>3</sup>, Houcine Bentayeb<sup>4</sup>, Bruno Simon<sup>5</sup>, Camille Allam<sup>1,2</sup>, Joëlle Chastang<sup>1</sup>, Marine Ibranosyan<sup>1</sup>, Véronique Decroix<sup>6</sup>, Christine Campese<sup>7</sup>, Sophie Jarraud<sup>1,2</sup>, Christophe Ginevra<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> CNR des Légionelles, Hospices Civils de Lyon, Institut des Agents Infectieux, Lyon, France

<sup>2</sup> Equipe LegioPath, Inserm U1111, UCB Lyon 1, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, Centre International de Recherche en Infectiologie, Lyon, France

<sup>3</sup> Agence Régionale de Santé Auvergne-Rhône-Alpes, Lyon, France

<sup>4</sup> Service de Pneumologie, Centre Hospitalier Saint-Quentin, Saint-Quentin, France

<sup>5</sup> Plateforme de séquençage GenEPII, Hospices Civils de Lyon, Institut des Agents Infectieux, Lyon, France

<sup>6</sup> Laboratoire de Biologie Médicale, Centre Hospitalier Saint-Quentin, Saint-Quentin, France

<sup>7</sup> Unité des infections respiratoires et vaccinations, Santé publique France, Direction des maladies infectieuses, Saint-Maurice, France

**Introduction et objectif :**

Une résistance aux antibiotiques peut facilement être sélectionnée *in vitro* chez *Legionella pneumophila* (Lp). Néanmoins, les souches résistantes ont rarement été décrites dans des contextes cliniques ou environnementaux, et la recherche de résistance par réalisation d'un antibiogramme est une technique chronophage, classiquement limitée aux patients présentant une légionellose d'évolution défavorable. Ici, nous décrivons comment une approche systématique par séquençage génomique (WGS) a permis d'identifier des souches Lp séro groupe 1 (Lp1) résistantes aux macrolides.

**Matériel et méthodes :**

Dans le cadre de ses missions de surveillance, le WGS des souches cliniques et environnementales est réalisé de façon systématique par technique Illumina® au CNR des Légionelles depuis 2019. Un pipeline bioinformatique recherche les mutations associées à une résistance aux antibiotiques utilisés dans le traitement des légionelloses sur *rpoB* pour la rifampicine, *gyrA*, *gyrB*, *parC* pour les fluoroquinolones, et *rpID*, *rpIV* et *rrl* pour les macrolides. Les antibiogrammes sont réalisés par microdilution en milieu liquide.

**Résultats :**

Un total de 3000 souches de Lp a été caractérisé par WGS depuis 2019. En août 2021, une mutation A2052G a été détectée par WGS sur les 3 copies du gène *rrl* codant l'ARN ribosomique 23S de 8 souches Lp1 environnementales. Ces souches provenaient d'ECS prélevées à différents points du réseau d'un hôtel fréquenté par un cas de légionellose. L'antibiogramme a confirmé un très haut niveau de résistance aux macrolides (CMI érythromycine et azithromycine : 1024 mg/L) sans résistance croisée à d'autres antibiotiques. Par chance, le patient avait été traité d'emblée par fluoroquinolones. Un traitement du réseau (choc thermique et changement de la pompe de recirculation) a permis une négativation de la culture de *Legionella* aux différents points du réseau. Néanmoins, 4 mois plus tard, ce réseau était à nouveau colonisé.

**Conclusion :**

La recherche systématique d'une résistance aux antibiotiques est désormais possible à partir des données de WGS. Elle a permis de décrire pour la 1ère fois en France des souches environnementales Lp1 résistantes aux macrolides. Des investigations sur le réseau d'eau concerné sont en cours.

**Mots clés :** Legionella - Macrolides - Résistance - WGS.

## SP10 - One health

SP10-4

Environnement

**Extensive serosurvey for anti-Ebolavirus antibodies in bats from the West and Central Africa**

Maëliss Champagne<sup>1</sup> (maeliss.champagne@ird.fr), Audrey Lacroix<sup>1</sup>, Dowbiss Meta-Djoms<sup>2,3</sup>, Amandine Esteban<sup>1</sup>, Guillaume Thaurignac<sup>1</sup>, Innocent Ndong Bass<sup>2</sup>, Simon-Pierre Ndimbo-Kumugo<sup>4</sup>, Souana Goumou<sup>5</sup>, Steve Ahuka-Mundeke<sup>4,6</sup>, Alpha Kabinet-Keita<sup>5</sup>, Eitel Mpoudi Ngole<sup>2</sup>, Ahidjo Ayouba<sup>1</sup>, Martine Peeters<sup>1</sup>

<sup>1</sup> TransVIHMI, University of Montpellier, INSERM, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier, France

<sup>2</sup> Centre de Recherche sur les Maladies Emergentes et Réémergentes (CREMER), Yaounde, Cameroun

<sup>3</sup> University of Buea, Buea, Cameroun

<sup>4</sup> National Institute of Biomedical Research (INRB), Kinshasa, Congo-Kinshasa

<sup>5</sup> Centre de Recherche et de Formation en Infectiologie de Guinée (CERFIG), Conakry, Guinée

<sup>6</sup> Service de Microbiologie, Cliniques Universitaires de Kinshasa, Kinshasa, Congo-Kinshasa

Because of the increasing number of outbreaks, the high number of infected individuals, and the wide geographic spread of certain outbreaks, Ebolaviruses become a significant public health problem. Bats are believed to play a role in the ecology of Ebolaviruses as a reservoir species, but more studies are needed to understand the role of bats.

Dried blood spots (DBS), collected from bats captured in their natural environment between 11/2015 and 9/2020, were tested for antibodies with a Luminex-based serological assay including nine recombinant proteins, *i.e.*, glycoprotein (GP), nucleoprotein (NP), or viral protein 40 (VP40) for three Ebolavirus species (Zaire (EBOV), Sudan (SUDV), and Bundibugyo (BDBV)). We used less stringent and stringent conditions to determine cut-offs.

Samples from 9594 bats were tested (Cameroon (4886), Democratic Republic of Congo (1764), Guinea (2944)), from 5972 frugivorous (min 12 species) and 3622 insectivorous (min 12 species) bats from 30 different sites. Antibodies to at least one ebolavirus antigen were seen in 6.2 to 18.9% of samples from 8 frugivorous species (*E.helvum*, *Epomophorus* sp., *Epomops* sp., *H.monstrosus*, *L.angolensis*, *M.pusillus*, *M.torquata*, and *R.aegyptiacus*) and in species of the insectivorous *Molossidae* family. Highest prevalences were seen in *E.helvum*(14.1-48.1%), *H.monstrosus* (12.4-30.6%), and *R. aegyptiacus* (14.1-35.5%), and highest reactivity was with GP antigens (SUDV>EBOV>BDBV). Only between 0.5-2.9% of samples were reactive against more than one antigen of the same Ebolavirus species. Prevalence was higher in adults (9.4%) versus juvenile (14.9%) bats, and on a subset of species in Cameroon, seroprevalence was highest in immature adult bats; 45.4% versus 10.5% and 19.2% in juveniles and adults, respectively. Seroprevalence was lower in gestating (8.4 versus 11.3%) and lactating females for certain species (*E.helvum*, *H.monstrosus*). Overall, we observed lowest prevalences in bat colonies between March and May in each country.

Overall our results on >9500 bat samples with the same antibody detection assay allow to compare prevalences among species, and other factors. Prevalences vary overtime and are related to age, suggesting that seroconversion to Ebola or related viruses occurs in older juvenile and immature adult bats. This information can guide the implementation of strategies to mitigate spill-over events.

**Mots clés :** Ebolavirus - Serology - Bats - Africa - One health.



**SP11 - Environnement et risque fongique chez l'Homme** (en association avec la SFMM)

SP11-O.1

**Conséquences collatérales des fongicides agricoles sur les levures pathogènes : une perspective de santé unique pour lutter contre la résistance aux azolés**

Florent Morio (florent.morio@chu-nantes.fr)

UR1155 IICiMed, Nantes Université / CHU Nantes, Nantes, France

La plupart des espèces fongiques impliquées en médecine sont cosmopolites et ubiquitaires. Elles affectent plus d'un milliard de personnes et comprennent des agents pathogènes majeurs, responsables d'infections chroniques ou pouvant menacer le pronostic vital, tels que ceux du genre *Aspergillus*, *Candida* et *Cryptococcus*. L'arsenal antifongique disponible pour combattre ces infections est encore limité. Parmi cet arsenal, la classe des azolés est largement utilisé pour le traitement mais également la prévention des candidoses et des aspergilloses. La résistance acquise aux azolés, qui compromet l'activité de ces antifongiques survient en cas de traitements prolongés, comme illustré chez les patients traités pour une candidose oropharyngée ou une aspergillose pulmonaire. Cependant, une autre voie d'acquisition de la résistance aux azolés, d'origine environnementale, a été documentée pour *Aspergillus fumigatus*. En effet, l'exposition d'*A. fumigatus* aux fongicides azolés dans l'environnement, peut conférer la résistance aux antifongiques azolés utilisés en médecine. Ce dommage collatéral, lié à l'utilisation croissante de produits phytosanitaires qui partagent la même cible que les antifongiques utilisés en médecine, constitue une problématique de santé publique. De nouvelles mutations liées à pression de sélection environnementale sont régulièrement décrites, illustrant le caractère dynamique de cette phénomène.

Or, de nombreuses espèces de levures impliqués en médecine, sont ubiquitaires et donc également présentes dans notre environnement où elles peuvent, à l'instar d'*A. fumigatus*, être exposées à des composés phytosanitaires. Ainsi, le scénario déjà décrit pour *A. fumigatus* pourrait-il se reproduire avec d'autres espèces fongiques, en particulier des levures ? Avons-nous des arguments scientifiques soutenant que ce processus de sélection est possible et/ou survient déjà dans l'environnement ? Quels sont les risques pour la santé humaine et vétérinaire ? Ce sujet d'importance sera discuté à la lumière d'une revue attentive de la littérature, dans une perspective One Health.

**Mots clés :** One Health - Résistance aux antifongiques - Fongicides - Levures - Médecine.

## Références :

1. Burks C, Darby A, Gómez Londoño L, Momany M, Brewer MT. Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in the environment: Identifying key reservoirs and hotspots of antifungal resistance. *PLoS Pathog.* 2021 Jul 29;17(7):e1009711.
2. Bastos RW, Rossato L, Goldman GH, Santos DA. Fungicide effects on human fungal pathogens: Cross-resistance to medical drugs and beyond. *PLoS Pathog.* 2021 Dec 9;17(12):e1010073.
3. Castelo-Branco D, Lockhart SR, Chen YC, Santos DA, Hagen F, Hawkins NJ, Lavergne RA, Meis JF, Le Pape P, Rocha MFG, Sidrim JJC, Arendrup M, Morio F. Collateral consequences of agricultural fungicides on pathogenic yeasts: A One Health perspective to tackle azole resistance. *Mycoses.* 2022 Mar;65(3):303-311.

**SP11 - Environnement et risque fongique chez l'Homme** (en association avec la SFMM)**SP11-O.2****Diversité génétique de *Cryptococcus* : impact sur l'épidémiologie, la clinique et la résistance aux antifongiques**

Sébastien Bertout (sebastien.bertout@umontpellier.fr)

*Infections mycosiques et parasitaires liées au VIH, UMI TransVIHMI - Université Montpellier, IRD, INSERM, Montpellier, France*

Les levures des complexes d'espèces *Cryptococcus neoformans* et *Cryptococcus gattii* sont responsables de la cryptococcose, une mycose affectant principalement les immunodéprimés. La porte d'entrée du *Cryptococcus* est principalement pulmonaire par inhalation de spores issues de l'environnement. *Cryptococcus* provoque alors une pneumonie puis peut ensuite disséminer dans le système nerveux central entraînant une méningite cryptococcique (MC).

D'après une étude de 2017, la MC est responsable de 181000 décès par an, dont 135900 en Afrique subsaharienne (1). Elle peut être indicateur de l'échec des programmes de traitement du VIH mais d'autres catégories de patients (ex. patients transplantés ou atteints de cancer) représentent une population croissante à risque de MC. Le diagnostic repose sur la détection des levures ou des antigènes dans les prélèvements, la mise en culture et l'identification par spectrométrie de masse.

La taxonomie a été révisée en 2015 (2) et la biologie moléculaire a permis d'identifier sept espèces et dix génotypes au sein des complexes *C. neoformans* et *C. gattii* :

*C. neoformans* (sérotypes A, AFLP1/VNI, AFLP1A/VNB/VNII, AFLP1B/VNII) et *C. deneoformans* (D, AFLP2/VNIV) pour le complexe *C. neoformans*. *C. gattii* (B, AFLP4/VGI), *C. bacillisporus* (C, AFLP5/VGIII), *C. deuterogattii* (B, AFLP6/VGII), *C. tetragattii* (C, AFLP7/VGIV) et *C. decagattii* (B, AFLP10/VGVI) pour le complexe *C. gattii*.

Ces espèces présentent des différences de distribution, de fréquence, de virulence, de manifestations cliniques et de résistance aux traitements.

La prise en charge de la MC est formalisée autour de 3 phases : induction, consolidation et maintenance. Le régime thérapeutique recommandé par l'OMS utilise une combinaison d'amphotéricine B et 5-flucytosine (5FC) puis relai par fluconazole (FCZ) selon l'accès à ces molécules. En Afrique sub-saharienne le FCZ est couramment administré seul ce qui peut entraîner des échecs thérapeutiques. En outre, différents profils de sensibilité aux antifongiques sont observés selon les espèces de cryptocoques. En général, le complexe d'espèces *C. gattii* présente des concentrations minimales inhibitrices (CMI) plus élevées pour les azolés que le complexe *C. neoformans*.

Une approche multidisciplinaire doit donc être abordée pour permettre une meilleure compréhension de la diversité, de l'épidémiologie, de la virulence et de la résistance au traitement des cryptocoques.

**Mots clés :** *Cryptococcus* - Epidémiologie - Résistance - Diversité - Virulence.

## Références :

1. Rajasingham R, Smith RM, Park BJ, Jarvis JN, Govender NP, Chiller TM, et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *Lancet Infect Dis.* 2017; 17 (8):873–81.
2. Hagen, F.; Khayhan, K.; Theelen, B.; Kolecka, A.; Polacheck, I.; Sionov, E.; Falk, R.; Parnmen, S.; Lumbsch, H.T.; Boekhout, T. Recognition of Seven Species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* Species Complex. *Fungal. Genet. Biol.* 2015, 78, 16–48.

**SP11 - Environnement et risque fongique chez l'Homme** (en association avec la SFMM)

SP11-1

**Mining BRC collections through the identification of gene family expansions**

Marie-Noëlle Rosso<sup>1</sup> (marie-noelle.rosso@inrae.fr), Hayat Hage<sup>1,2</sup>, Elodie Drula<sup>1,3</sup>, Shingo Miyauchi<sup>1</sup>, Delphine Chaduli<sup>4</sup>, Anne Favel<sup>4</sup>, David Navarro<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Biodiversité et Biotechnologie Fongiques, INRAe, Aix-Marseille Univ., Marseille, France

<sup>2</sup> Aix-Marseille Université, Marseille, France

<sup>3</sup> Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques, INRAe, USC 1408, Marseille, France

<sup>4</sup> CIRM-CF, INRAe, Aix-Marseille Univ., Marseille, France

Biological Resource Centers (BRC) are a source of genetic material for the study of key biological functions. The CIRM-CF collection (Centre International de Ressources Microbiennes - Champignons Filamenteux; <https://www.cirm-fungi.fr/>) contains more than 3,000 strains of filamentous fungi, mostly collected on rotted wood. These wood decay fungi have the unique ability to degrade all polymers of wood, including crystalline cellulose and lignin, which are highly recalcitrant to degradation. As such, they are a source of enzymes for the incorporation of plant wastes and biorefinery by-products in the bioeconomy. However, the identification of the best performing strains can be time consuming when the screening for a particular phenotype is limited to low- to medium throughput.

Here we used phylogenomics on 50 Polyporales genomes and analyzed the expansion/contraction trajectories of the gene families coding for plant cell wall degrading enzymes. We identified a set of fungal taxa to be targeted in functional screenings. Using cross-species comparative transcriptomics, we identified yet overlooked conserved genes that code for enzymes active at the interface between fungal cell walls and plant cell walls that could contribute to the degradation of recalcitrant plant cell wall polymers.

These findings illustrate how gene family expansions and comparative omics can help sharpening the range of taxa to be tested, when high-throughput functional screenings are not appropriate.

**Mots clés :** CRB - Bioeconomy - Biodiversity - CAZyme - Plant cell wall.

**Références :**

1. Hage et al., 2021, Environ. Microbiol., 5716.
2. Navarro et al., 2021, Comm. Biol., 871.

**SP11 - Environnement et risque fongique chez l'Homme** (en association avec la SFMM)

SP11-2

**Gene repertoires of the *Pneumocystis jirovecii* major surface antigen within infected patients from different geographical locations**Caroline Meier<sup>1</sup> (caroline.meier@chuv.ch), Philippe Hauser<sup>1</sup>, Marco Pagni<sup>2</sup><sup>1</sup> Institut de Microbiologie, Lausanne, Suisse<sup>2</sup> Vital-IT Group, SIB Swiss Institute of Bioinformatics, Lausanne, Suisse**Introduction and Objectives:**

The pathogenic fungus *Pneumocystis jirovecii* causes severe pneumonia in immunocompromised patients. Its major surface glycoproteins (Msg) are potential virulence factors that are located at the cell surface. They are classified into 6 families (Msg-I to VI), Msg-I being the most abundant. One of their functions would be to generate antigenic variation through their hypervariability in order to evade the immune system of the host. Antigenic variation is thought to be generated by (i) intragenic recombinations within the genes of each family, and (ii) mutually exclusive expression in family I, *i.e.* out of ca. 80 *msg-I* genes present in each genome, only the one linked to the single promoter present in the genome is expressed. The exchange of the expressed gene would happen through recombinations, thus creating antigenically heterogeneous *P. jirovecii* populations. The present work aimed at characterizing and comparing the repertoires of expressed and non-expressed *msg-I* genes present in samples of 29 patients from 5 geographical locations.

**Materials and Methods:**

The genes of both repertoires were amplified using generic PCRs and sequenced with PacBio circular consensus sequencing. The resulting reads were analysed using a newly developed bioinformatics pipeline in order to identify the alleles present in each repertoire and determine their abundance.

**Results, Discussion and Conclusion:**

Nearly all repertoires of the 29 patients were unique. About half of the alleles were present in multiple cities, which can be explained by intergenic recombination events that conserve and translocate entire alleles among cities. The other half was present only in single patients, which probably corresponds to newly generated alleles by intragenic recombinations. The varying distribution of the abundance of the alleles present in the expressed repertoires is consistent with the presumed mutually exclusive expression system.

**Mots clés :** *Pneumocystis jirovecii* - Antigenic variation - Recombination - PacBio - Subtelomeres.

**SP12 - Place de la métagénomique pour le diagnostic microbiologique****SP12-O.1**

Clinique

**Diagnostic microbiologique par métagénomique : recommandations du groupe MicMac**Geneviève Hery-Arnaud (genevieve.heryarnaud@gmail.com)*Unité de Bactériologie / Axe Microbiota - UMR1078, CHU Brest / INSERM / UFR de Médecine de Brest, Brest, France*

Les progrès sans cesse constants dans les technologies de séquençage à haut débit et les outils bio-informatiques offrent à présent des possibilités nouvelles pour le diagnostic des maladies infectieuses complexes. Les études démontrent tour à tour le grand intérêt de la métagénomique clinique dans diverses infections, qu'elles soient bactériennes, virales, fongiques ou parasitaires.

Ces nouvelles techniques du diagnostic microbiologique constituent cependant un challenge pour leur mise en place dans les laboratoires d'analyse. A cet effet, le groupe de travail MicMac (**M**icrobiome et **M**étagénomique **C**linique) a rédigé des recommandations qui feront l'objet d'un nouveau chapitre dans la prochaine édition du Référentiel de Microbiologie. L'objet de cette conférence sera d'en expliquer les grandes lignes.

Nous verrons ainsi quelles sont les applications cliniques de ces nouvelles techniques microbiologiques. Les principaux points de vigilance propres aux prélèvements à visée métagénomique seront expliqués de même que les méthodes analytiques utilisées. Les critères d'interprétation, qu'ils soient moléculaires ou clinico-diagnostiques seront passés en revue. Enfin, les principaux défis et perspectives à venir du diagnostic microbiologique par métagénomique seront explicités.

Au total, cette présentation a vocation à donner les clés d'anticipation à tous ceux qui envisageraient de passer à l'ère métagénomique dans leur laboratoire.

*Mots clés* : Métagénomique - Microbiome - NGS - Séquençage haut débit.

## SP12 - Place de la métagenomique pour le diagnostic microbiologique

SP12-1

Clinique

**Internalisation de bactéries commensales du microbiote dans les cellules intestinales**

Robin Louail<sup>1</sup> (robin.louail@univ-rouen.fr), Franklin Florin<sup>1</sup>, Sophie Bernard<sup>2</sup>, Jean-Baptiste Michaud<sup>1</sup>, Jonathan Breton<sup>1,3</sup>, Najate Achamrah<sup>1,3</sup>, Marie-Pierre Tavalacci<sup>1,4</sup>, Moïse Coëffier<sup>1,3</sup>, David Ribet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR INSERM 1073 Nutrition, Inflammation et dysfonction de l'axe intestin-cerveau, Univ. de Rouen Normandie, Rouen, France

<sup>2</sup> PRIMACEN, Université de Rouen Normandie, Rouen, France

<sup>3</sup> Service de Nutrition, CHU de Rouen, Rouen, France

<sup>4</sup> CIC-CRB 1404, CHU de Rouen, Rouen, France

**Introduction et objectifs :**

Le tube digestif est le siège de nombreuses interactions entre les bactéries du microbiote et les cellules de l'épithélium intestinal. Notre vision actuelle de ces interactions est binaire avec d'un côté les bactéries commensales et symbiotiques proliférant dans la lumière intestinale et communiquant avec l'hôte via la sécrétion de divers métabolites et, d'un autre côté, les bactéries pathogènes dont certaines sont capables de pénétrer à l'intérieur des entérocytes.

Nous proposons de remettre en question cette vision dichotomique en faisant l'hypothèse que certaines bactéries commensales/symbiotiques auraient la capacité de s'internaliser dans les cellules intestinales et modifieraient la physiologie des entérocytes.

**Méthodes :**

Nous avons mis en place un protocole de criblage de bactéries du microbiote ayant la capacité de pénétrer dans les cellules épithéliales intestinales. Ce protocole repose sur la co-incubation de bactéries du microbiote avec des lignées de cellules intestinales *in vitro*. L'utilisation d'antibiotiques (gentamicine et imipénem) ne pouvant pas traverser les membranes des cellules eucaryotes permet ensuite d'éliminer les bactéries strictement extracellulaires sans affecter les bactéries s'étant internalisées. Les bactéries intracellulaires sont ensuite isolées et caractérisées par séquençage. Des expériences complémentaires de coculture entre ces bactéries d'intérêt et les cellules intestinales sont alors réalisées pour approfondir les caractéristiques de cette internalisation.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nous avons identifié plusieurs espèces bactériennes du microbiote capables de s'internaliser dans les entérocytes. L'une de ces espèces, *Staphylococcus warneri*, est capable d'envahir les cellules intestinales en utilisant un mécanisme actine-dépendant. Contrairement aux bactéries pathogènes, *S. warneri* ne prolifère pas dans les cellules intestinales. Ces résultats valident notre hypothèse initiale selon laquelle il existerait des bactéries non pathogènes dans le microbiote capables de s'internaliser dans les cellules intestinales. Ces travaux mettent en évidence un nouveau type d'interaction hôte-bactéries au niveau intestinal et ouvrent de nouveaux axes de recherche pour caractériser l'impact de ces événements d'internalisation sur la physiologie des cellules intestinales.

**Mots clés :** Microbiote intestinal - Bactéries intracellulaires - Interaction hôte-bactéries - Staphylococcus.

## SP12 - Place de la métagenomique pour le diagnostic microbiologique

SP12-2

Clinique

**Evolution of gut microbiota, bacterial translocation and acute intestinal injury in patients admitted in intensive care unit for septic shock**

Chloé Magnan<sup>1</sup> (chloe.magnan@chu-nimes.fr), Thomas Lancry<sup>2</sup>, Florian Salipante<sup>3</sup>, Catherine Dunyach-Rémy<sup>1</sup>, Pablo Massanet<sup>2</sup>, Jean-Philippe Lavigne<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Service de Microbiologie et Hygiène Hospitalière, CHU Nîmes, Nîmes, France

<sup>2</sup> Service de Réanimation médicale, CHU Nîmes, Nîmes, France

<sup>3</sup> BESPIM, CHU Nîmes, Nîmes, France

**Objectives:**

Sepsis is a life-threatening organ dysfunction with high mortality rate. Gut origin hypothesis of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) was related to loss of gut barrier function and the ensuing bacterial translocation (BT). The aim of this study was to describe the evolution of gut microbiota in a cohort of septic shock patients over seven days and their potential link to BT.

**Methods:**

Sixty patients hospitalized for septic shock in ICUs at Nîmes University Hospital were included in the study. Epidemiological, clinical and biological data were gathered over 7 days for all patients. Gut microbiota was analyzed through a metagenomic approach. Markers of BT and gut permeability were measured longitudinally: LBP, sCD14, i-FABP, claudin-3 (ELISA) and 16S rDNA (qPCR).

**Results:**

Significantly lower bacterial diversity and richness was observed in gut microbiota of patients at day 7 compared with day 0 ( $p < 0.01$ ). SOFA score at day 0, Acute Gastrointestinal Injury (AGI) local stage, septic shock origin and BT had an impact on alpha diversity. A large increase in *Enterococcus* genera was observed at day 7 coupled with a decrease in *Enterobacteriales*, *Clostridiales*, *Bifidobacterium* and other butyrate-producing bacteria. In the same time, progressive and significant decreases in LBP, sCD14, claudin-3 and i-FABP were described over time. In contrast, 16S rDNA were stable with about 60% patients with BT at each time point. SOFA score at day 0 had an impact on claudin-3 levels with higher plasma concentrations in severe patients ( $p = 0.036$ ). LBP evolution was also significantly related to SOFA score at day 0 ( $p = 0.012$ ). SAPSII score had an impact on i-FABP rate with higher concentrations at the beginning of hospitalization in severe patients ( $p = 0.008$ ).

**Conclusion:**

This study showed the importance of BT during the AGI in septic shock patients. This BT decreased during hospitalisation in ICUs at the same time as the decrease of microbiota diversity. This work gives some new information on the role of gut microbiota and BT during sepsis shock.

*Mots clés* : Gut microbiota - Septic shock - Bacterial translocation - Acute gastrointestinal injury.

## SP12 - Place de la métagénomique pour le diagnostic microbiologique

SP12-3

Clinique

**Détection de *Mycobacterium* dans le microbiote pulmonaire de patients atteints de la mucoviscidose par métaprotéomique**

Pauline Hardouin<sup>1,2</sup> (pauline.hardouin@cea.fr), Hélène Marchandin<sup>3</sup>, Jean Armengaud<sup>2</sup>, Raphaël Chiron<sup>4</sup>, Lucia Grenga<sup>2</sup>

<sup>1</sup> LI2D, Université de Montpellier, Bagnols-sur-Cèze, France

<sup>2</sup> CEA/INRAe/SPI, CEA, Université Paris-Saclay, DMTS, Bagnols-sur-Cèze, France

<sup>3</sup> CNRS, IRD, Service de Microbiologie et Hygiène Hospitalière, HydroSciences, CHU Nîmes, Université de Montpellier, Nîmes, France

<sup>4</sup> Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose, HydroSciences, CHU Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France

La maladie de la mucoviscidose, caractérisée par des infections polymicrobiennes respiratoires difficiles à traiter, pose un sérieux problème de traitement en raison de la difficulté à poser un diagnostic rapide et de la complexité des stratégies multi-médicamenteuses. Dans le but d'apporter un nouvel éclairage sur les communautés microbiennes associées à la mucoviscidose et sur les interactions hôte-microbiote, nous rapportons ici le développement d'une approche innovante basée sur la métaprotéomique.

Une approche innovante de métaprotéomique est adoptée pour analyser des échantillons de sputum collectés longitudinalement chez des patients atteints de la mucoviscidose et chroniquement infectés par *Mycobacterium*. Les échantillons sont traités pour extraire les protéines qui sont analysés par spectrométrie de masse en tandem. La composition taxonomique du microbiote et ses biomasses sont obtenues en interprétant les données brutes via un pipeline bioinformatique développé en interne. Les protéines validées sont analysées en termes d'abondance et d'annotation fonctionnelle pour caractériser le rôle des différents microorganismes et les fonctions associées à l'hôte.

Une moyenne globale de 57814±4300 MS/MS et 31±4% des spectres a été obtenue et attribuée par échantillon. Le signal microbien représentait 14,5±2,0% des métaprotéomes. Les peptides attribués à *Mycobacterium* représentaient 3,1 ± 0,3 % du signal microbien, avec des abondances plus faibles atteintes après un traitement antimycobactérien adapté. Une grande diversité de genres microbiens (bactéries, archées et champignons) y compris ceux qui sont moins explorés ou incultivables a été détectée en plus de *Mycobacterium*. Alors que leur diversité est restée constante au cours du temps, le signal *Mycobacterium* a été corrélé aux changements d'abondance relative d'autres microorganismes, comme *Paraburkholderia*, *Streptomyces*, *Clostridium*, *Aspergillus*, *Colletotrichum* et *Penicillium*. De plus, la caractérisation de la dynamique des profils fonctionnels du microbiote a révélé des mécanismes pouvant favoriser *Mycobacterium*. De même, les fonctions de l'hôte liées à l'inflammation, au métabolisme des lipides et à la réponse immunitaire étaient associées à une abondance accrue de certains pathogènes.

La métaprotéomique constitue ainsi une approche unique pour déchiffrer la composition et le fonctionnement du microbiote respiratoire de la mucoviscidose. Cela permettrait d'identifier des mesures innovantes pour contrôler les infections et/ou guider la prise de décision thérapeutique.

**Mots clés :** Mucoviscidose - Microbiote - Métaprotéomique - Spectrométrie de Masse.



## SP12 - Place de la métagénomique pour le diagnostic microbiologique

SP12-4

Clinique

**Study of the effects of different ammonia sources on anaerobic digestion by time-course analysis and untargeted metabolomics**

Xiaoqing Wang (xiaoqing.wang@inrae.fr), Olivier Chapleur, Stephany Campuzano, Angéline Guenne, Laurent Mazéas

INRAE, Antony, France

**Introduction and Objectives:**

Various studies have focused on the inhibition of ammonia salts on anaerobic digestion (AD), but the concurrent effects of anions from ammonium sources have not been investigated. Untargeted metabolomics provides new perspectives to obtain quantitative descriptions of biological systems by detecting and analyzing metabolites produced by microbes at a specific time and under specific environmental conditions. However, applying metabolomics in AD remains challenging due to the extreme variability of metabolites present in the AD process, which has limited a priori knowledge. Thus, to complement the metabolomics approach, we propose a strategy for longitudinal analysis to study the time-course evolution of metabolites. This strategy helped understand the metabolic pathways of AD affected by different ammonium sources.

**Materials and Methods:**

12 lab-scale anaerobic batch bioreactors fed with biowaste were set up and inhibited by different ammonium salts to form 4 triplicates ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  and a control condition). Degradation was monitored and samples were taken once a week during 9 weeks. Metabolomic analysis was performed on collected supernatants by an LTQ-Orbitrap XL mass spectrometer. Raw HPLC-MS data were converted into mzXML-format files and processed with XCMS online. Then, the output data was filtered to keep metabolites with a significant time-course evolution. A spline-smoothing function was used to model time-course trajectories of kept metabolites. Metabolites with similar time-course evolutions were grouped together by a clustering method. Meanwhile, MS/MS analysis was executed to get MS2 spectra of the fragments. MS-DIAL software and feature-based molecular networking in GNPS were used to help annotate the metabolites.

**Results, Discussion and Conclusion:**

1262 metabolites were detected in all conditions. After data filtration, 611 metabolites of interest were kept, including 96 in common to the 4 conditions. The kept metabolites were grouped into 19 clusters with similar time-course trajectories. Annotation of the common metabolites interprets different metabolic pathways in the presence of different ammonium salts. For example, N-Acetylcarnosine, a degradation product of dipeptide carnosine, was first accumulated and then consumed in the inhibited conditions while consumed all through in the control condition. Untargeted metabolomics can be a promising tool for characterizing the biochemical processes during AD.

*Mots clés* : Anaerobic digestion - Ammonium salts - Untargeted metabolomics - Time-course analysis.

**Conférence plénière****MELISSA : un écosystème simplifié pour les futures missions spatiales habitées**

Christel Paillé (Christel.Paille@esa.int)

*ESA / ESTEC, Noordwijk, Hollande*

Résumé non parvenu.

## SP13 - Session Histoire

SP13-O.1

Session Histoire

**Louis Pasteur (1822-1895) : de la cristallographie à la biologie**Michel Simonet (michellouis.simonet@gmail.com)*Verrières-le-Buisson, France*

Né le 27 décembre 1822 à Dôle (Jura), Louis Pasteur passe son enfance à Arbois où son père est tanneur. Bachelier en 1840, il intègre ensuite l'École normale où il devient agrégé en physique, puis soutient, en 1847, deux thèses, l'une en physique et l'autre en chimie. Un an plus tard, Pasteur présente à l'Académie des sciences sa découverte fondamentale en chimie organique, l'isomérisation, consécutive à son étude sur la morphologie des cristaux de tartrate et paratartrate et leur aptitude à dévier la lumière polarisée. Nommé professeur de chimie et doyen de la faculté des sciences de Lille en 1854, il y débute ses études sur les fermentations et démontre qu'elles résultent de l'activité métabolique de ferments spécifiques. En 1861, Pasteur prouve expérimentalement que l'apparition d'êtres vivants à partir de la matière inerte est impossible, mettant ainsi un terme à la théorie de la génération spontanée. Confronté à des altérations des vins nuisant à leur commerce international, ainsi qu'à des maladies contagieuses des vers à soie ruinant la sériciculture cévenole, Pasteur établit que des êtres vivants microscopiques en sont la cause et propose des moyens pour prévenir leur survenue (la pasteurisation dans la première situation, le grainage cellulaire pour la seconde). Après avoir présenté en 1878, à l'Académie de médecine, l'existence d'un lien entre la présence de microorganismes et l'apparition d'une maladie, Pasteur ouvre la chasse aux microbes contagieux pour le monde animal: atténuer leur virulence et les utiliser comme vaccins protecteurs devient son objectif, et sont ainsi élaborés un vaccin contre le choléra des poules (1879), le charbon (1881), le rouget (1883) et la rage (1885). Devant le succès de la prophylaxie contre la rage humaine après morsure animale, l'Académie des sciences ouvre une souscription publique internationale aboutissant à la création de l'Institut Pasteur, inauguré le 14 novembre 1888. Bien que sa santé se soit très affaiblie après une seconde attaque d'hémiplégie survenue en 1887, Pasteur le dirige jusqu'à sa mort, le 28 septembre 1895. La science aura été la passion de Pasteur durant toute sa vie et il est sans nul doute l'un des plus illustres savants français.

*Mots clés* : Chiralité moléculaire - Fermentation - Ver à soie - Pasteurisation - Vaccin.

**SP14 - Session Prix poster Jeunes Microbiologistes****Catégorie "Graphique"****SP14-O.1****Evaluation of viability of cells of *Listeria innocua* with Raman microspectroscopy after incorporation of heavy water (D<sub>2</sub>O)**

Sylvain Trigueros<sup>1,2</sup> (sylvain.trigueros@anses.fr), Thomas Brauge<sup>1</sup>, Tommy Dedole<sup>2</sup>, Sabine Debuiche<sup>1</sup>, Véronique Rebuffel<sup>2</sup>, Sophie Morales<sup>2</sup>, Pierre Marcoux<sup>2</sup>, Graziella Midelet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory for Food Safety, B3PA, ANSES, Boulogne-sur-Mer, France

<sup>2</sup> LETI, Minatec-Campus, CEA, Grenoble, France

*Listeria innocua* is a Gram-positive ubiquitous bacteria and non-pathogenic although excessively rare cases of septicemia and meningitis infections that have been reported in human and ruminants. *L. innocua* is widely distributed in a range of environments (vegetation, water, soil) and in food-processing environments. Different environmental stresses can induce the viable but non-culturable (VBNC) state of this bacteria during food processing, such as cleaning and disinfection procedures. Bacteria in the VBNC state have very low metabolic activity and do not divide. Consequently, VBNC cells do not grow on culture media but retain the ability to recover and become culturable under favourable conditions (ie. resuscitation). To detect these VBNC bacteria, an innovative approach is to use Raman microspectroscopy coupled with deuterium isotope probing (Raman-DIP). This technique allow evaluating the metabolism of bacteria, but need to treat the bacterial cells with heavy water. This treatment could cause a metabolic stress that can change the state of bacteria from Viable Culturable (VC) to VBNC or dead state. In this study, we evaluated the impact of heavy water incorporation on the viability state of *L. innocua* cells (VC, VBNC, dead) by Raman microspectroscopy. We exposed the *L. innocua* bacterial suspension to different heavy water concentrations (0%, 25%, 50% and 75%) during different times of incubation (from 0h30 to 72h). For each heavy water concentrations, total, viable (VC and VBNC) and VC populations were quantified by qPCR, PMA-qPCR and plate count agar respectively. In parallel, we analyzed heavy water absorption by Raman microspectroscopy. We showed that exposure to heavy water does not affect the viability of *L. innocua* cells. The height of the C-D peak was correlated with the concentration of heavy water in the medium. As the concentration of heavy water increased, the height of the peak increased. Nevertheless, a maximum level of labelling, where the C-D peak reached its maximum was obtained after 2 hours for all concentrations of heavy water. Incorporation of heavy water has no effect on the viability and the most optimal exposure condition for measuring the metabolism of *L. innocua* is 2h of exposure at 75% of heavy water.

**Mots clés :** Listeria - Raman-DIP - Metabolism - Viability detection - Isotope probing.

## SP14 - Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

## Catégorie "Originalité"

SP14-O.2

Deciphering the RNA targetome of SprF1 antitoxin to elucidate its role in *Staphylococcus aureus* antibiotic persistence

Emeline Ostyn (emeline.ostyn@univ-rennes1.fr), Yoann Augagneur, Marie-Laure Pinel-Marie

U1230 BRM, INSERM-Université Rennes 1, Rennes, France

Persister cells are a subpopulation of transiently antibiotic-tolerant bacteria associated with antibiotic treatment failures and relapsing infections. Type I toxin-antitoxin (TA) systems have been linked to persister cell formation. They are composed of a peptide toxin whose overexpression confers growth stasis or cell death, and of an RNA antitoxin that base-pairs with the toxin mRNA to inhibit its translation<sup>1</sup>. We recently demonstrated that SprF1 is an RNA antitoxin that belongs to the SprG1/SprF1 type I TA system in *Staphylococcus aureus*, and also binds ribosomes to inhibit global translation and promote persister cell formation. Here, we aim to identify the RNA direct targets of SprF1 by MAPS (MS2-affinity purification coupled with RNA sequencing) to better understand its role in *S. aureus* antibiotic persistence. To achieve this, an MS2 aptamer was fused at the 5' or 3'-end of SprF1 RNA and cloned in pRMC2 plasmid allowing anhydrotetracycline (aTc) inducible expression. pRMC2-*ms2-sprF1* and pRMC2-*sprF1-ms2* plasmids were transformed into both *S. aureus* HG003 wild type and  $\Delta$ *sprG1*/ $\Delta$ *sprF1* mutant strain. Bacteria were cultured in TSB medium to exponential growth phase prior addition of 0.5  $\mu$ M aTc to induce RNA bait expression. Five minutes after induction, bacteria were lysed, RNAs were extracted and purified by affinity chromatography with MBP-MS2 protein immobilized on an amylose resin. RNA sequencing and differential expression analysis using DESeq2 enabled to identify, besides SprG1, eleven SprF1 target candidates. These include mRNAs encoding the 50S ribosomal protein L31 (SAOUHSC\_02361) and the membrane protein insertase YidC (SAOUHSC\_02327). *In silico* prediction, using intaRNA indicated that physical interaction may occur between SprF1 and these targets. Next step will be to elucidate the mechanism of interaction and then to uncover the biological link between these RNA targets and the persister cell formation mediated by the SprF1 RNA antitoxin in *S. aureus*.

**Mots clés :** MAPS technology - Type I toxin-antitoxin system - SprF1 antitoxin - Antibiotic bacterial persistence - *Staphylococcus aureus*.

## Références :

1. Pinel-Marie ML, Brielle R, Riffaud C, Germain-Amiot N, Polacek N, Felden B (2021). RNA antitoxin SprF1 binds ribosomes to attenuate translation and promote persister cell formation in *Staphylococcus aureus*. *Nat Microbiol.*6: 209-220.

## SP14 - Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

## Catégorie "Démarche Scientifique"

SP14-O.3

**Identification des récepteurs cellulaires et des ligands fongiques impliqués dans la synthèse d'IL-8 par les cellules épithéliales bronchiques infectées par *Aspergillus fumigatus***

Jeanne Bigot<sup>1,2</sup> (jeanne.bigot@aphp.fr), Eloi Poucet<sup>1</sup>, Audrey Moreau<sup>1,3</sup>, Juliette Guitard<sup>1,2</sup>, Christophe Hennequin<sup>1,2</sup>, Harriet Corvol<sup>1,3</sup>, Thierry Fontaine<sup>4</sup>, Viviane Balloy<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U938, Inserm, CRSA, Paris, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Saint-Antoine, APHP, Paris, France

<sup>3</sup> Service de Pneumologie pédiatrique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France

<sup>4</sup> Unité Biologie et pathogénicité fongiques, Institut Pasteur, Paris, France

**Introduction et objectifs :**

*Aspergillus fumigatus* (*Af*) se propage sous forme de spores qui peuvent pénétrer dans le tractus respiratoire où elles sont éliminées par l'immunité innée. En présence d'un déficit immunitaire, les spores peuvent germer et former des filaments. Nous avons montré que les cellules épithéliales bronchiques (CEB), premières cellules respiratoires à entrer en contact avec les pathogènes, reconnaissent les filaments induisant la synthèse d'IL-8, une chimiokine pro-inflammatoire (1). Le récepteur ephrin type-A récepteur 2 (EphA2), identifié dans des cellules épithéliales orales, est décrit pour interagir avec le  $\beta$ -glucane de *Candida albicans* (2). Nos données transcriptomiques issues de CEB infectées par *Af* ont montré une surexpression d'EphA2 en présence des filaments. Dans cette étude, notre but est d'identifier les récepteurs cellulaires, tel que EphA2, les ligands fongiques et les voies de signalisation impliquée dans la réponse inflammatoire des CEB infectées par *Af*.

**Matériels et méthodes :**

Les CEB de la lignée BEAS-2B ont été cultivées dans du milieu F12 supplémenté en antibiotiques et sérum de veau fœtal. Les composés pariétaux purifiés de paroi d'*Af* ont été fournis par le Dr Fontaine. La phosphorylation de EphA2 a été mesurée par Western Blot. Des expériences d'ARN interférence ont été réalisées afin d'étudier l'implication de EphA2 dans la synthèse d'IL-8, mesurée par ELISA. Un inhibiteur de STAT3, le niclosamide, a été utilisé afin d'étudier son rôle dans l'activation des CEB infectées par *Af*.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nous avons montré qu'EphA2 était significativement phosphorylé après 6 et 8 heures d'infection des CEB par *Af* et que sa diminution d'expression était associée à une diminution de synthèse d'IL-8. De même, l'inhibition de STAT3 entraîne une diminution de la synthèse d'IL-8. Nous avons mis en évidence le rôle de plusieurs composés pariétaux d'*Af*, le galactosaminogalactane et les  $\alpha$ -1-3 glucanes, dans la synthèse d'IL-8 par les CEB.

Nos objectifs sont maintenant d'étudier l'interaction de ces composés pariétaux avec EphA2 et des co-récepteurs potentiels et d'identifier les voies de signalisation activées lors de cette interaction. Les données obtenues poseront les bases pour l'étude de médiateurs autres que l'IL-8 induits par cette interaction hôte-pathogène.

**Mots clés :** *Aspergillus fumigatus* - Cellules épithéliales bronchiques - Récepteurs - Paroi - IL-8.

**Références :**

1. Balloy V, Sallenave JM, Wu Y, Touqui L, Latgé JP, Si-Tahar M, et al. *Aspergillus fumigatus*-induced Interleukin-8 Synthesis by Respiratory Epithelial Cells Is Controlled by the Phosphatidylinositol 3-Kinase, p38 MAPK, and ERK1/2 Pathways and Not by the Toll-like Receptor-MyD88 Pathway. *J Biol Chem.* 11 juill 2008;283(45):3051321.
2. Swidergall M, Solis NV, Millet N, Huang MY, Lin J, Phan QT, et al. Activation of EphA2-EGFR signaling in oral epithelial cells by *Candida albicans* virulence factors. *PLoS Pathog.* 20 janv 2021;17(1):e1009221.

SP15 - Communication between Bacteria in Pathogenesis and Commensalism 

SP15-O.1

**Genetic bases of bacterial adaptation during the experimental evolution of a plant pathogen into a legume symbiont**

Delphine Capela (delphine.capela@inrae.fr), Mingxing Tang, Ginaini Grazielli Doin de Moura, Philippe Remigi, Catherine Masson-Boivin

LIPME, INRAe - CNRS, Castanet-Tolosan, France

**Introduction and Objectives:**

Rhizobia, the nitrogen-fixing symbionts of legumes, are phylogenetically very diverse bacteria, scattered among  $\alpha$ - and  $\beta$ -proteobacteria. These bacteria clearly evolved through repeated and independent horizontal transfers of essential mutualistic genes involved in nodulation (*nod*) and nitrogen fixation (*nif-fix*). However, in many cases, post-transfer adaptation steps are likely required to adapt to the new host and lead to mutualism. To know the nature and extent of these adaptive events, we experimentally evolved a plant pathogen *Ralstonia solanacearum* GMI1000 into intracellular symbionts of *Mimosa pudica*, a non-host plant of *R. solanacearum*.

**Materials and Method:**

This has been achieved by transferring the symbiotic plasmid pRalta of the *M. pudica* natural symbiont *Cupriavidus taiwanensis* into the GMI1000 strain. Nodulating variants of the resulting chimeric strain (GMI1000 pRalta) were selected using *M. pudica* as a trap and then subjected to serial cycles of nodulation. At each cycle, bacterial evolved clones were isolated, phenotyped for their symbiotic properties and sequenced.

**Results:**

Although mutualism was not achieved in this experiment, the first symbiotic stages were rapidly obtained and dramatically improved, offering a unique opportunity to identify the genetic bases of the adaptive processes leading to the emergence of new rhizobia. We showed that global regulators controlling hundreds of genes were convergently targeted by evolution in several lineages. In particular, missense mutations inactivating the transcription regulator EfpR or missense mutations in components of the Phc quorum sensing system (*phcB* and *phcQ*) slightly modulating the activation of the downstream regulator PhcA led to an optimized intracellular infection of nodules. EfpR and PhcA belong to an intricate complex regulatory network coordinating the expression of virulence and metabolic functions in *R. solanacearum*. The deregulation of these pathways contributed to a change in the lifestyle of the bacterium, improving its symbiotic infection capacity while decreasing its pathogenicity.

*Mots clés* : Rhizobia - Legume - Symbiosis - Evolution.

**SP15 - Communication between Bacteria in Pathogenesis and Commensalism** **SP15-1****Disrupting bacterial quorum sensing with enzymes towards bacterial control**Raphaël Billot<sup>1</sup> (raphael.billot@gene-greentk.com), Laure Plener<sup>1</sup>, Damien Grizard<sup>1</sup>, Eric Chabrière<sup>2</sup>, David Daudé<sup>1</sup><sup>1</sup> *Gene&GreenTK, Marseille, France*<sup>2</sup> *Université d'Aix-Marseille, Marseille, France*

Many bacteria use *quorum* sensing (QS), a bacterial communication system based on the diffusion and perception of small signaling molecules, to synchronize their behavior in a cell-density dependent manner. This mechanism enables bacteria to adapt their behavior according to the population size and synchronize the expression of genes involved in virulence, antimicrobial resistance and biofilm formation. Methods have emerged to inhibit bacterial communication and counteract its noxious traits. Chemical inhibitors, sequestering antibodies and degrading enzymes have been developed and proved efficient to decrease bacterial virulence. Among these, lactonases and acylases have been particularly studied. These enzymes have been isolated from various bacterial, archaeal, or eukaryotic organisms and have been evaluated for their ability to control several pathogens.

In our team, we study the ability of the enzyme *SsoPox*, an extremophilic lactonase able to degrade acyl-homoserine lactones involved in the communication of numerous Gram-negative bacteria, for inhibiting virulence and biofilm formation in human, animal or plant pathogens. Enzyme engineering approaches have been successfully applied for further increasing the performance of this enzyme and develop concrete biotechnological applications including animal nutrition, agriculture or antifouling .

*Mots clés* : Quorum sensing - Quorum quenching - Lactonase - Enzyme - Bacterial communication.



SP15 - Communication between Bacteria in Pathogenesis and Commensalism 

SP15-2

Single-cell dynamics and persistence of *Legionella pneumophila*

Nicolas Personnic (nicolas.personnic@cnr.fr)

Equipe PERSIST, Centre International de Recherche en Infectiologie, Villeurbanne, France

Research addressing infection processes has recurrently overlooked the ability of genetically identical bacteria to develop, constantly and reversibly, subpopulations with alternative functionalities. To investigate this phenomenon, termed phenotypic heterogeneity, we have established a single-cell and omics-based pipeline to track, collect and analyze the *Legionella pneumophila* phenotypic variants that emerge during the infection [1, 2]. We showed that the pathogen forms, within the host, a multitude of genetically identical individuals with alternative physiologies [1, 2]. The phenotypic variation is a response to the host environments as well as the expression of a regulated bacterial strategy centered on the quorum sensing to generate functionally distinct subpopulations [1-3]. This process is of major clinical importance as it implies the formation of individuals, the persisters, that transiently evade the bactericidal activities of antibiotics. Our biochemical characterization of the persisters ("persistome") [2] unveiled a unique molecular map and, remarkably, a specific virulence program to survive the combined action of the host defenses and the antibiotics, breaking the assumption that persisters are dormant bacteria. During the infection, the pathogen cell-cell variations achieve gains of functions at the population level. Deciphering the biology of the phenotypic variants is challenging as it implies the analysis of rare and unstable subpopulations embedded within complex environments. It however contributes to a better understanding of the mechanisms driving bacterial colonization and the treatment failures.

**Mots clés :** Phenotypic heterogeneity - Persister - Single-cell - Legionella - Infection.

## Références :

1. Striednig B, ..., and Personnic N. Quorum sensing governs a transmissible Legionella subpopulation at the pathogen vacuole periphery. *EMBO Rep.* 2021 Sep 6;22(9): e52972. DOI: 10.15252/embr.202152972.
2. Personnic N, et al. Quorum sensing modulates the formation of virulent Legionella persisters within infected cells. *Nature Communications.* 2019 Nov 18;10(1):5216. DOI: 10.1038/s41467-019-13021-8.
3. Personnic N, et al. Quorum sensing controls persistence, resuscitation, and virulence of Legionella subpopulations in biofilms. *ISME J.* 2021 Sep 19. DOI: 10.1038/s41396-020-00774-0.

SP15 - Communication between Bacteria in Pathogenesis and Commensalism 

SP15-3

**c-di-AMP signaling is required for osmotolerance and bile salt resistance in *Clostridioides difficile***

Marine Oberkamp<sup>1</sup> (marine.oberkamp@pasteur.fr), Audrey Hamiot<sup>1</sup>, Pamela Altamirano-Silva<sup>2</sup>, Olga Soutourina<sup>3</sup>, Bruno Dupuy<sup>1</sup>, Johann Peltier<sup>3</sup>

<sup>1</sup> LPBA, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>2</sup> Universidad de Costa Rica, San José, Costa-Rica

<sup>3</sup> ARNCLO, I2BC, Gif-Sur-Yvette, France

To colonize the host and cause disease, the human enteropathogen *Clostridioides difficile* must sense, respond, and adapt to the harsh environment of the gastrointestinal tract. Nucleotide second messengers are signaling molecules that mediate bacterial responses to changing environmental conditions. In this study, we showed that *C. difficile* produced cyclic diadenosine monophosphate (c-di-AMP) that was essential for growth because it controlled the uptake of potassium. We found that c-di-AMP was also involved in biofilm formation, cell wall homeostasis, osmotolerance, and resistance to detergents and bile salts. The c-di-AMP-binding transcriptional repressor BusR repressed the expression of the compatible solute transporter BusAA-AB. Compared to the parental strain, a *busR* mutant was highly resistant to hyperosmotic and bile salt stresses, whereas a *busAA* mutant was more susceptible. A short exposure of *C. difficile* cells to bile salts decreased intracellular c-di-AMP concentrations, suggesting that changes in membrane properties due to variations in cellular turgor or membrane damage is a signal for the adjustment of the intracellular c-di-AMP concentration. Thus, c-di-AMP in *C. difficile* has pleiotropic effects, including the control of osmolyte uptake to confer osmotolerance and bile salt resistance.

*Mots clés* : Second messengers - Regulation - Hyperosmotic and bile salt stresses.

**SP15 - Communication between Bacteria in Pathogenesis and Commensalism** 
**SP15-4**
**Characterization of the molecular determinants and the consequences of intra and inter-species interactions of the atypical diderm Firmicute *Veillonella parvula***

Louis Dorison (louis.dorison@pasteur.fr), Christophe Beloin, Jean-Marc Ghigo

UMR6047 / Genetic of Biofilms, Institut Pasteur, Paris, France

**Introduction and Objectives:**

*Veillonella parvula* (*Vp*), a prominent member of the dental plaque, is an anaerobic diderm firmicute for which biofilm and intra- and inter-species aggregates formation are instrumental in its lifestyle. Its adhesin arsenal is composed of 12 monomeric and trimeric adhesins (TAAs) of the autotransporter family (T5SS) presenting additional periplasmic domains compared to other previously described TAAs. We have previously shown that one TAA, VtaA, is involved in auto-aggregation and that VtaA and a cluster of adhesins (VtaC-F) are involved in biofilm formation [1]. We now aim to further characterize *Vp* adhesins as molecular actors of co-aggregation and the role of their periplasmic domains.

**Material and Methods:**

Using deletion mutant library of *Vp* adhesins, we identified adhesins responsible for co-aggregation with various known members of the dental plaque by aggregation assay. We evaluated binding to surfaces by ELISA assay using whole-cell targeted antibody.

After deletion of their respective periplasmic domain, we assessed activity of the previously identified adhesins by aggregation assays and western blot.

**Results:**

We evaluated the role of the different *Vp* adhesins in non-specific binding to surfaces and co-aggregation. While VtaF promoted non-specific adhesion to surfaces, VtaA contributed to interaction with *Streptococcus oralis* and VtaE contributed to interaction with *Streptococcus gordonii* and *Actinomyces oris*. Using a bank of *S. gordonii* mutants deleted for surface proteins [2], we identified the *padA* operon as responsible for binding with *Vp*. Implication of co-aggregation for the cells will be evaluated by co-transcriptomic experiments comparing WT strains and co-aggregation defective mutants.

Periplasmic domains of the TAAs are either composed of a coiled-coil motif (found on VtaA, E and F) or an SLH domain. SLH domains of three adhesins of unknown function are being purified to investigate peptidoglycan binding activity. Deletion of the coiled-coil motif results in loss of function and reduced/absence of detectable proteins for the three adhesins suggesting an important role of this domain in production and stability of functional adhesins. Why these domains are not always presents in TAAs remains an opened question.

This work will give us a better understanding of TAAs functionality and their impact on bacteria.

**Mots clés :** Secretion system - Biofilm - Aggregation - Adhesin.

**Références :**

1. Béchon N, Jiménez-Fernández A, Witwinowski J, Bierque E, Taib N, Cokelaer T, et al., 2020, Autotransporters Drive Biofilm Formation and Autoaggregation in the Diderm Firmicute *Veillonella parvula*. *Journal of Bacteriology* [Internet]. 202(21).
2. Nairn BL, Lee GT, Chumber AK, Steck PR, Mire MO, Lima BP, et al., 2020, Uncovering Roles of *Streptococcus gordonii* SrtA-Processed Proteins in the Biofilm Lifestyle. *Journal of Bacteriology* [Internet]. 203(2).

**SP16 - Stratégies antivirales : cibles cellulaires, antiviraux directs, anticorps monoclonaux****SP16-O.1****Polymérase, Methyltransférases et Exonucléases : les avantages d'un ménage à trois chez les virus à ARN**

Bruno Canard (bcanard@protonmail.com)

*AFMB Aix-Marseille, Marseille, France*

Résumé non parvenu.

**SP16 - Stratégies antivirales : cibles cellulaires, antiviraux directs, anticorps monoclonaux****SP16-1**

Virologie

**Inhibiteurs du transport membranaire cellulaire contre les virus respiratoires**Adrien Le Rouzic<sup>1,2</sup> (adrien.le-rouzic@inrae.fr), Marie Galloux<sup>1</sup>, Julien Barbier<sup>2</sup>, Daniel Gillet<sup>2</sup><sup>1</sup> *Unité de Virologie et Immunologie Moléculaires (VIM), INRAE, Jouy-en-Josas, France*<sup>2</sup> *Service d'Ingénierie Moléculaire pour la Santé (SIMoS), CEA Paris-Saclay, Saclay, France***Introduction et objectifs :**

Avec plus de 200 000 décès par an dans le monde, le virus respiratoire syncytial (VRS) est la première cause d'hospitalisation des jeunes enfants. Après plus de soixante années de recherche, il n'existe aucun vaccin. Le seul traitement disponible est un anticorps monoclonal (Palivizumab). Le coût élevé de ce traitement ainsi que son efficacité limitée en restreint l'administration à des prématurés ou à des enfants atteints de cardiopathie.

Le développement d'antiviraux est donc une nécessité.

Nous avons isolé par criblage à haut débit et optimisé une nouvelle entité chimique (NCE), Retro-2.1, qui protège les cellules contre une douzaine de virus dont le VRS. Cet antiviral est remarquablement non toxique, et la preuve de concept de son efficacité *in vivo* chez la souris contre les infections par la vaccine et l'entérovirus 71 a été publiée. Les objectifs de ce projet sont d'évaluer l'activité antivirale du composé Retro-2.1 contre le VRS et de caractériser en détail son mécanisme d'action.

**Matériels et méthodes :**

L'activité de composés antiviraux peut être évaluée en utilisant des virus recombinants fluorescents ou luminescents. Le taux d'infection est mesuré sur cultures de cellules et chez la souris.

Des approches de génétique inverse permettent de caractériser le mécanisme d'action des composés antiviraux sur différentes étapes du cycle viral, de l'entrée du virus dans la cellule jusqu'aux étapes de libération de nouveaux virions, en passant par la réplication/transcription du génome viral.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nous avons déterminé la concentration efficace médiane (EC50) du composé Retro-2.1 contre le VRS. Retro-2.1 agit en inhibant la fusion cellulaire induite par l'infection au VRS, qui induit la formation de syncytia caractéristiques. L'extinction par siRNA de l'expression des protéines Sec16a et syntaxine-5 induit aussi une diminution de l'infection et de la formation des syncytia. Ces observations suggèrent une action de Retro-2.1, via son action sur Sec16a et syntaxine-5, sur le trafic, la maturation et/ou l'activité de la protéine de fusion F du VRS.

*Mots clés :* Virologie - Chimie thérapeutique - Small interfering RNA.

**SP16 - Stratégies antivirales : cibles cellulaires, antiviraux directs, anticorps monoclonaux****SP16-2**

Virologie

**Serum neutralization of SARS-CoV-2 Omicron BA.1, BA.2 and BA.5 in patients receiving monoclonal antibodies**

Timothée Bruel<sup>1</sup> (timothee.brue@pasteur.fr), Jérôme Hadjadj<sup>2</sup>, Piet Maes<sup>3</sup>, Karl Stefic<sup>4</sup>, Lynda Handala<sup>4</sup>, Delphine Planas<sup>1</sup>, Aymeric Seve<sup>5</sup>, Isabelle Staropoli<sup>1</sup>, Florence Guivel-Benhassine<sup>1</sup>, Françoise Porrot<sup>1</sup>, William-Henry Bolland<sup>1</sup>, Yann Nguyen<sup>2</sup>, Marion Casadevall<sup>2</sup>, Caroline Charre<sup>2</sup>, Hélène Péré<sup>2</sup>, David Veyer<sup>2</sup>, Matthieu Prot<sup>1</sup>, Artem Baidaliuk<sup>1</sup>, Lize Cuypers<sup>6</sup>, Cyril Planchais<sup>1</sup>, Hugo Mouquet<sup>1</sup>, Guy Baele<sup>3</sup>, Luc Mouthon<sup>2</sup>, Laurent Hocqueloux<sup>5</sup>, Etienne Simon-Lorier<sup>1</sup>, Emmanuel André<sup>6</sup>, Benjamin Terrier<sup>2</sup>, Thierry Prazuck<sup>5</sup>, Olivier Schwartz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Pasteur, Paris, France

<sup>2</sup> APHP, Paris, France

<sup>3</sup> KU Leuven, Louvain, Belgique

<sup>4</sup> CHRU de Tours, Tours, France

<sup>5</sup> CHR d'Orléans, Orléans, France

<sup>6</sup> University Hospitals Leuven, Louvain, Belgique

The SARS-CoV-2 Omicron BA.1 has been supplanted in many countries by the BA.2 and BA.5 sublineages. BA.2 differs from BA.1 by about 21 mutations in its spike. BA.5 has 3 additional changes compared to BA.2. Here, we first compared the sensitivity of authentic isolates of BA.1, BA.2 and BA.5 to neutralization by 10 therapeutic monoclonal antibodies (mAbs). In contrast to BA.1, BA.2 and BA.5 were sensitive to Cilgavimab, partly inhibited by Imdevimab and resistant to Adintrevimab. Sotrovimab neutralized BA.1 and to a lesser extent BA.5, but was poorly active against BA.2. Bebtelovimab was the only mAb highly active against all tested strains. We then analyzed sera from 29 immunocompromised individuals up to one month after administration of the Ronapreve (Casirivimab and Imdevimab) and/or Evusheld (Cilgavimab and Tixagevimab) antibody cocktails. All treated individuals displayed elevated antibody levels in their sera, which efficiently neutralized the Delta variant. Sera from Ronapreve recipients did not neutralize BA.1 and weakly inhibited BA.2. Neutralization of BA.1 and BA.2 was detected in 19 and 29 out of 29 Evusheld recipients, respectively. As compared to the Delta variant, neutralizing titers were more markedly decreased against BA.1 (344-fold) than BA.2 (9-fold). Ongoing experiments aim at measuring the capacity of these sera to neutralize BA.5. We further report 4 breakthrough Omicron infections among the 29 individuals, indicating that antibody treatment did not fully prevent infection. Our data show that BA.1, BA.2 and BA.5 exhibit noticeable differences in their sensitivity to therapeutic mAbs. Anti-Omicron neutralizing activity of Ronapreve, and to a lesser extent that of Evusheld, is reduced in patients' sera.

*Mots clés* : SARS-CoV-2 - Omicron - Antibodies - Therapy - Prophylaxy.

**SP16 - Stratégies antivirales : cibles cellulaires, antiviraux directs, anticorps monoclonaux****SP16-3**

Virologie

**Des cribles CRISPR bidirectionnels à l'échelle du génome révèlent de nouveaux facteurs de l'hôte régulant la réplication de SARS-CoV-2, MERS-CoV et des coronavirus saisonniers HCoV**

Antoine Rebendenne<sup>1</sup> (antoine.rebendenne@irim.cnrs.fr), Priyanka Roy<sup>2</sup>, Boris Bonaventure<sup>1</sup>, Ana Luiza Chaves Valadão<sup>1</sup>, Lowiese Desmarests<sup>3</sup>, Mary Arnaud-Arnould<sup>1</sup>, Yves Rouillé<sup>3</sup>, Marine Tauziet<sup>1</sup>, Donatella Giovannini<sup>4</sup>, Jawida Touhami<sup>4</sup>, Yenarae Lee<sup>2</sup>, Peter DeWeirdt<sup>2</sup>, Mudra Hegde<sup>2</sup>, Serge Urbach<sup>5</sup>, Khadija El Koulali<sup>6</sup>, Francisco Garcia de Gracia<sup>1</sup>, Joe McKellar<sup>1</sup>, Jean Dubuisson<sup>3</sup>, Mélanie Wencker<sup>7</sup>, Sandrine Belouzard<sup>3</sup>, Olivier Moncorgé<sup>1</sup>, John Doench<sup>2</sup>, Caroline Goujon<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> Genetic Perturbation Platform, Broad Institute of MIT and Harvard, Cambridge, États-Unis

<sup>3</sup> Lille University, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, Lille, France

<sup>4</sup> IGMM, Montpellier, France

<sup>5</sup> IGF, Montpellier, France

<sup>6</sup> BCM, Montpellier, France

<sup>7</sup> CIRI, Lyon, France

Plusieurs cribles CRISPR knock-out (KO) à l'échelle du génome ont été réalisés pour identifier des facteurs de l'hôte régulant la réplication de SARS-CoV-2, mais les modèles utilisés s'appuyaient jusqu'ici sur des cellules non naturellement permissives à SARS-CoV-2. De plus, ces cribles n'avaient pas encore identifié la protéase TMPRSS2, nécessaire à l'entrée virale au niveau de la membrane plasmique.

Dans cette étude, nous avons effectué une méta-analyse des cribles publiés et avons montré une importante spécificité des hits identifiés quant aux types cellulaires utilisés pour leur identification, exposant la nécessité de modèles supplémentaires et plus pertinents pour découvrir l'ensemble des facteurs de l'hôte de SARS-CoV-2. Nous avons effectué des cribles CRISPR KO et activation à l'échelle du génome dans les cellules pulmonaires Calu-3, ainsi que des cribles KO dans les cellules colorectales Caco-2, suivis de cribles secondaires dans ces mêmes lignées cellulaires et dans les cellules A549-ACE2 et Huh7.5.1-ACE2. En plus d'identifier ACE2 et TMPRSS2 comme meilleurs hits, notre étude révèle une série de facteurs de dépendance à l'hôte non identifiés et critiques à ce jour, notamment les adaptines AP1G1 et AP1B1 et la flippase ATP8B1. De plus, de nouvelles protéines présentant de fortes activités antivirales contre SARS-CoV-2, dont plusieurs mucines associées à la membrane, ont été identifiées. Ces protéines agissent principalement à l'étape de l'entrée virale, à l'exception d'ATP8B1, dont le KO empêche les étapes tardives de la réplication virale. En explorant l'étendue pro- et antivirale de ces gènes à l'aide de MERS-CoV et des HCoV-NL63 et -229E saisonniers, nous révélons que certains gènes comme AP1G1 et ATP8B1 sont des cofacteurs généraux des coronavirus. De façon intéressante, le priming de Spike induit par la trypsine peut contourner l'inhibition de l'entrée induite par le KO d'AP1G1, suggérant que AP1G1 régule le priming de Spike à la membrane plasmique. De plus, les mucines ont récapitulé leur rôle connu en tant que mécanisme général de défense antivirale.

Ces résultats démontrent l'importance de la prise en compte de plusieurs modèles cellulaires et de modalités de perturbation (KO et activation) pour comprendre la réplication de SARS-CoV-2.

*Mots clés* : SARS-CoV-2 - Cribles CRISPR - Facteurs de dépendance à l'hôte - Protéines antivirales.

**SP16 - Stratégies antivirales : cibles cellulaires, antiviraux directs, anticorps monoclonaux**

SP16-4

Virologie

**Antiretroviral drugs effect against Equine Infectious Anemia Virus**

Cécile Schimmich<sup>1,2</sup> (cecile.schimmich.ext@anses.fr), Delphine Froger<sup>1</sup>, Fanny Lecouturier<sup>1</sup>, Anthony Madeline<sup>1</sup>, Astrid Vabret<sup>3</sup>, José Carlos Valle-Casuso<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Santé Animale, Unité PhEED, ANSES, Goustranville, France

<sup>2</sup> UniCaen-Université de Caen Normandie, Caen, France

<sup>3</sup> DynaMicURe UniCaen/UniRouen, INSERM UMR1311, Caen, France

The Equine Infectious Anemia Virus (EIAV) is a macrophage-tropic lentivirus belonging to the *Retroviridae* family, similar to the Human Immunodeficiency Virus (HIV). Equine Infectious Anemia (EIA) is an almost worldwide disease with no curative or preventive treatment today. This disease is characterized by an acute phase with vague clinical signs followed by a chronic phase with recurring febrile episodes and finally by an asymptomatic phase, where the asymptomatic carriers never eliminate the virus and become a reservoir. To control the risk of EIAV spread, some countries, including France, euthanize the EIAV positive horses.

As EIA has no treatment, our strategy is to test if some drugs, already characterized as antiretroviral drugs active against HIV infection, could impair the EIAV replication. Since HIV and EIAV are viruses from the same family and share steps in their replication mechanisms, some molecules used to fight HIV infection may impair the EIAV replication. To prove that, first, we evaluated the molecules' cytotoxicity on equine dermis cells (ED cells). This allowed us to choose the range of molecule concentration to use to counteract EIAV infection of ED cells, our model. As EIAV is a non-lytic virus, to assess the infection, we have developed an *in vitro* EIAV infection protocol on equine cells and set up an RT-qPCR protocol to quantify the EIAV viral replication. Our first results clearly show that EIAV replicates in the ED cells at 24h, 72h, and 144h after the viral inoculation. Taking advantage of this successful *in vitro* infection model, we tested anti-HIV antiviral drugs to assess their potential antiretroviral effects against the EIAV. Our results showed that several drugs importantly decrease the EIAV virion production in the supernatant of EIAV infected cells. We also checked for proviral genome integration into the horse's genome, in infected cells, in presence of these drugs. Some of them show a clear cell protection against EIAV proviral DNA integration. These exciting results make us believe that the EIAV is an excellent research model contributing to understand the fundamental mechanisms of retroviral infection and the drug development of antiretroviral therapies from a ONE HEALTH approach.

**Mots clés :** Virus - Retrovirus - EIAV - HIV - Antiviral.



**SP17 - Microbiologie des aliments : y'a comme des « ...iques »****SP17-O.1****L'apport et les hics des approches « iques » en science des aliments : exemple du projet ANR Redlosses**Monique Zagorec (monique.zagorec@inrae.fr)*Secalim, INRAe, Nantes, France*

Depuis maintenant plus de deux décennies, les approches en « iques » comme la génomique, la protéomique, la transcriptomique et leurs versions « méta » ont considérablement enrichi notre connaissance de la microbiologie des aliments. En comparaison des méthodes culturales, ces approches ont par exemple révélé la présence d'espèces bactériennes insoupçonnées ou inconnues auparavant. Elles ont également permis d'appréhender les interactions microbiennes au sein des aliments et les fonctions mises en œuvre lors de la préparation ou du stockage des aliments. En particulier des interactions entre espèces contribuant à l'altération ou la biopréservation des aliments ont été mises en évidence. Elles nous ont amené à considérer la microbiologie des aliments sous un aspect d'écologie microbienne. L'ensemble du monde microbien peuplant nos aliments semble maintenant possible à appréhender. Cependant, ces méthodes présentent des limites et leur application ainsi que l'interprétation des résultats qu'elles génèrent doivent être considérées avec pondération. Les limites de détection de certaines espèces sous dominantes, la difficulté d'identification des espèces, genres ou familles présents, leur quantification doivent en particulier être pris en compte. Enfin, la détection de fonctions par analyse génomique, ou de l'expression de gènes par transcriptomique, bien qu'étant informatives, ne doivent pas être déconnectées de la réalité biologique. Plusieurs exemples issus de la littérature et du projet ANR Redlosses seront utilisés pour montrer la puissance de ces approches et leur limites.

*Mots clés* : Omiques - Métaomiques - Altération - Fermentation - Biopréservation.

## SP17 - Microbiologie des aliments : y'a comme des « ...iques »

SP17-1

**Enterobacteria and lactic acid bacteria fight during spontaneous vegetable fermentation**

Anne Thierry<sup>1</sup> (anne.thierry@inrae.fr), Marie-Noelle Madec<sup>1</sup>, Anne-Sophie Bage<sup>1</sup>, Victoria Chuat<sup>1</sup>, Laurent Marché<sup>2</sup>, Florence Valence<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR1253 STLO, INRAE, Rennes, France

<sup>2</sup> INRAE, Nantes, France

**Introduction and Objectives:**

Fermented vegetables are traditionally consumed in central Europe and Asia, and have recently received a renewed interest in Western Europe, leading to their domestic and artisanal production. Our objective was to better understand the microbial dynamics of such spontaneous fermentations and the potential safety risks associated with their consumption.

**Materials and Methods:**

A 2<sup>3</sup> experimental design was set up for two vegetables, cabbage and carrots, either coarsely or finely cut, firmly pressed down in 500 mL-jars and filled up with brine to reach final NaCl concentrations of 0.8% or 1.0% (w/w). Jars were incubated at 19°C for 7 months and two independent jars characterized at each time point using culture-dependent and -independent (16S metabarcoding) approaches. 1 to 5 isolates picked up from plates were identified by 16S sequencing. pH and pathogenic bacteria were also analysed.

**Results, Discussion and Conclusion:**

The types of vegetables and of cutting significantly influenced microbial counts and pH, while the NaCl concentration did not. In both sliced and grated carrots, the pH rapidly dropped to < 3.9, while lactic acid bacteria (LAB) counts ranged from 7.7 to 9.1 log CFU/g-1 and enterobacteria from 6.1 to 7.2 log after 40 h. In contrast, lactic fermentation was far slower in grated and leaf cabbages. After 40 h, their pH was still > 6.1 and enterobacteria counts (> 8 log) exceeded LAB counts (0 to 5.8 log). A great variability was observed from replicate jars especially for leaf cabbage. Yeasts were systematically detected at the beginning of fermentation. After 7 months, all vegetables were at pH < 3.7 and enterobacteria no more detected. No pathogenic bacteria were detected. On the 59 clones isolated from MRS plates, 16 taxons were identified, including mainly *Leuconostoc*, followed by *Lactobacillus*-related species, in both vegetables. Metabarcoding analysis strongly differentiated the two vegetables, with around 70% of shared ASV between carrot and cabbage, and their cutting, in particular for cabbage leaf.

This study highlights the tight competition between enterobacteria and LAB in the colonisation of fermented vegetables, illustrates the diversity of their microbiota, and highlights a great variability between replicate jars.

*Mots clés* : Fermented vegetables - Cutting - Lactic acid bacteria - *Leuconostoc* - Enterobacteria.

## SP17 - Microbiologie des aliments : y'a comme des « ...iques »

SP17-2

## Étude de symbioses et recherche de nouvelles souches microbiennes alimentaires à travers la constitution et l'exploration d'une kéfirothèque

Jean-Baptiste Boulé<sup>1</sup> (jean-baptiste.boule@mnhn.fr), Alexandra Joubert<sup>1</sup>, Marine Chambeaudie<sup>1</sup>, Evelyne Duvernois-Berthet<sup>2</sup>, Nehama Edery<sup>1</sup>, Anne-Claire Vershueren<sup>1</sup>, Solène Leprince<sup>1</sup>, Maxence Blanchet<sup>1</sup>, Pierre Renault<sup>3</sup>, présenté par [Christophe Lavelle](#)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Structure et Instabilité des Génomes, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, France*

<sup>2</sup> *PhyMA, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, France*

<sup>3</sup> *MICALIS, INRAE, Jouy-en-Josas, France*

**Introduction :**

De nombreuses sociétés produisent traditionnellement des boissons par fermentation, déclenchée spontanément ou favorisée par l'ajout d'un catalyseur biologique. Nous explorons ici l'utilisation de grains de kéfir pour la fermentation de jus de fruits et de lait. Ces grains sont composés de communautés de microorganismes (bactéries et levures) agrégés dans une matrice polysaccharidique (1). Le kéfir véhicule une image de boisson «saine» riche en probiotiques, qui explique en partie l'engouement dont il fait preuve auprès des consommateurs (2). Des études récentes ont commencé à caractériser les consortia microbiens présents dans quelques grains de kéfirs (3,4) mais l'on sait encore très peu de chose sur l'étendue de la biodiversité présente et l'hétérogénéité de cette boisson.

**Matériels et méthodes :**

Afin de caractériser le kéfir dans toute sa diversité, nous avons mis en place une banque de souches («kéfirothèque») destinée à s'élargir au grès de collectes via les contacts établis sur les plateformes de dissémination du kéfir et forums dédiés lors des études sociologiques que nous menons en parallèle des analyses biologiques (3). Côté biologie, les souches sont d'une part mises en fermentation en bioréacteur pour mesure cinétique des paramètres physiologiques de fermentation (pH, RedOx, O<sub>2</sub>, T°, turbidité) et d'autre part soumises à une analyse métagénomique pour caractériser les espèces présentes dans le grain comme dans la boisson ainsi que leur dynamique lors de la fermentation (5).

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les premiers résultats nous permettent déjà de révéler une diversité insoupçonnée, non seulement dans la diversité des espèces présentes mais également dans la variété d'une souche de kéfir à l'autre. Des différences dans les quantités respectives de chaque espèce entre le grain et la boisson sont aussi à noter, rendant essentiel la compréhension des équilibres sous-jacents dans la perspective d'une meilleure caractérisation des boissons, notamment afin d'évaluer à terme le caractère probiotique et ses effets éventuels sur la santé, dont les études sociologiques nous confirment le caractère prépondérant dans la motivation des consommateurs à cultiver et consommer cette boisson.

**Mots clés :** Kéfir - Alimentation - Fermentation - Microbiologie - Biodiversité.

**Références :**

1. Laureys D, De Vuyst L. 2014. Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation. *Appl Environ Microbiol.* 80(8): 2564–2572.
2. Debailly R, Lavelle C, Schultz E. 2018. Conserver un aliment vivant. Entretien et circulation d'un ferment : le cas du Kéfir. *Techniques et Culture «Le temps des aliments»* 69:180-183.
3. Gulitz A, Stadie J, Wenning M, Ehrmann MA, Vogel R F. 2011. The microbial diversity of water kefir. *International Journal of Food Microbiology* 151(3), 284–8.
4. Nalbantoglu U, Cakar A, Dogan H, Abaci N, Ustek D, Sayood K, Can H. 2014. Metagenomic analysis of the microbial community in kefir grains. *Food Microbiol.* 41:42-51.
5. Lavelle C, Boulé JB. 2021. Fermentation: a short scientific and culinary overview of kefir. p.331-333. In Lavelle C, Burke R, Kelly A, This vo Kientza H. *Handbook of Molecular Gastronomy: Scientific Foundations, Educational Practices, and Culinary Applications.* CRC Press 2021, Oxford, United Kingdom.

## SP17 - Microbiologie des aliments : y'a comme des « ...iques »

SP17-3

**Microbiome engineering as a biopreservation approach to reduce *Listeria monocytogenes* in food**

Frédéric Borges<sup>1</sup> (frederic.borges@univ-lorraine.fr), Cécile Mangavel<sup>1</sup>, Alexis Dijamentiuk<sup>1</sup>, Chloé Gapp<sup>1</sup>, Madga Corgneau<sup>1</sup>, Laurent Guillier<sup>2</sup>, Mickaël Desvaux<sup>3</sup>, Marcia Leyva Salas<sup>1</sup>, Anne-Marie Revol-Junelles<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LIBio, Université de Lorraine, Vandœuvre, France

<sup>2</sup> Unité d'Évaluation des Risques liés aux Aliments, ANSES, Direction à l'évaluation des risques, Maisons-Alfort, France

<sup>3</sup> UMR454 MEDIS (Microbiologie, Environnement Digestif, Santé), UCA, INRAe, Clermont-Ferrand, France

**Introduction and Objectives:**

Microbiome engineering is among the most promising technologies for improving microbiological quality of food. The emergence of disruptive technologies taking into account the heterogeneity of food is essential to enable the design of microbial ecosystems of sufficient complexity to provide the desired functions with high robustness. In this work, we have studied the impact of combining multiple biotic and abiotic variables on competition interactions between food bacteria and the pathogen *Listeria monocytogenes*. The results were used to perform statistical classification of microorganisms for ecological engineering of microbial systems for biopreservation purposes.

**Materials and Methods:**

We have implemented high-throughput multivariate microbial culture competition assays. The explored variables are the microbial diversity (at the intraspecific and interspecific levels), abiotic factors (pH, NaCl and glucose concentration) as well as the time lag and the level of inoculation. The intraspecific variability was investigated within the species *Carnobacterium maltaromaticum*, and the interspecific variability was studied with a set of representative cheese and meat strains.

**Results and Conclusion:**

The robustness of the inhibitory potency of *C. maltaromaticum* strains was highly variable according to environmental variables. This allowed the selection of robust antagonistic *Carnobacterium maltaromaticum* strains whose anti-*Listeria* properties are little sensitive to fluctuations. Moreover, high throughput experimental designs describing surface response of microbial interactions between food microorganisms and *L. monocytogenes* were used to guide the reasoned assembly of synthetic communities able to inhibit *L. monocytogenes* in a multidimensional space characterizing the physicochemical heterogeneity of the food matrix.

**Mots clés :** Heterogeneity - Microbiome engineering - Biopreservation - Pathogen.

## SP17 - Microbiologie des aliments : y'a comme des « ...iques »

SP17-4

**Mango Microbiota: From the Orchard to the Plate**

Jean-Christophe Meile<sup>1</sup> (meile@cirad.fr), Ahmed Taïbi<sup>2</sup>, Florentin Constancias<sup>1</sup>, Sylvie Lortal<sup>3</sup>, Dominique Pallet<sup>1</sup>, Véronique Broussolle<sup>4</sup>

<sup>1</sup> UMR QUALISUD, CIRAD, Montpellier, France

<sup>2</sup> UMR QUALISUD, CIRAD, Saint-Pierre, Réunion

<sup>3</sup> UMR QUALISUD, INRAe, Montpellier, France

<sup>4</sup> SQPOV, INRAe, Avignon, France

Microorganisms are an integral part of the fruit composition. The structure and variations of microbial communities on the fruit surface (epiphytes) can have drastic consequences on the quality of the fresh fruit, its post-harvest shelf life, and after processing on the safety of the finished products. However, the current knowledge of the structure and functions of the fruit microbiota remains limited. While previous studies mainly focused on the detection of pathogens, an increasing number of recent works take into account the microbial communities and their drivers (environmental factors...). The present work aimed at exploring the composition of microbial communities (bacteria and fungi) present on the mango surface, as well as their quantitative and qualitative evolution along the Production-Storage-Transformation continuum.

A DNA metabarcoding (using high-throughput sequencing) approach was used to study the structure and variations of microbial communities on the tree in relation to biotic and abiotic factors. The evolution of the mango microbiome during storage and post-harvest processing (drying and minimally processed product) was then studied. By integrating data from metabarcoding together with microbial counting and physicochemical parameters of mangoes as well as climatic data, this approach made it possible to identify key factors impacting the microbial communities associated with mango and their variations in the processed products.

The main spatial and temporal factors shaping the microbial communities on the tree were identified and will be described. Also, the storage conditions (time and temperature) and the transformation process chosen select certain microbial taxa and reduce the associated microbial diversity. The variations observed depend on the fruit ripening stage at harvest. The results obtained provided insights into the global microbial ecosystem of (tropical) fruits, and the data generated can be used in an integrated approach to limit losses and control post-harvest diseases of fruits, in particular by the use of adapted conservation and transformation methods.

*Mots clés* : Mango - Metabarcoding - Bacteria - Fungi - Fruit Production and post-harvest.

**SP18 - Interactions microbiennes dans l'environnement** (en association avec l'AFEM)**SP18-O.1**

Environnement

**Évolution des interactions plantes-microorganismes et sélection artificielle de microbiotes**Manuel Blouin (manuel.blouin@agrosupdiijon.fr)*UMR Agroécologie, Institut Agro, Dijon, France*

Un hôte et le microbiote associé peuvent être qualifié d'« holobionte ». Faut-il toutefois considérer l'holobionte comme un assemblage de circonstance ou comme une réelle unité de sélection ? L'exposé abordera cette question via deux études : (i) l'évolution des interactions qu'établissent les variétés de blé anciennes et modernes avec le microbiote de la rhizosphère (zone sous l'influence des racines) et (ii) la sélection de microbiotes rhizosphériques pour modifier le phénotype des plantes.

Dans la première étude, l'objectif était de déterminer si les variétés modernes, sélectionnées en présence d'intrants (engrais, pesticides), interagissent toujours de la même façon avec les microorganismes du sol que les variétés plus anciennes, sélectionnées sans intrants. Les intrants pourraient avoir remplacé des fonctions microbiennes impliquées dans la nutrition et la santé des plantes, rendant ces dernières superflues, d'où leur élimination par sélection naturelle. Cinq variétés modernes et cinq anciennes ont été exposées à la présence/absence d'intrants lors d'une expérimentation au champ. Les rhizosphères ont été prélevées, l'ADN extrait et séquencé (ARNm 16S et ITS pour les bactéries et champignons respectivement). Les variétés modernes ont effectivement un microbiote plus diversifié que les variétés anciennes, en particulier en présence d'intrants ; elles seraient moins sélectives que les anciennes. Les interactions plantes-microorganismes sont donc modifiées par l'évolution du génome des plantes.

Dans la deuxième étude, l'objectif était de déterminer s'il est possible de changer le phénotype des plantes sans modifier leur génotype, en jouant uniquement sur les microbiotes rhizosphériques. Des microbiotes associés à une bonne ou mauvaise croissance de la plante ont été sélectionnés en conditions contrôlées et transférés à une nouvelle génération de plante, pendant une dizaine d'itérations. Après cinq repiquages, la structure des microbiotes se stabilise et l'effet du microbiote inoculé devient alors héritable. Il est donc possible de faire évoluer le phénotype des plantes sans modifier leur génotype, mais simplement via les interactions plante-microbiote. Cela ouvre de nouvelles perspectives en sélection variétale.

Ces deux études montrent que les plantes influencent les microbiotes et réciproquement, sur un plan écologique mais aussi évolutif. Elles renforcent l'idée que l'holobionte est une unité de sélection.

*Mots clés* : Évolution - Interactions plantes-microorganismes - Sélection artificielle - Rhizosphère - Variétés anciennes.

**SP18 - Interactions microbiennes dans l'environnement** (en association avec l'AFEM)

SP18-1

Environnement

**Top-down effects on bacterial carbon metabolism: A case study from lakes of French Massif Central**

Pradeep Ram Angia Sriram (pradeep\_ram.angia\_sriram@uca.fr), Télésphore Sime-Ngando

Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement (LMGE), UMR CNRS 6023, CNRS, Aubière, France

**Introduction and Objectives:**

In freshwater systems, top-down (viruses and heterotrophic nanoflagellates) regulation of bacterial growth efficiency (BGE, index of bacterial community metabolism) is less well studied, compared to substrate availability. Viral lysis and flagellate grazing in the control of bacterial communities can have variable impact on the microbial food-web dynamics. In this study, we explored the relative influence of top-down factors on bacterial mortality and their subsequent impact on their community metabolism in 11 chosen lakes of French Massif Central that showed heterogeneity in terms of morphological and hydrological characteristics.

**Materials and Methods:**

Lake water samples which were collected once in April and June at epilimnion (surface) and hypolimnion (bottom) region were analysed for viral and bacterial counts by flow cytometry. Flagellate abundance and their grazing potential was determined and calculated by epifluorescence microscopy and clearance rate respectively. Viral lytic infection was estimated by frequency of visibly infected cell approach using transmission electron microscopy. Size fractionation approach was used to determine bacterial production (BP, growth rate) and respiration (BR, consumption of dissolved oxygen) to calculate  $BGE = [BP/(BP+BR) \times 100]$ .

**Results, Discussion and Conclusion:**

Among the lakes, viral abundances (VA) were remarkably variable ( $0.4-77.4 \times 10^7 \text{ml}^{-1}$ ) with substantially higher ( $p < 0.03$ ) counts in the hypolimnion compared to epilimnion, whereas for nanoflagellate abundance the reverse was true. High nucleic acid bacterial group served as principle host target for viral proliferation. Bacterial mortality due to flagellate grazing and viral lysis varied among the lakes. Low BGE (mean =  $18 \pm 4\%$ ) accompanied by high viral mediated bacterial mortality (up to 75%) at hypolimnion resulted in an antagonistic relationship between the two suggesting a significant loss of organic carbon to higher trophic level through bacterial-viral loop (viral shunt). However, in the epilimnion, the presence of grazers stimulated BGE through their activity (nutrient regeneration) that could effectively release labile nitrogen and phosphorus which can be incorporated into bacterial biomass at higher efficiency (mean =  $32 \pm 9\%$ ). The influence of such specific top-down forces on community BGE can have significant consequences on the matter and energy flow in freshwater ecosystems.

*Mots clés* : Viral lysis - Flagellate grazing potential - Bacterial mortality - Bacterial growth efficiency - Freshwater lakes.

**SP18 - Interactions microbiennes dans l'environnement** (en association avec l'AFEM)

SP18-2

Environnement

**Pattern and causes of the establishment of the invasive bacterial potato pathogen *Dickeya solani***

Denis Faure<sup>1</sup> (denis.faure@i2bc.paris-saclay.fr), Kévin Robic<sup>2</sup>, Pauline Blin<sup>1</sup>, Euphrasie Munier<sup>2</sup>, Jérémy Cigna<sup>2</sup>, Valérie Hélias<sup>2</sup>

<sup>1</sup> I2BC, Univ. Paris-Saclay-CNRS-CEA, Gif-sur-Yvette, France

<sup>2</sup> Inov3PT, FN3PT, Paris, France

**Introduction and Objectives:**

Invasive pathogens can be a threat when they affect human health, food production or ecosystem services, by displacing resident species, and we need to understand the cause of their establishment. We studied the patterns and causes of the establishment of the pathogen *Dickeya solani* that recently invaded potato agrosystems in Europe by assessing its invasion dynamics and its competitive ability against the closely-related resident *D. dianthicola* species [1].

**Materials and Methods:**

Epidemiologic data: 1600 *Dickeya* and *Pectobacterium* isolates were collected at a national level and then characterized. In parallel, 19 potato fields exhibiting more than 1% of blackleg incidence were deeply sampled, and 548 isolates were also characterized.

Experimental data: Plant inoculation assays were performed with *D. solani* and *D. dianthicola* strains to determine the ecological traits that could facilitate or constrain *D. solani* establishment.

Comparative genomics: 76 *D. solani* genomes were compared to pinpoint variations that could be associated to its ecological success.

Transposon-sequencing: we performed Tn-seq in *D. solani* when it colonized roots, stems and tubers to highlight key-genes associated to competitive colonization of the host.

**Results:**

Epidemiological records revealed the establishment of *D. solani* and the maintenance of the resident *D. dianthicola* in potato fields exhibiting blackleg symptoms.

In co-infection assays, *D. dianthicola* outcompeted *D. solani* in aerial parts, while the two species co-existed in tubers.

A comparison of 76 *D. solani* genomes revealed balanced frequencies of two previously uncharacterized alleles, VfmBPro and VfmBSer, at the *vfmB* virulence gene.

Tn-seq revealed the key-genes involved in exploitation of host resources in macerated tissues and some additional genes involved in the pre-symptomatic colonization of roots.

Altogether, this work brings novel insights allowing a better understanding of the pattern and causes of the *D. solani* invasion into potato production agrosystems.

**Mots clés :** Microbial invasion - Genomics - Tn-seq - Potato plant - Necrotrophic pathogen.

**Références :**

1. Blin P, Robic K, Khayi S, Cigna J, Munier E, Dewaegeneire P, et al. 2021. Pattern and causes of the establishment of the invasive bacterial potato pathogen *Dickeya solani* and of the maintenance of the resident pathogen *D. dianthicola*. *Molecular Ecology* 30:608–624.



**SP18 - Interactions microbiennes dans l'environnement** (en association avec l'AFEM)

SP18-3

Environnement

**Abortive infection and defensive symbiosis - novel defense strategies against giant viruses**

Vincent Delafont<sup>1</sup> (vincent.delafont@univ-poitiers.fr), Patrick Arthofer<sup>2</sup>, Alban Hay<sup>1</sup>, Anouk Willemsen<sup>2</sup>, Florian Panhölzl<sup>2</sup>, Matthias Horn<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UMR CNRS Ecologie et Biologie des Interactions, Université de Poitiers, Poitiers, France

<sup>2</sup> Division of Microbial Ecology, Department of Microbiology and Ecosystem Science, Vienne, Autriche

The discovery of giant viruses in amoeba changed our perception of the viral world. With genome and particle sizes comparable to those of bacteria and a number of cellular features, giant viruses sparked a controversy about their evolutionary origin. Frequent host-switches, and competition with other viruses and bacterial symbionts were proposed as drivers of giant virus evolution. While virophages have been shown to facilitate amoeba host survival during giant virus infection, very little is known about other defense mechanisms. Here, we report on two new defense strategies observed with two different giant viruses. First, we studied the role of bacterial symbionts of free-living amoebae in the establishment of giant virus infections. To investigate these interactions in a system that would be relevant in nature, we isolated a giant virus (Marseilleviridae) and potential *Acanthamoeba* hosts infected with a bacterial symbiont, identified as *Parachlamydia acanthamoebae*, from the same environmental sample. Systematic co-infection experiments showed that the bacterial symbiont represses the replication of the sympatric giant virus as well as other giant viruses (Mimiviridae) in both environmental isolates as well as *Acanthamoeba* lab strains. Second, we studied a new giant virus isolate (Mimiviridae) infecting members of the amoeboflagellate genus *Naegleria*. We describe how infection of *Naegleria* may lead to abortive infection, in which viral replication and dissemination is blocked by premature host cell death, ensuring the survival of the amoeba host population. Together, we show that amoebae employ diverse and as yet underexplored strategies to cope with omnipresent giant viruses

**Mots clés :** Amibes - Chlamydia - Virus - Symbioses - Protection.

**SP18 - Interactions microbiennes dans l'environnement** (en association avec l'AFEM)**SP18-4**

Environnement

**Seasonal monitoring reveals concomitant and rapid changes of bacterioplankton and phytoplankton communities**Julie Leloup<sup>1</sup> (julie.leloup@upmc.fr), Imen Louati<sup>1</sup>, Jean-Francois Humbert<sup>2</sup>, Cécile Bernard<sup>3</sup>, Naoise Nunan<sup>4</sup><sup>1</sup> *IEES-Paris, Sorbonne Université, Paris, France*<sup>2</sup> *IEES-Paris, INRAe, Paris, France*<sup>3</sup> *MCAM, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, France*<sup>4</sup> *IEES-Paris, CNRS, Paris, France*

In order to identify the relationships between phytoplankton and bacterioplankton, a high frequency monitoring campaign was performed during the summer period in a small French lake. Concomitant and rapid changes in biomass and diversity were observed for both communities. Three phases of phytoplankton growth were identified and these had a differential impact on the bacterioplankton communities according to their living mode: either associated with phytoplankton (so called phycosphere microbiomes, PA) or free-living (FL). Selective processes occurred within the PA microbiomes during the phytoplankton growth stages, with the emergence of specialized bacterial consortia and a reduction of the community's complexity; while the FL microbiomes were less influenced. Altogether, these data suggested that phytoplankton and their microbiomes should be considered as holobionts, favored by the environmental conditions, while the FL microbiomes may constitute a reservoir for bacterial recruitment and may possibly play the role of buffering compartment for the fluctuating phytoplanktonic dynamics.

*Mots clés* : Cyanobacterial bloom - Bacterial diversity - Phycosphere - Eutrophic lake.

## SP19 - Diffusion de la résistance

SP19-O.1

Antimicrobiens

**Data-driven modeling to understand the evolutionary dynamics of ESBL resistance in *E. coli* over the last decade**

Olivier Cotto<sup>1</sup> (olivier.cotto@inrae.fr), Stéphane Béchet<sup>5</sup>, André Birgy<sup>2,4</sup>, Stéphane Bonacorsi<sup>2,4</sup>, Robert Cohen<sup>5,6,7,8,9</sup>, Florence Débarre<sup>3</sup>, Corinne Levy<sup>5,6</sup>, François Blanquart<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centre for Interdisciplinary Research in Biology (CIRB), Collège de France, CNRS, INSERM, PSL Research University, Paris, France

<sup>2</sup> Infection Antimicrobials Modelling Evolution, UMR 1137, INSERM, Université de Paris, Paris, France

<sup>3</sup> Institute of Ecology and Environmental Sciences of Paris, Sorbonne Université, CNRS, UPEC, IRD, INRAe, Paris, France

<sup>4</sup> Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, AP-HP, 75019 Paris, France

<sup>5</sup> Association Clinique et Thérapeutique Infantile du Val-de-Marne, Créteil, France

<sup>6</sup> French Pediatric Infectious Disease Group, Paris, France

<sup>7</sup> Centre de Recherche Clinique, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, France

<sup>8</sup> Université Paris Est, IMRB-GRC GEMINI, ACTIV, Créteil, France

<sup>9</sup> Unité Court Séjour, Petits Nourrisson, Service de Néonatalogie, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, France

*Escherichia coli* is both a commensal and an opportunistic pathogen causing about a million deaths worldwide each year. Over the last decades, resistance to third generation cephalosporin conferred by ESBL enzymes has emerged, increased in frequency and stabilized at around 5 to 20% in European countries, threatening the efficacy of treatment with this antibiotic. We lack a model-based understanding of these dynamics. We developed a data-driven epidemiological model to fill this gap. The structure of the dynamical model was informed by a statistical analysis of data on carriage of ESBL *E. coli* strains in healthy French children from 2010 to 2020. This analysis, consistent with other studies, identified recent travel to South-East Asia and recent antibiotic treatment as the main risk factors for carrying ESBL strains. Precisely, the model describes the colonization dynamics of sensitive and resistant strains, travel to South-East Asia, and antibiotic treatment, and may result in strain coexistence both at the individual (within-host) and population (between-host) levels. This model fitted to the focal dataset reproduces the prevalence of resistance in the community, in particular in children who recently travelled or took antibiotics, and the dynamics of ESBL emergence and stabilization in several European countries. We inferred previously unknown parameters that are key to the epidemiological dynamics, such as the fitness cost of ESBL resistance. With this model, we quantified the effect of changes in travel and antibiotic prescription on the prevalence of resistance. Overall, our approach unravels the mechanisms driving the epidemiological and evolutionary dynamics of antibiotic resistance in a globalized context and projects the impact of public health policies on levels of ESBL resistance.

## SP19 - Diffusion de la résistance

SP19-1

**Replication of the Salmonella Genomic Island 1 (SGI1) triggered by helper IncC conjugative plasmids promotes incompatibility and plasmid loss**

Kévin Huguet<sup>1</sup> (kevin.huguet@univ-lyon1.fr), Nicolas Rivard<sup>2</sup>, Vincent Burrus<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ciri -ENS Lyon, Université de Lyon 1, Villeurbanne, France

<sup>2</sup> Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

**Introduction:**

The mobilizable resistance island Salmonella genomic island 1 (SGI1) is specifically mobilized by the helper IncC conjugative plasmids, and both drive the dissemination of multidrug resistance (MDR) in pathogenic enterobacteria. Although SGI1 needs the IncC machinery to drive its own dissemination, these elements have been reported to be incompatible.

**Material and Method:**

Here, the stability of SGI1 and IncC plasmid, without selective pressure, was monitored using fluorescence-activated cell sorting (FACS). To track the presence of each element in the global population at a single-cell level, we inserted a red or a green fluorescent reporter gene on SGI1 and the IncC plasmid pVCR94, respectively.

**Result:s**

The incompatibility phenomenon was confirmed as 95% of the cells segregated into two subpopulations containing either SGI1 or IncC. When co-resident, a high level of SGI1-specific fluorescence was recorded, suggesting active SGI1 replication, further confirmed by quantitative PCR assays and detection of the plasmid form. Deletion of genes involved in SGI1 excision from the chromosome allowed a stable coexistence with IncC. In addition, deletion of S003 (rep) or of a putative downstream origin of replication (oriV), while allowing SGI1 excision, abolished its replication. Replication abolition alleviated the incompatibility with IncC and enabled its cotransfer to a new host. Like SGI1 excision functions, rep expression was found to be controlled by AcaCD, the master activator of IncC plasmid transfer. Sequence database analysis suggested that transient SGI1 replication is a conserved key feature of the life cycle of SGI1-like elements family of genomic islands that likely undermines IncC plasmid stability. Finally, this high replication rate fosters the unique transfer of SGI1 and drives its selfish propagation at the expense of its IncC helper plasmid.

*Mots clés* : Incompatibility - SGI1 - Salmonella - Antibiotic Resistance - Replication.

## SP19 - Diffusion de la résistance

SP19-2

Antimicrobiens

**Interbacterial transfer of large antibiotic resistance islands by natural transformation in *Acinetobacter baumannii***Maria-Halima Laaberki<sup>1</sup> (maria-halima.laaberki@vetagro-sup.fr), Anne-Sophie Godeux<sup>2</sup>, Xavier Charpentier<sup>2</sup><sup>1</sup> HORIZONE, VetAgro Sup/CIRI (U1111), Villeurbanne, France<sup>2</sup> HORIZONE, CIRI (U1111), Villeurbanne, France

*Acinetobacter baumannii* (*Ab*) infection poses a major health threat with recurrent treatment failure due to multiple antibiotic resistance, notably to carbapenems. One of the main contributors to *Ab* resistance are large genomic islands composed of transposable elements rife with antibiotic resistance determinants. Genomic analyses of clinical strains strongly indicate that homologous recombination plays a major role in the acquisition of antibiotic resistance genes including of large genomic islands. However, our understanding of the acquisition of antibiotic resistance is hampered by the lack of experimental systems able to reproduce genomic observations. Consequently, the underlying mechanisms of horizontal gene transfer involved in resistance gene acquisition remained speculative. We investigated the transfer of resistance genes in mixed population of *Ab* but also of mixed population of *Ab* with close relative species of pathogenic *Acinetobacter* sp.. This experimental set up, allowed us to report the detection of recombination events occurring spontaneously in mixed bacterial populations and which can result in the acquisition of resistance to carbapenems. We demonstrated that natural transformation is the main driver of inter-strain recombination events between *Acinetobacter* sp. clinical isolates and pathogenic species of *Acinetobacter*. We observed that gene transfer in mixed populations is highly potent and more efficient than when the same bacteria are supplied with large amounts of purified genomic DNA. The bacterial interaction fosters the acquisition of large resistance islands including of the *AbaR1* island that carries resistances to at least 4 classes of antibiotics. Analysis of the genomes of the recombinant progeny revealed large recombination tracts (from 13 to 123 kb) reproducing the previous genomic observations. Moreover, we highlight that transforming DNA availability is a key determinant of the rate of recombinants and results from both spontaneous release and interbacterial predatory behavior. In the light of our results, natural transformation should be considered as a leading mechanism of genome recombination and horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in *Acinetobacter baumannii*.

**Mots clés :** Natural transformation - *Acinetobacter baumannii* - Antibiotic resistance - Genomic resistance islands.

## SP19 - Diffusion de la résistance

SP19-3

Antimicrobiens

**ST38 *E. coli* evolution in response to the natural conjugative plasmids carrying the carbapenemase gene *blaOXA48***

Pengdbamba Dieudonné Zongo<sup>1,2</sup> (pengdbamba-dieudonne.zongo@pasteur.fr), Nicolas Cabanel<sup>1</sup>, Philippe Glaser<sup>1</sup>, Isabelle Rosinski-Chupin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> EERA, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>2</sup> Sorbonne université, Paris, France

**Introduction and Objectives:**

Carbapenems are last resort  $\beta$ lactams used to treat multidrug resistant Gramnegative bacteria. However, the increased incidence of carbapenem resistance is threatening their therapeutic efficacy. The emergence of *E. coli* clones expressing carbapenemases and their dissemination in the community are particularly worrisome. Sequence Type (ST) 38 is the most prevalent ST among carbapenemaseproducing *E. coli* isolated in France and in other European countries. By phylogenetic analysis, we showed the worldwide dissemination of at least three OXA48 producing ST38 lineages with chromosomal integrations of the *blaOXA48* gene, contrasting with the general mode of *blaOXA48* dissemination in *Enterobacterales* through conjugative transfer of IncL pOXA48 plasmids. We are aiming to characterize the benefit of chromosomal integrations and the involved mechanisms.

**Materials and Methods:**

We introduced three different variants of pOXA48 by conjugation into different naïve ST38 *E. coli* strains and assessed the fitness cost by monitoring growth in rich and poor media. We assessed the plasmid stability by ten days passages without selective pressure. We also performed a 28-day experimental evolution of the different transconjugants using meropenem as selective pressure to look for mutations that may lower potential fitness cost and to select *blaOXA-48* chromosomal integration. Evolved strains were analyzed by whole genome sequencing.

**Results, Discussion and Conclusion:**

The three pOXA48 variants were unstable in three different ST38 *E. coli* genetic backgrounds. Particularly, growth curve analyses revealed a strong fitness decrease in one of these backgrounds with an up to 26% increase in generation time whatever the plasmid variant. *blaOXA48* integrations into chromosome were observed during experimental evolution. They were dependent on both the genetic background of the transconjugant and on the pOXA-48 type and led to a fitness improvement. Alternatively, an increase in both the fitness of evolved transconjugants and in plasmid stability was reached in transconjugants inactivated or mutated in an operon of unknown function. We hypothesize that proteins encoded by this operon might interact with pOXA48 plasmids. Altogether our results provide new information on the emergence of *E. coli* lineages expressing OXA-48 carbapenemases.

*Mots clés* : OXA-48 - *E. coli* ST38 - Carbapenem resistance - Plasmid stability - Evolution.

## SP19 - Diffusion de la résistance

SP19-4

Antimicrobiens

**La D-alanylation de la surface de *Clostridioides difficile* permet une résistance accrue aux antibiotiques**

Pierre-Alexandre Lacotte<sup>1</sup> (pierre-alexandre.lacotte@universite-paris-saclay.fr), Sandrine Denis-Quanquin<sup>2</sup>, Isabelle Martin-Verstraete<sup>3</sup>, Thomas Candela<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Equipe BaPS, Institut MICALIS, Université Paris-Saclay, Chatenay-Malabry, France

<sup>2</sup> CNRS UMR 5182, Université de Lyon, ENS de Lyon, Lyon, France

<sup>3</sup> Laboratoire de Pathogénèse des Bactéries Anaérobies, Institut Pasteur, Paris, France

**Introduction et objectifs :**

*Clostridioides difficile* (CD) est l'entéro-pathogène majoritaire des diarrhées associées aux antibiotiques et des colites pseudo-membraneuses dans le monde. Le développement de résistances aux antibiotiques chez CD représente ainsi un risque majeur pour la santé publique mondiale. Les modifications des composants de la surface bactérienne sont responsables d'une diminution de l'efficacité de composés antimicrobiens chez les bactéries gram-positives. La D-alanylation des polysaccharides de surface diminue l'affinité et l'efficacité des composés antimicrobiens cationiques (CAMPs) pour la surface bactérienne. Chez CD, la localisation de la D-alanylation est inconnue et son implication dans la résistance aux antibiotiques n'est pas élucidée. L'objectif de notre étude est de déterminer le site de la D-alanylation chez CD et d'étudier son rôle dans la sensibilité aux antibiotiques.

**Matériel et méthodes :**

Un mutant  $\Delta dlt$  a été construit et caractérisé pour différents phénotypes. Les deux polysaccharides majeurs de CD, le polysaccharide de type II (PSII) et l'acide lipotéichoïque (LTA) du mutant  $\Delta dlt$  et de sa souche parentale ont été purifiés et leur structure a été analysée et comparée par RMN.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'absence de D-alanylation chez le mutant  $\Delta dlt$  a été tout d'abord confirmée. Le mutant  $\Delta dlt$  possède une hydrophobicité de surface plus importante que la souche parentale. Ce mutant est plus mobile, adhère moins, mais forme plus de biofilm que la souche parentale. De plus, l'analyse des polysaccharides a mis en évidence la présence de D-alanine sur le LTA de la souche parentale mais pas sur le LTA du mutant  $\Delta dlt$ . Aucune fonction D-alanine n'a été identifiée sur les PSII purifiés. Par ailleurs, les essais de sensibilité aux antibiotiques ont démontré une augmentation de la sensibilité du mutant  $\Delta dlt$  à la bacitracine, à la téicoplanine, à la daptomycine et à des CAMPs de synthèse. Nos résultats mettent en évidence la D-alanylation exclusive du LTA chez CD. Ces résultats soutiennent l'intérêt porté à la D-alanylation comme potentielle cible thérapeutique dans le traitement des infections à CD.

**Mots clés :** Surface - D-alanylation - Antibiotiques - CAMPs.

**SP20 - Le flacon pour hémoculture dans tous ses états** (en association avec le Col.BVH)

SP20-O.1

Clinique

**Restitution de l'observatoire national des bactériémies**Christian Cattoen<sup>1</sup> (christian.cattoen@wanadoo.fr), Brigitte Lamy<sup>2</sup><sup>1</sup> *Microbiologie, Centre Hospitalier, Valenciennes, France*<sup>2</sup> *Microbiologie, CHRU, Nice, France***Introduction et objectifs :**

La SFM a mis en place un observatoire visant à décrire et évaluer les pratiques en matière d'hémoculture et de disposer d'un état de l'art du diagnostic des bactériémies en France. L'objectif est double. A l'échelon individuel permettre à chaque laboratoire de s'évaluer et de mettre en place des actions d'amélioration sur son site et à l'échelon collectif, identifier les difficultés et définir les actions à mener pour établir de futures recommandations.

**Matériels et méthodes :**

L'enquête basée sur le volontariat et anonyme repose sur un questionnaire détaillé accessible en ligne (site principal et sites secondaires éventuels de chaque structure). Des indicateurs (Temps-Performance et Qualité-Performance) ont été construits pour quantifier la performance croisant différents critères de réponses. Des seuils ont été établis afin de connaître la distribution des laboratoires au regard de ces critères. L'utilisation de logiciels d'analyse de données a permis le traitement en vue d'une analyse descriptive et de la performance (analyse stratifiée, exploratoire, multivariée).

**Résultats, discussion et conclusion :**

La première phase de l'observatoire s'est déroulée en 2021 et 2022. 118 laboratoires ont participé, 109 ont été retenus ayant répondu à plus de 70% du questionnaire. La répartition était la suivante : 24 CHU, 46 CHG, 33 laboratoires privés et 6 structures autres.

Sur le plan des pratiques de grosses divergences sont observées. Les principales difficultés concernent la mise en œuvre de techniques rapides (identification rapide sur bouillon : 66.1%, antibiogramme direct 57.8%), la prise en charge analytique la nuit (prise en charge totale 15.3%), la validation biologique le week-end (56%), et la nuit (18.3%). De très gros écarts existent en termes de délai d'acheminement, d'organisation pré-analytique et de retour avec les unités de soins.

Sur le plan de la performance, les laboratoires se distribuent de manière très inégale. A titre d'exemple, 19.3% ont un niveau Temps-Performance élevé (incluant 13 critères), 21.1% un niveau Qualité-Performance élevé (incluant 28 critères).

Au-delà de ces quelques chiffres issus de cette base de données particulièrement riche, il convient de retenir l'intérêt de cet observatoire, véritable outil de benchmarking pour les centres participants et de projection pour de nouvelles recommandations pertinentes.

*Mots clés* : Hémoculture - Diagnostic des bactériémies - Evaluation - Observatoire.



**SP20 - Le flacon pour hémoculture dans tous ses états** (en association avec le Col.BVH)

SP20-O.2

Clinique

**Nouvelles approches de prise en charge rapide des bactériémies**Brigitte Lamy (brigitte\_lamy@yahoo.fr)*Bactériologie, Imperial College, Imperial College, UK*

Le délai d'instauration d'une antibiothérapie appropriée est déterminant pour la survie des patients atteints de sepsis. A l'ère d'une antibiorésistance majeure, une production rapide d'information pertinente est critique pour améliorer la prise en charge de ces patients, dont le diagnostic repose en premier lieu sur l'hémoculture.

Cette présentation fait le point sur les méthodes rapides pour l'identification et la détection de l'antibiorésistance de microorganismes isolés d'hémoculture, qu'elles soient génotypiques ou phénotypiques ou culture indépendante, en intégrant diverses stratégies (« mono méthode » ou approche « combinée ») ou diverses situations (hémoculture monomicrobienne ou polymicrobienne par exemple). Les différentes stratégies et performances sont discutées. La présentation fait également le point sur les méthodes susceptibles d'être disponibles dans les années futures. Ces nouvelles stratégies sont élargies aux phases pré-analytique et post-analytique en intégrant l'ensemble du parcours diagnostique.

**SP20 - Le flacon pour hémoculture dans tous ses états** (en association avec le Col.BVH)

SP20-1

Clinique

**Le flacon d'hémoculture intelligent : détection multiparamétrique des métabolites pour une identification sans a priori**

Thibaut Cohu (thibaut.cohu@cea.fr), Pierre Bouvet, Tommy Dedole, Maxime Gougis, Pierre R. Marcoux, Pascal Mailley

LETI / DTBS, Univ. Grenoble-Alpes - CEA, Grenoble, France

**Introduction et objectifs :**

La stratégie en deux étapes – détection de l'agent pathogène dans le flacon puis identification une fois que le micro-organisme est séparé du sang du patient – rallonge le temps d'analyse d'une hémoculture.

De plus, le temps global entre la prise de sang et le résultat de l'hémoculture est affecté par de nombreuses étapes. Les efforts pour gagner du temps peuvent être anéantis par un long temps de transport entre le site de prélèvement et le laboratoire de biologie médicale.

Nous proposons une approche novatrice pour résoudre ce problème. Premièrement, nous avons développé un capteur électrochimique, aisément implantable dans des flacons, pour autoriser un suivi de l'hémoculture dès le prélèvement et pendant le transport. Deuxièmement, la détection multiparamétrique des métabolites dans ces flacons instrumentés fournit une identification, pendant l'hémoculture, à l'espèce, sans devoir séparer le pathogène de l'échantillon sanguin.

**Matériels et méthodes :**

Nous avons instrumenté des flacons d'hémoculture avec des capteurs électrochimiques à 8 électrodes, constitués de différentes encres conductrices, qui incorporent des polymères conducteurs ou des oxydes métalliques. Les flacons ont été ensuite remplis de milieu BacT/ALERT® (bioMérieux) et immédiatement stérilisés à l'autoclave.

Du sang humain de patients sains a été infecté avec des souches bactériennes de référence : 31 souches de références (16 espèces) ont été testées, avec divers inoculums (entre 5 et 300cfu) afin de mesurer la variabilité de nos résultats. Chaque culture a conduit à une détection, nous n'avons eu aucun faux négatif.

Six expériences ont été conduites sans ajout de bactéries, pendant 120h d'incubation, pour obtenir la réponse du système sur du sang stérile.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nos temps de détection sont comparables à ceux obtenus par les automates optiques commerciaux de dernière génération (Bactec et BacT/ALERT). Le suivi électrochimique permet une identification à l'espèce du microorganisme seulement 2h après la positivité de la culture, sans aucune manipulation requise.

L'analyse électrochimique des métabolites permet un suivi continu de la culture - potentiellement au chevet du patient – mais également une première identification rapide. Dans l'ensemble, ces flacons d'hémoculture instrumentés constituent une technologie prometteuse pour réduire le temps de diagnostic des infections sanguines.

*Mots clés* : Flacon d'hémoculture - Signature électrochimique - Identification sans marquage - Infections sanguines.

**SP20 - Le flacon pour hémoculture dans tous ses états** (en association avec le Col.BVH)

SP20-2

Clinique

**Use of peptide microarrays for the early detection of pathogens during hemoculture: validation with *Staphylococcus aureus***

Yoann Roupioz<sup>1</sup> (yoann.roupioz@cea.fr), Charlène Plénière<sup>1</sup>, Loïc Leroy<sup>1</sup>, Raphaël Mathey<sup>1</sup>, Arnaud Buhot<sup>1</sup>, Didier Boturyn<sup>2</sup>, Sandrine Boisset<sup>3</sup>, Léa Pondérand<sup>3</sup>

<sup>1</sup> SyMMES, UMR 5819, CNRS-CEA-Univ. Grenoble Alpes, Grenoble, France

<sup>2</sup> DCM, UMR 5250, CNRS-Univ. Grenoble Alpes, Grenoble, France

<sup>3</sup> Institut de Biologie et de Pathologie, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

In case of bacteremia, contaminating levels of bacteria are so low than no methods may enable the direct detection and characterization of pathogens in blood (1). For this reason, the proper identification step is preceded by an enrichment step, where patient blood is diluted in an optimized culture media and incubated overnight in a thermalized system. Then, pathogens divide and increase the overall bacterial concentration in the sample, enabling the beginning of the identification step, whatever is might be (selective media, mass spectrometry, PCR...). In order to improve the overall duration of the process, from sampling to the identification, we propose the use of AntiMicrobial Peptides (AMPs) microarrays (2), for the detection of pathogens, during the enrichment step. The use of an original optical approach based on Surface Plasmon Resonance imaging (SPRi), allows the follow up of the bacterial population increase in blood, diluted in regular media dedicated to blood enrichment. After the validation of this approach in model conditions (3), we are currently working on the challenging processing of human blood, spiked with controlled amounts of human pathogens, such as *Staphylococcus aureus*.

In this talk, I will then present the design and preparation of AMPs microarrays, the fast and easy blood sample processing, and the dedicated data analysis we set up, to deal with the high complexity due to blood handling on biosensors.

**Mots clés :** Microarray - Antimicrobial peptide - Diagnosis - *Staphylococcus aureus* - Fast detection.

**Références :**

1. Opota et al., 2015, Clinical Microbiology and Infection, Vol 21, p313-322.
2. Pardoux et al., 2020, Molecules, Vol 25, p1998.
3. Pardoux et al., 2019, Talanta, Vol203, p322-327.

**SP21 - Persistence and Tolerance** **SP21-O.1****Intrabacterial lipid inclusions: their role in the survival and persistence of pathogenic mycobacteria**Stéphane Canaan (canaan@imm.cnrs.fr)*UMR 7255-LISM, CNRS, Marseille, France*

Mycobacterial species, including *Mycobacterium tuberculosis*, rely on lipids to survive and chronically persist within their hosts. Upon infection, opportunistic and strict pathogenic mycobacteria exploit metabolic pathways to import and process host-derived free fatty acids, subsequently stored as triacylglycerols in the form of intrabacterial lipid inclusions (ILI). Under nutrient-limiting conditions, ILI constitute a critical source of energy that fuels the carbon requirements and maintain redox homeostasis, promoting bacterial survival for extensive periods of time. In addition to their basic metabolic functions, these organelles display multiple other biological properties, emphasizing their central role in the mycobacterial life cycle. However, despite their importance, the dynamics of ILI metabolism and their contribution to mycobacterial adaptation/survival in the context of infection has not been thoroughly documented. During this talk, I will provide some data of their characterization and current knowledge regarding the microenvironmental stimuli conveying ILI formation, storage and degradation. I will present new techniques used in the lab to study the dynamics of ILI metabolism in extra- and intracellular mycobacteria and how we can determine major molecular actors in triacylglycerol biosynthesis, maintenance and breakdown. Finally, emerging concepts regarding the role of ILI in mycobacterial survival, persistence, reactivation, antibiotic susceptibility and inter-individual transmission will be also discussed.

*Mots clés* : Lipids - Resistance - Mycobacteria - Latency - Pathogeny.

SP21 - Persistence and Tolerance 

SP21-O.2

**TisB toxin-induced tolerance to antibiotics in *Escherichia coli***Ivan Matic (ivan.matic@inserm.fr)*Institut Cochin, Paris, France*

The contribution of toxin-antitoxin systems to the tolerance and persistence of bacteria to antibiotics has been intensively studied. This is also the case with the *E. coli* TisB/IstR toxin-antitoxin system, but the contribution of TisB to the persistence to antibiotics turned out to be not as straightforward as anticipated. In our study, we show that TisB can decrease, but also increase, cytotoxicity of different antibiotics. This inconsistency has a common origin, i.e., TisB-induced collapse of the PMF, which impacts the import and the action of different antibiotics. By taking into account the natural habitat of TisB bacterial hosts, the facts that this toxin-antitoxin system is integrated into the genotoxic stress response regulon SOS and that both SOS regulon and TisB are required for *E. coli* to colonize the host intestine, and the phenotypic consequences of the collapse of the PMF, we propose that TisB protects its hosts from cytotoxic molecules produced by competing intestinal bacteria.

*Mots clés* : Antibiotic - Tolerance - Persistence - Bacteria - Toxin-antitoxin systems.

SP21 - Persistence and Tolerance 

SP21-1

Pathogénie

Microbiologie fondamentale

***Mycobacterium tuberculosis* genetic features associated with pulmonary tuberculosis severity**

Charlotte Genestet<sup>1,2</sup> (charlotte.genestet@gmail.com), Guislaine Refrégier<sup>3</sup>, Elisabeth Hodille<sup>1,2</sup>, Rima Zein-Eddine<sup>3</sup>, Adrien Le Meur<sup>3</sup>, Fiona Hak<sup>3</sup>, Alexia Barbry<sup>2</sup>, Emilie Westeel<sup>4</sup>, Jean-Luc Berland<sup>4</sup>, Gérard Lina<sup>1,2,5</sup>, Florence Ader<sup>1,6</sup>, Stéphane Dray<sup>7</sup>, Laurent Jacob<sup>7</sup>, François Massol<sup>8,9</sup>, Samuel Venner<sup>7</sup>, Oana Dumitrescu<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup> CIRI - Centre International de Recherche en Infectiologie, Lyon, France

<sup>2</sup> Institut des Agents Infectieux, Laboratoire de bactériologie, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>3</sup> Ecologie Systématique et Evolution, Université Paris-Saclay, Orsay, France

<sup>4</sup> Fondation Mérieux, Lyon, France

<sup>5</sup> Facultés de Médecine et de Pharmacie de Lyon, Université Lyon 1, Lyon, France

<sup>6</sup> Service des Maladies infectieuses et tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>7</sup> Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, Villeurbanne, France

<sup>8</sup> SPICI group, Evo-Eco-Paleo, Lille, France

<sup>9</sup> CILL-Center for Infection and Immunity of Lille, Institut Pasteur de Lille, Lille, France

**Background:**

*Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) infections result in a wide spectrum of clinical presentations but without proven Mtb genetic determinants. Herein, we hypothesised that genetic features of Mtb clinical isolates, such as specific polymorphisms or micro-diversity, may be linked to tuberculosis (TB) severity.

**Methods:**

234 pulmonary TB patients were stratified according to TB disease severity and Mtb genetic features were explored using whole genome sequencing, including heterologous single nucleotide polymorphism (SNP) calling to explore micro-diversity. Furthermore, we searched for DNA motifs associated with TB disease severity using genome-wide association study (GWAS) optimised for bacteria. Finally, we performed a structural equation modelling (SEM) analysis to relate TB severity to Mtb genetic features.

**Results:**

Clinical isolates from patients with mild TB carried mutations in genes associated with host-pathogen interaction, while those from patients with moderate/severe TB carried mutations associated with regulatory mechanisms. GWAS identified a SNP in the promoter of the gene coding for the virulence regulator EspR associated with moderate/severe disease. SEM and model comparisons indicated that TB severity was associated with the detection of Mtb micro-diversity within clinical isolates and to the *espR* SNP.

**Conclusion:**

Taken together, these results provide a new insight to better understand TB pathophysiology and could provide new prognosis tool for pulmonary TB severity. This could be a useful to identify early-on patients at high risk of severe TB in order to ensure optimal management.

**Mots clés :** *Mycobacterium tuberculosis* - Tuberculosis severity - Whole genome sequencing - Genome-wide association study - Structural equation modelling.

SP21 - Persistence and Tolerance 

SP21-2

Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* and its interaction with *Staphylococcus aureus* in Cystic Fibrosis patients

Karen Moreau (karen.moreau@univ-lyon1.fr)

Pathogénie des Staphylocoques, CIRI, Lyon, France

**Introduction and Objectives:**

The opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* (PA) can colonize various environments thanks to its adaptability. In the case of cystic fibrosis (CF) lung infections, PA evolves *in vivo* towards a low-virulence but high-resistance state. This genetic adaptation of PA also affects its interactions with co-infecting microorganisms such as the highly prevalent *Staphylococcus aureus* (SA). Early infection PA strains are thus in competition, whereas chronic infection strains are able to coexist. We aim to characterize the genetic factors that drive PA strains towards this coexistence state.

**Materials and Methods:**

We collected PA and SA strains from the sputum of co-infected CF patients in Lyon. By *in vitro* tests, we studied the interaction state between SA and PA. In 11 sputum samples, we identified two PA isolates, showing both interaction states with SA. We compared competitive isolates to coexisting ones by genomic and phenotypic approaches.

**Results and Discussion:**

Genomic comparisons confirmed that the two PA co-infecting isolates belong to the same clone and demonstrated that a positive selection mechanism occurs within the coexisting isolates as they accumulate non-synonymous mutations in comparison to competitive ones. The *lasR*, *algG*, *mucA* and *YecS-FliY* genes are frequently mutated. Their involvement in interactions with SA was explored using isogenic mutants. In parallel, phenotypic characterization showed that coexistence strains had (i) lower growth, (ii) reduced swarming capacity and (iii) increased antibiotic resistance, compared to competition strains.

In conclusion, our study shows that the establishment of coexistence with *S. aureus* is related to the patho-adaptation of *P. aeruginosa* to the CF environment and highlights several of its factors.

*Mots clés* : *S. aureus* - *P. aeruginosa* - Bacterial interaction - Evolution.

**SP22 - Infections virales de l'immunodéprimé****SP22-O.1**

Virologie

**Apport du suivi immunologique pour le traitement des infections à CMV**Sophie Alain (sophie.alain@unilim.fr)*CNR des Herpèsvirus, CHU de Limoges, Limoges, France*

Le cytomégalovirus humain (CMV) est un pathogène majeur chez les patients immunodéprimés. Les infections et maladies à CMV concernent en particulier les patients receveurs de greffe d'organe, ou de cellules souches hématopoïétiques, mais aussi les patients traités par biothérapies immunosuppressives ou les patients atteints de syndromes d'immunodépression inné ou acquis. Le pouvoir pathogène du CMV est à la fois direct par atteinte du greffon, ou d'un organe-cible (colite, pneumopathie, rétinite, encéphalite) et indirect du fait de son action immunosuppressive favorisant les infections opportunistes, et proinflammatoire, favorisant notamment le dysfonctionnement du greffon, un rejet ou une réaction du greffon contre l'hôte. Dans ce contexte, la surveillance de la réponse immune peut être une aide au choix thérapeutique et lorsque cela est possible, un guide pour l'ajustement des traitements immunosuppresseurs, complément indispensable du traitement antiviral. La réponse cellulaire CD4 et CD8 est essentielle dans le contrôle des réactivations, de la dissémination virale et des maladies à CMV, mais les défenses innées (NK), les lymphocytes gamma-delta et la réponse anticorps comme adjuvant de la réponse cellulaire interviennent également. A ce jour, deux tests standardisés mesurant la réponse cellulaire sont disponibles. La mesure des réponses CD4 et CD8 par méthode ELISPOT permet l'identification des réponses spécifiques vis-à-vis des antigènes très précoces (IE1/IE2) ou des protéines du tegument (pp65) du CMV, après séparation des lymphocytes sur Ficoll. Le test Quantiferon™CMV mesure directement en ELISA à partir du prélèvement sanguin la réponse interféron des lymphocytes à un mélange d'antigènes très précoces et tardifs du CMV. La cytométrie en flux à partir des lymphocytes totaux permet également de quantifier les lymphocytes gamma delta. La mesure des cytokines intracellulaires dans les lymphocytes circulants est encore mal standardisée. Chez les patients receveurs d'organe CMV-séronégatifs, à haut risque d'infection et de maladie à CMV, le test Quantiferon™CMV permet de prédire les infections à CMV, et a été proposé notamment en greffe pulmonaire pour ajuster la durée de prophylaxie primaire anti CMV. Chez les receveurs séropositifs, ce test s'avère moins discriminant que l'ELISPOT. De même après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. La prédiction d'évolution défavorable au cours de l'infection à CMV ou du traitement des infections résistantes aux antiviraux est en cours d'évaluation. Le Quantiferon™CMV permet de suivre à la fois la réponse lymphocytaire globale au mitogène et la réponse CMV-spécifique et pourrait guider la surveillance des traitements antiviraux. Le taux de lymphocytes gamma delta est également un marqueur pertinent d'évolution des infections à CMV.

La mesure de la réponse NK ou de la réponse immunitaire globale reste encore du domaine de la recherche. Cependant un nouveau test standardisé, mesurant l'immunité globale par le biais de la charge virale des torqueteno virus humains (TTV) a été identifié comme prédictif des rejets de greffe, et potentiellement de certaines infections opportunistes. La place de ce test dans l'adaptation du traitement immunosuppresseur est en cours d'évaluation ainsi que son intérêt en association avec la mesure de la réponse immune spécifique.

Peu d'études sont disponibles pour évaluer la réponse immune anti-CMV des patients sous biothérapies immunosuppressives. Le test Quantiferon™CMV est en cours d'évaluation au cours des maladies inflammatoires digestives.

En pratique, l'évaluation et les outils de mesure de la réponse immune anti-CMV restent encore limités, mais une simplification et une standardisation des tests, ELISPOT ou de cytométrie est en cours. La combinaison de tests mesurant l'immunité non spécifique et l'immunité spécifique serait certainement un outil de choix pour prédire et personnaliser la prise en charge des patients à haut risque d'infection à CMV.



## SP22 - Infections virales de l'immunodéprimé

SP22-1

Virologie

**Torquetenovirus viral load predicts SARS-CoV-2 vaccine response in kidney transplant recipients**

Morgane Solis<sup>1,2</sup> (morgane.solis@chru-strasbourg.fr), Ilies Benotmane<sup>1,2,3</sup>, Floriane Gallais<sup>1,2</sup>, Samira Fafi-Kremer<sup>1,2</sup>, Sophie Caillard<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Virologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

<sup>2</sup> INSERM, UMR\_S1109, LabEx TRANSPLANTEX, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

<sup>3</sup> Département de Néphrologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

**Aim:**

Transplant recipients display poor responses to SARS-CoV-2 mRNA vaccines. We investigated Torquetenovirus (TTV) viral load (VL) – an ubiquitous virus reflecting global immune response levels – as a predictive factor of vaccine response in kidney transplant recipients (KTR).

**Methods:**

459 KTR having received two SARS-CoV-2 mRNA vaccine doses were enrolled. 241 of them subsequently received a third vaccine dose due to poor response. Anti-receptor-binding domain (RBD) IgG were assessed after each dose. We retrospectively measured TTV VL (Argène, Biomérieux) and investigated its association with vaccine response along with other patient characteristics.

**Results:**

After two doses, 208/459 (45.3%) KTR displayed positive anti-RBD IgG (responders) and 76/459 (16.6%) exhibited antibody titers above the protective threshold of 264 Binding Antibody Units (BAU)/mL. Older age, short time since transplantation and immunosuppressive drugs regimens such as MMF/MPA were factors of poor response. Pre-vaccinal TTV VL $\geq$ 6.2 log<sub>10</sub>copies/mL was independently associated with non-response to two doses (Odds Ratio (OR)=6.17, 95% confidence interval (CI95)=2.42-15.78) as well as to three doses (OR=3.62, CI95=1.55-8.49). Additionally, pre-vaccinal TTV VL $\geq$ 5.0 log<sub>10</sub>copies/mL was predictive of antibody titers below the protective threshold of 264 BAU/mL. In second dose non-responders, high TTV VL in pre-vaccinal or pre-third dose samples were equally predictive of poor seroconversion rates and low antibody titers after the third dose.

**Conclusions:**

High TTV VL before and during COVID-19 vaccination schedules are predictive of poor vaccine response in KTR. This biomarker, investigated in transplant recipients to guide immunosuppression, should also be further evaluated regarding vaccine response and strategies.

*Mots clés* : Biomarker - COVID-19 vaccine - Immunity - Torque teno virus.

## SP22 - Infections virales de l'immunodéprimé

SP22-2

Virologie

**Infection à adénovirus F41 et cytolysse hépatique chez des adultes greffés de cellules souches hématopoïétiques**

Maud Salmona<sup>1,2</sup> (maud.salmona@aphp.fr), Jérôme Le Goff<sup>1,2</sup>, Sylvain Thepot<sup>3</sup>, Severine Mercier-Delarue<sup>1</sup>, Tiffany Bouille<sup>1</sup>, David Michonneau<sup>4</sup>, Caroline Lefeuvre<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Virologie, Hôpital Saint Louis APHP, Paris, France

<sup>2</sup> INSERM U976, Equipe INSIGHT, Université Paris Cité, Paris, France

<sup>3</sup> Département d'hématologie, CHU Angers, Anger, France

<sup>4</sup> Hématologie - greffe de moelle, Hôpital Saint Louis APHP, Paris, France

<sup>5</sup> Virologie, Univ Angers, CHU Angers, HIFIH, SFR ICAT, Anger, France

**Introduction et objectifs :**

Les adénovirus humains (HAdVs) de l'espèce F (types 40 et 41) sont responsables de gastro-entérites aiguës communautaires. Quelques cas d'infections systémiques ont été décrits chez des adultes ou enfants ayant reçu une greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH), mais sans observation d'hépatite aiguë. Depuis janvier 2022, plusieurs pays ont rapporté une augmentation de cas d'hépatites aiguës de cause inconnue chez les enfants. Une infection à HAdV-F41 a été retrouvée dans environ 75% des cas étudiés. L'objectif de cette étude est de décrire les infections à HAdV-F41 diagnostiquées depuis janvier 2022 dans une population adulte de patients greffés de CSH.

**Matériels et méthodes :**

Une investigation rétrospective au CHU d'Angers et à l'hôpital Saint-Louis à Paris, du 1er janvier au 31 mai 2022, a identifié trois patients adultes greffés de CSH présentant une infection à HAdV-F41. Le séquençage du génome entier HAdV par NGS et la caractérisation métagénomique ont été réalisées sur les échantillons de selles et de sang.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les trois patients étaient de sexe masculin avec un âge médian de 59 ans. Tous ont présenté un épisode diarrhéique et une cytolysse hépatique (transaminases 2 à 10 fois supérieures aux valeurs normales) au moment du diagnostic de l'infection. Une infection systémique a été observée chez un patient (#1), mais aucune maladie disséminée n'a été signalée. Aucune infection par les virus des hépatites A, B, C et E n'a été retrouvée. Une toxicité médicamenteuse concomitante est suspectée pour le patient #3. La séquence complète du génome HAdV-F41 a été obtenue pour les 3 patients. L'analyse métagénomique a retrouvé une infection à Adeno-Associated-Virus-2 et Torque-Teno Virus pour le patient #1. Aucun autre virus eucaryote n'a été identifié pour les deux autres patients. Il s'agit de la première série de cas rapportant une cytolysse hépatique lors d'une infection par HAdV-F41 chez des patients adultes greffés de CSH.

**Mots clés :** Cytolysse hépatique - Adénovirus - Adénovirus F41 - Greffe de cellules souches hématopoïétiques.

## SP22 - Infections virales de l'immunodéprimé

SP22-3

Virologie

**A new immunosuppressed pig model to study chronic Hepatitis E infection and the genetic viral diversity**

Nancy León-Janampa<sup>1</sup> (nancy.leon@univ-tours.fr), Ignacio Caballero-Posadas<sup>2</sup>, Céline Barc<sup>3</sup>, François Darrouzain<sup>4</sup>, Philippe Gatault<sup>5</sup>, Mickaël Riou<sup>3</sup>, Anne Pinard<sup>3</sup>, Jérémy Pezant<sup>3</sup>, Christelle Rossignol<sup>2</sup>, Catherine Gaudy-Graffin<sup>1</sup>, Denys Brand<sup>1</sup>, Julien Marlet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université de Tours, INSERM U1259, Tours, France

<sup>2</sup> UMR ISP, Centre Val de Loire, INRAE, Université de Tours, Nouzilly, France

<sup>3</sup> Plateforme d'Infectiologie expérimentale, Centre Val de Loire, INRAE, UE-1277, Nouzilly, France

<sup>4</sup> Service de Pharmacologie médicale, CHRU de Tours, Tours, France

<sup>5</sup> Transplantation rénale – Immunologie clinique, CHRU de Tours, Tours, France

**Introduction and Objectives:**

Hepatitis E virus (HEV) is a zoonosis associated with chronic hepatitis and cirrhosis in immunocompromised patients. Robust animal models are needed for a better understanding of the pathogenesis of chronic HEV infection. To this aim, we developed a new pig model to characterize the HEV genetic changes associated with chronicity, and the impact of HEV infection on the host innate immune responses.

**Material and Methods:**

Twenty piglets were separated into control (n=5), immunocompromised (IC, n=5) and immunocompromised and HEV infected group (IC+HEV, n=10). Pigs were intravenously infected with HEV-3 after two weeks of treatment with immunosuppressive drugs used in kidney transplant recipients (tacrolimus, mycophenolic acid and prednisolone). Pigs were treated and monitored weekly until 11 weeks post infection (wpi). Tacrolimus through concentrations were monitored by HPLCMS/MS (Waters). HEV infection and viral diversity were followed-up by qRT-PCR and NGS analysis (MiSeq, Illumina), respectively. Host innate immune responses were followed-up using DNA array (Fluidigm).

**Results, Discussion and Conclusion:**

A unique and relevant animal model of chronic HEV infection was successfully established where 9/10 pigs progressed to chronicity (> 8 wpi) with an inflammatory infiltrate in the liver.

Extrahepatic replication in the colon and a unique HEV compartmentalization between sera and feces were observed. One mutation, Y590C (ORF1), was detected (>20%) during the chronic phase in the feces of 6/9 pigs, but not in sera nor in the initial inoculum. Three other mutations were detected (>50%) during the chronic phase: H662L (ORF1, feces), V871A (ORF1, sera) and A639V (ORF2, sera), each in one pig.

A pro-inflammatory response and activation of the host innate immune responses (PRR, NF-κB and type I IFN pathways) was observed in blood at acute (4 wpi) and chronic (10 wpi) phases of HEV infection. This systemic inflammation during chronic hepatitis E could be associated with disease progression and/or extrahepatic replication. Contrary, a down-regulation of these pathways was observed in the liver. This suggested a possible inhibition of the host innate immune responses induced by HEV replication.

This model could contribute to better understand the pathogenesis of chronic HEV infection and the development of effective therapies.

*Mots clés* : Hepatitis E - pig model - Genetic diversity - Innate immune responses - Immunosuppression.

## SP22 - Infections virales de l'immunodéprimé

SP22-4

Virologie

**Surveillance de la résistance des virus herpes simplex et du virus de la varicelle et du zona aux antiviraux sur une période de 14 ans**David Boutolleau<sup>1,2,3</sup> (david.boutolleau@aphp.fr), Sonia Burrel<sup>1,2,3</sup><sup>1</sup> Service de Virologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France<sup>2</sup> Centre National de Référence Herpèsvirus (laboratoire associé), Paris, France<sup>3</sup> Sorbonne Université, Paris, France**Introduction et objectif :**

En France, l'aciclovir et le valaciclovir constituent le traitement de première ligne des infections dues aux virus herpes simplex 1 et 2 (HSV-1 et HSV-2) et au virus de la varicelle et du zona (VZV), le foscarnet étant utilisé en deuxième ligne en cas d'échec. L'émergence de la résistance de ces virus aux antiviraux constitue un défi thérapeutique, notamment chez les patients immunodéprimés. Cette étude présente le bilan des recherches de résistance des HSV et du VZV aux antiviraux effectuées au CNR Herpèsvirus (laboratoire associé) entre 2008 et 2021.

**Matériels et méthodes :**

Les prélèvements biologiques effectués pour recherche de résistance aux antiviraux provenaient de patients présentant une infection par HSV ou VZV et recevant un traitement antiviral depuis au moins 7 jours, sans régression significative des lésions. Un test génotypique de résistance a été effectué par séquençage Sanger des gènes codant la thymidine kinase et l'ADN polymérase virales : UL23 et UL30 pour les HSV, ORF36 et ORF28 pour le VZV.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Au total, 1157 prélèvements provenant de 756 patients (382 hommes, 374 femmes, âge médian 52 ans) ont été analysés : 522 prélèvements pour le HSV-1, 452 pour le HSV-2, 183 pour le VZV. La majorité des patients (66,1%) étaient immunodéprimés. La prévalence globale de la résistance aux antiviraux était de 40,2% : 46,6% pour le HSV-1, 46,4% pour le HSV-2, 10,7% pour le VZV. Elle était plus élevée chez les patients immunodéprimés que chez les patients immunocompétents : 50,8% *versus* 18,1%. Toutefois, elle était remarquablement élevée chez les patients immunocompétents atteints de kératites récidivantes à HSV-1 ou à VZV : 37,0%. La résistance concernait l'aciclovir dans 93,5% des cas. La résistance des HSV et du VZV aux antiviraux concerne principalement les patients immunodéprimés et les patients immunocompétents atteints de kératites récidivantes. La prévalence de la résistance est environ 4 fois plus élevée pour les HSV que pour le VZV. Il est nécessaire de poursuivre la surveillance de la résistance des HSV et du VZV aux antiviraux actuels, mais aussi aux nouveaux antiviraux qui ciblent l'hélicase-primase virale : le pritélivir et l'aménamévir.

**Mots clés :** HSV - VZV - Immunodépression - Kératite - Résistance aux antiviraux.

**SP23 - Food, yeast and mold: the good and the bad** **SP23-O.1****The multiple facets of food associated mold**

Monika Coton (monika.coton@univ-brest.fr)

*Université de Brest, Brest, France*

Résumé non parvenu.

**SP23 - Food, yeast and mold: the good and the bad** **SP23-1****Impact of biotic and abiotic factors on the efficacy of antifungal biocides used in the dairy industry**Vincent Visconti (emmanuel.coton@univ-brest.fr), Emmanuel Coton, Karim Rigalma, Philippe Dantigny*LUBEM UR 3882 USC INRAe, Université de Bretagne Occidentale, Plouzané, France***Introduction and Objectives:**

In the dairy industry, various methods can be used in order to control fungal contaminations, among the latter, disinfection is a crucial procedure to avoid contamination by airborne conidia. Currently, antifungal activity is evaluated according to international standards (i.e. EN 1275, 1650, 13697/+A1 and 17272); however, the actual biocide efficacy in food industry conditions can be questioned as it can depend on the considered fungal contaminant species, its intraspecific variability, its physiological state but also on the biocide application conditions. In this framework, we evaluated the antifungal activity of current biocides against the main dairy product fungal contaminants.

**Materials and Methods:**

Fungal inactivation by ethanol, sodium hypochlorite and hydrogen peroxide was evaluated on *Penicillium commune*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium cladosporioides* and *Mucor circinelloides* isolates using conidia with different physiological states (standard and food plant conditions). Moreover, the impact of concentration and temperature on the efficacy of four commercial sanitizers to inactivate conidia produced at 0.95 *aw* and dry-harvested was also quantified.

**Results, Discussion and Conclusion:**

The obtained results showed that biocidal activity of a given molecule depended on the tested species but also strain. *P. commune* was the most resistant species and ethanol was the most efficient molecule. Conidia produced in conditions simulating airborne spores in food plant conditions (production at 0.95 *aw* and dry-harvesting) were more resistant than those produced at 0.99 *aw* and harvested using an aqueous solution (standard conditions). Moreover, low temperature strongly impacted biocide efficacy as the contact time needed to inactivate 4 log of the fungal population was increased by 3 to 20 fold when temperature decreased from 20 to 8°C. For concentration, product dilution mainly impacted biocides that are supposed to be used in pure form. Overall, the obtained data highlighted that disinfection efficacy is dependent on various biotic and abiotic factors and that this multifactorial aspect should be taken into account in the food industry.

*Mots clés* : Dairy industry - Mould - Biocide.

SP23 - Food, yeast and mold: the good and the bad 

SP23-2

**Contamination de pommes par *Penicillium expansum* et la patuline : points critiques, écosystèmes microbiens et biocontrôle par des levures**

Sabine Schorr-Galindo<sup>1</sup> (sabine.galindo@umontpellier.fr), Reem Al Riachy<sup>1</sup>, Caroline Strub<sup>2</sup>, Durand Noël<sup>3</sup>, Vincent Chochois<sup>3</sup>, Angélique Fontana<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR Qualisud, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> Qualisud, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> UMR Qualisud, Cirad, Montpellier, France

Les pommes sont sensibles aux infections causées par des agents pathogènes lors des étapes post-récolte. *Penicillium expansum* est le principal pathogène fongique du stockage agent de la pourriture bleue au cours de laquelle il produit la patuline, mycotoxine responsable de nombreux problèmes de santé pour les consommateurs. Les conditions au verger, pendant le stockage et lors des transformations dans les industries, jouent un rôle très important sur la production/inhibition et/ou la réduction de la quantité de patuline dans les produits finis. Dans ce contexte, les objectifs du projet ANR Patrisk ont été d'identifier les étapes critiques en post-récolte de deux industries de transformation des pommes : cidre et compote afin de mieux maîtriser ces problèmes sanitaires. Des échantillonnages de pommes ont été effectués sur trois années entre 2018 et 2020 à différentes étapes post-récolte. *P. expansum* et la patuline ont été quantifiés et les écosystèmes microbiens épiphytes des pommes ont été suivis tout au long de ses étapes. Des levures ont été isolées de ces écosystèmes afin de pouvoir être utilisées en tant qu'agent de biocontrôle du pathogène fongique.

Pour la filière de compote, deux points critiques post-récolte ont été identifiés : le stockage de longue durée et le passage des pommes à température ambiante après un stockage au froid. De multiples relations compétitives fongiques et bactériennes ont été observées. Des interactions positives ont également été observées entre *P. expansum* et plusieurs espèces microbiennes. Pour la filière du cidre, *P. expansum* était présent tout au long du traitement post-récolte à la surface des pommes. Les analyses de la diversité microbienne épiphyte montrent un « shift microbien » après le transport des pommes qui aurait pu créer des conditions favorables à la toxigenèse. Lors des essais de biocontrôle, des souches du genre *Metschnikowia* ont fortement inhibé le développement du pathogène *in vitro*. *Metschnikowia pulcherrima* a retardé les transferts du pathogène entre pommes et entraîné une plus forte diminution de la taille des lésions sur les pommes inoculées par le pathogène réduisant leur teneur en patuline lors de stockages avec différentes conditions d'application des levures (trempage, pulvérisation et enrobage).

**Mots clés :** *Penicillium expansum* - Patuline - Pomme - Metabarcoding - Biocontrôle.

**SP23 - Food, yeast and mold: the good and the bad** **SP23-3****Interactions entre levures œnologiques : association d'effets entre souches et espèces**

Éléonore Pourcelot<sup>1</sup> (eleonore.pourcelot@inrae.fr), Cleo Conacher<sup>2</sup>, Thérèse Marlin<sup>1</sup>, Florian Bauer<sup>2</sup>, Virginie Galeote<sup>1</sup>, Thibault Nidelet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SPO, Univ Montpellier, INRAe, Institut Agro, Montpellier, France

<sup>2</sup> South African Grape and Wine Research Institute, Stellenbosch University, Stellenbosch, Afrique du Sud

**Introduction et objectifs :**

En œnologie, l'essor de nouvelles stratégies de fermentation, telles que l'utilisation de starter mixtes mélangeant une levure *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) et une non-*Saccharomyces* (NS), nécessite de mieux comprendre comment interagissent les levures notamment en début de fermentation. Même si les interactions entre Sc et les NS sont de plus en plus étudiées, peu de données sur les interactions entre NS sont disponibles. De plus il est encore incertain si les interactions sont déterminées par l'espèce ou par la souche. L'objectif de cette étude est donc de déterminer l'importance relative de l'espèce et de la souche dans les interactions entre 5 espèces de levures : *Hanseniaspora uvarum* (Hu), *Lachancea thermotolerans* (Lt), *Starmarella bacillaris* (Sb), *Torulaspota delbrueckii* (Td) et Sc.

**Matériels et méthodes :**

Nous avons réalisé des cocultures par paires entre 15 souches (3 souches par espèce) en mout synthétique. Nous avons suivi la croissance des cocultures et des monocultures pendant 24 heures à l'aide d'un lecteur de plaque.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Différents types d'interactions ont été identifiées, notamment des cas de sur- et sous-rendements qui indiqueraient que certaines croissance en cocultures sont non additives. De plus, le type d'interaction semble principalement déterminé par les espèces impliquées tout en étant modulé par la souche pour certaines combinaisons particulières d'espèces. Ces résultats sont un premier pas vers une meilleure compréhension de la dynamique microbienne en début de fermentation et il serait intéressant de poursuivre ce travail en étudiant ces interactions dans des consortia plus complexes.

*Mots clés* : Interactions - Non-Saccharomyces - Oenologie - Ecologie.



SP23 - Food, yeast and mold: the good and the bad 

SP23-4

**Injera et Ochratoxine A : réduction du risque par des bactéries lactiques**

Christele Humblot<sup>1</sup> (christele.humblot@ird.fr), Sabine Galindo<sup>2</sup>, Angélique Fontana<sup>2</sup>, Caroline Strub<sup>2</sup>, Noël Durand<sup>3</sup>, Charlie Poss<sup>3</sup>, Véronique Martinez<sup>2</sup>, Delisia Casi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> QualiSud, IRD, Montpellier, France

<sup>2</sup> QualiSud, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> QualiSud, Cirad, Montpellier, France

L'utilisation de bactéries lactiques (BL) a récemment été recommandée comme stratégie prometteuse concernant la bio-détoxification des mycotoxines dans les aliments. Les mécanismes identifiés à l'origine de ce phénomène sont l'adsorption sur la paroi bactérienne ou la dégradation par des enzymes bactériennes. La farine de teff (*Eragrostis tef*) n'échappe pas aux contaminations et est régulièrement utilisée pour la fabrication du plat principal de l'Ethiopie, l'injera, une galette préparée à partir d'une pâte fermentée. Ainsi l'objectif de ces travaux était d'observer le potentiel de bio-détoxification de l'ochratoxine A (OTA) par quatre souches de BL appartenant à l'espèce *Lactiplanctibacillus plantarum* et d'identifier des souches fongiques productrices d'OTA isolées de la fermentation du teff.

La capacité de réduction a d'abord été observée dans du tampon phosphate (PBS) à différents pH (7,4 ou 4,0) et à différents temps d'incubation (1h, 8h et 24h). Puis elle a également été observée dans la pâte d'injera, au cours de 72h de fermentation. Il s'agissait également de tester la capacité de production d'Ochratoxine A sur milieu Potatoes Dextrose Agar (PDA) chez plusieurs souches fongiques appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* et ayant été isolées à partir de teff et d'injera provenant d'Ethiopie.

Nos résultats ont démontré qu'une souche *Aspergillus sp.* était productrice d'OTA. En parallèle, les tests de bio-détoxification en PBS ont démontré que deux des quatre souches testées, étaient capables de réduire significativement l'OTA de 18,5 et 15,4% respectivement ( $p < 0,05$ ), après 24h d'incubation dans du PBS à pH 7,4. Ces mêmes souches n'avaient pas de capacité d'adsorption dans le PBS à pH 4,0 quelque soit le temps d'incubation. Concernant la réduction du taux d'OTA pendant la fermentation de la pâte d'injera, aucune n'a montré un potentiel de bio-détoxification. Ainsi le pH et le milieu d'incubation auraient un impact sur la capacité de bio-détoxification des BL. Parallèlement, la fermentation des pâtes d'injera par ces BL a montré une réduction de la population fongique se développant sur milieu PDA, laissant penser à une stratégie future de biopréservation par ces BL contre le développement et la production d'OTA par les champignons producteurs.

**Mots clés :** Mycotoxines - Bactéries lactiques - Ochratoxine A - Champignon - Injera.

**SP24 - Comprendre, sélectionner et exploiter les microbiotes pour les biotechnologies environnementales****SP24-O.1****Vers une meilleure compréhension de la digestion anaérobie par une combinaison d'approches méta-omiques et biostatistiques**

Olivier Chapleur (olivier.chapleur@inrae.fr)

PROSE, INRAe, Antony, France

La digestion anaérobie est un processus microbiologique de dégradation de la matière organique. Elle est exploitée à l'échelle industrielle pour produire du biogaz riche en méthane pouvant être converti en énergie électrique et thermique. Malgré son utilisation de plus en plus fréquente, ce procédé reste sujet à des instabilités. En effet, sa performance est très liée à la structure de la communauté microbienne qui le compose, elle-même étant très dynamique et influencée par les conditions opératoires des digesteurs.

Les approches omiques permettent désormais d'accéder à un niveau d'information sans précédent sur le fonctionnement des écosystèmes microbiens complexes. En particulier, appliquées à l'étude des bioprocédés environnementaux comme la digestion anaérobie, elles permettent de mieux comprendre la succession de phénomènes microscopiques qui gouverne l'efficacité des procédés, ou au contraire son dysfonctionnement. Combiner des informations omiques avec des données sur les performances des bioréacteurs dans différentes conditions de fonctionnement pourrait notamment permettre d'élucider les raisons de l'instabilité des digesteurs anaérobies, et de proposer des stratégies de gestion optimisées. Toutefois, ces approches génèrent des données de dimension importante, sur de multiples échantillons. Le défi est maintenant d'organiser, d'analyser et d'utiliser ces données pour les exploiter. Cela nécessite d'utiliser des méthodes statistiques appropriées.

Différentes approches statistiques classiques peuvent être utilisées (analyses multivariées comme l'ACP par exemple) pour identifier les principales sources de variabilités entre échantillons. Elles nous ont par exemple permis d'expliquer des différences de dégradabilité entre déchets à partir de données métabolomiques [1]. Cependant, elles ne sont pas toujours suffisantes et certains types de données requièrent des cadres analytiques spécifiques qu'il faut adapter aux questions biologiques et aux types de données. Ainsi, nous avons développé une approche spécifique pour intégrer des séries de données temporelles multi-omiques [2] et trouver des liens entre croissance microbienne et dégradation de molécules spécifiques [3]. Des méthodes intégratives multi-blocks nous ont permis de retracer les dynamiques microbiennes, fonctionnelles et métabolomique dans un digesteur anaérobie soumis à des modifications de température [4]. Sur un autre plan, MINT, une méthode d'intégration de données issues d'études différentes nous a permis d'identifier des marqueurs microbiens spécifiques de l'inhibition du procédé par l'ammoniac [5].

*Mots clés* : Omiques - Digestion anaérobie - Statistiques - Méthanisation.

## Références :

1. Puig-Castellví, F., Cardona, L., Jouan-Rimbaud Bouveresse, D., Cordella, C.B.Y., Mazéas, L., Rutledge, D.N. and Chapleur, O. (2020) Assessment of substrate biodegradability improvement in anaerobic Co-digestion using a chemometrics-based metabolomic approach. *Chemosphere* 254, 126812.
2. Chapleur, O., Poirier, S., Guenne, A. and Lê Cao, K.-A. (2021) Time-course analysis of metabolomic and microbial responses in anaerobic digesters exposed to ammonia. *Chemosphere* 283, 131309.
3. Cardona, L., Cao, K.A.L., Puig-Castellví, F., Bureau, C., Madigou, C., Mazéas, L. and Chapleur, O. (2020) Integrative Analyses to Investigate the Link between Microbial Activity and Metabolite Degradation during Anaerobic Digestion. *Journal of Proteome Research*.
4. Puig-Castellví, F., Midoux, C., Guenne, A., Conteau, D., Franchi, O., Bureau, C., Madigou, C., Jouan-Rimbaud Bouveresse, D., Kroff, P., Mazéas, L., Rutledge, D.N., Gaval, G. and Chapleur, O. (2022b) Metataxonomics, metagenomics and metabolomics analysis of the influence of temperature modification in full-scale anaerobic digesters. *Bioresource Technology* 346, 126612.
5. Poirier, S., Déjean, S., Midoux, C., Lê Cao, K.-A. and Chapleur, O. (2020) Integrating independent microbial studies to build predictive models of anaerobic digestion inhibition by ammonia and phenol. *Bioresource Technology* 316, 123952.

## SP24 - Comprendre, sélectionner et exploiter les microbiotes pour les biotechnologies environnementales

SP24-1

**Effet de fluctuations de la concentration en ammonium sur le microbiome de laméthanisation : approche métatranscriptomique**

Léa Cabrol<sup>1,2</sup> (lea.cabrol@mio.osupytheas.fr), Julie Hardy<sup>1,3</sup>, Sébastien Lacroix<sup>3</sup>, Adèle Lazuka<sup>3</sup>, Nelly Baladato<sup>4</sup>, Sandy Contreras<sup>4</sup>, [Patricia Bonin](#)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UM 110 CNRS/IRD, Aix Marseille Univ., Mediterranean Institute of Oceanography (MIO), Marseille, France

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB), Santiago, Chili

<sup>3</sup> Equipe Monitoring Biologique et Chimique, Veolia Recherche & Innovation, Maisons-Laffitte, France

<sup>4</sup> Genoscreen, Lille, France

**Introduction et objectifs :**

La digestion anaérobie (DA) est un procédé de dégradation et valorisation de la matière organique *via* sa conversion en méthane. La DA est sensible à différents stress environnementaux, tels que l'exposition à de fortes concentrations d'ammonium, potentiellement inhibitrices. L'optimisation de la DA nécessite une meilleure connaissance du fonctionnement des communautés microbiennes impliquées, notamment en réponse à des perturbations. L'objectif est ici d'évaluer l'impact d'apports croissants d'ammonium sur la structure et les fonctions exprimées par le microbiome de la DA.

**Matériels et méthodes :**

Un digesteur anaérobie continu (CSTR, 10 L) a été opéré en conditions contrôlées pendant 300 jours, alimenté par un substrat synthétique complexe. La concentration en ammonium dans le substrat a augmenté par paliers de 1.75 à 5.71 g L<sup>-1</sup> avant de retrouver le niveau initial. Les performances de la DA ont été évaluées par le suivi des concentrations en matière organique (DCO), CH<sub>4</sub> et acides gras volatils (AGVs). La structure de la communauté microbienne totale et active a été déterminée régulièrement par métabarcoding. Les voies métaboliques exprimées ont été identifiées par métatranscriptomique sur une sélection d'échantillons grâce à un pipeline bioinformatique spécifiquement développé pour cette étude.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Le procédé est significativement impacté par l'augmentation de la concentration en NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, avec une chute de la dégradation de la DCO et de la production de CH<sub>4</sub>, une accumulation d'AGVs (acétate principalement), et une diminution de la proportion de méthanogènes actifs, dominés par *Methanospirillum* en condition stationnaire, *Methanosaeta* au pic d'ammonium, et *Methanoculleus* au retour à l'état stationnaire. D'un point de vue métabolique, l'expression de gènes impliqués dans la voie hydrogénéotrophique (CH<sub>4</sub> à partir de H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) augmente au fur et à mesure de l'expérimentation. On observe également un shift métabolique, avec une surexpression des gènes impliqués dans la production de CH<sub>4</sub> à partir de méthylamine au moment du pic de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et, inversement, une surexpression des gènes impliqués dans la production de CH<sub>4</sub> à partir de méthanol lors du retour aux conditions initiales. Cette étude montre les perspectives offertes par l'approche métatranscriptomique pour la compréhension et le pilotage des procédés de DA en conditions inhibitrices.

**Mots clés :** Méthanisation - Digestion Anaérobie - Inhibition - Ammonium - Métatranscriptomique.

## SP24 - Comprendre, sélectionner et exploiter les microbiotes pour les biotechnologies environnementales

SP24-2

**Characterization of virus-host dynamics in anaerobic digesters under abiotic stress**

Marion Coves<sup>1</sup> (marion.coves@inrae.fr), Ariane Bize<sup>1</sup>, Laurent Mazeas<sup>1</sup>, Olivier Chapleur<sup>1</sup>, Cédric Midoux<sup>1</sup>, Ludwig Jardillier<sup>2</sup>

<sup>1</sup> PROSE, INRAE, Antony, France

<sup>2</sup> ESE, IDEEV, Gif-Sur-Yvette, France

**Introduction and Objectives:**

Viruses of microbes are major players in various ecosystems, typically affecting the structuration and dynamics of microbial communities [1]. They nevertheless remain poorly explored in anaerobic digestion (AD) plants [2], where biowaste is valorised into methane-rich biogas. The AD process ecosystems are very sensitive to disturbance, leading to inhibition and loss of methane production [3]. We were therefore interested in better understanding the interplay between abiotic disturbance, microbial community composition, including the viromes, and process performance.

**Material and Methods:**

The variations of both viral and prokaryotic populations were followed in batch AD microcosms under abiotic stress. Four types of abiotic disturbances were tested in triplicates. During incubation, either NaCl, NH<sub>4</sub>Cl or phenol was injected into the reactors, as inhibitors previously reported in full-scale plants. Mitomycin C was also tested, since it can activate the lytic cycle of proviruses. We first confirmed a significant impact of the tested stresses on biogas production. Then we performed 16S rDNA metabarcoding targeting archaea and bacteria, and shotgun metagenomic sequencing of 30 selected metaviromes.

**Results, Discussion and Conclusion:**

Metavirome coassembly showed a N50 of 3,886 bases, and yielded more than 10<sup>5</sup> contigs longer than 1,000 bp. Among them, 45,914 were predicted as putative viral contigs using VIBRANT (including 2,815 complete). After strict quality filtering, thanks to two more tools, CheckV and VirSorter2, 230 selected contigs emerged. Upon those, 110 were differentially abundant when comparing intra-condition variability before and after disturbance. We will soon be able to interpret the observed community dynamics.

We also detected auxiliary metabolic genes related to carbohydrate metabolism and the sulphur relay system, which seems relevant to this specific ecosystem. Moreover, there was a good agreement between the prokaryotic community composition and the predicted hosts of the viral contigs, with the dominance of Clostridiales, in both cases. Also, we plan to apply the epicPCR technique [4] to confirm specific virus-host pairs.

*Mots clés* : Anaerobic digestion - Virus of microbe - Methanogen - Meta-omics - epicPCR.

**Références :**

1. Sullivan MB, Weitz JS, Wilhelm S. Viral ecology comes of age. *Environmental Microbiology Reports* 2016, 9(1):33-35.
2. Calusinska M, Marynowska M, Goux X, Lentzen E, Delfosse P. Analysis of dsDNA and RNA viromes in methanogenic digesters reveals novel viral genetic diversity. *Environmental Microbiology* 2015, 18(4):1162-1175.
3. Chen Y, Cheng JJ, Creamer KS. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology* 2008, 99(10):4044-4064.
4. 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. *The ISME Journal* 2015, 10:427.

**SP24 - Comprendre, sélectionner et exploiter les microbiotes pour les biotechnologies environnementales****SP24-3****Effet de la source de carbone et du niveau de limitation de P sur la sélection microbienne de surproducteurs de Polyhydroxybutyrate dans des cultures continues ouvertes**

Étienne Paul (paul@insa-toulouse.fr), Laetitia Cavaillé, Sandrine Paissé, Matteo Castiello, Claire Dumas, Guillermina Hernandez-Raquet

Toulouse Biotechnology Institute, INSA Toulouse, Toulouse, France

**Introduction et objectifs :**

Les polyhydroxyalcanoates (PHA) sont des molécules très attractives du fait de leur biodégradabilité et de leurs intérêts industriels. La production de PHA peut se faire en utilisant des cultures microbiennes mixtes, ce qui abaisse les coûts de production et les impacts environnementaux. Cependant, ces cultures doivent être enrichies en microorganismes surproducteurs lors d'une étape de sélection. Ce travail vise à étudier les paramètres de la culture qui influence la sélection microbienne. Il étudie l'influence de la nature de la source de carbone des cellules et du degré de limitation en phosphore sur la sélection.

**Matériel et méthodes :**

Plusieurs combinaisons de taux de dilution et de degrés de limitation d'un élément nutritif (phosphore) ont été étudiées dans un bioréacteur agité et aéré de laboratoire conduit en mode chemostat, à 25°C, avec de l'acide acétique mélangé ou pas avec l'acide butyrique. La diversité microbienne a été analysée à l'aide du séquençage MiSeq Illumina réalisé par la plateforme GenoToul Genomics and Transcriptomics (Auzeville, France).

**Résultats :**

Nous avons pu constater que :

- (i) La sélection dépend du taux de dilution appliqué, du niveau de limitation du phosphore et de la nature de la source de carbone ; la diversité initiale diminue très rapidement (5 à 10 SRT) pour atteindre quelques OTU dominantes avec une abondance relative élevée;
- (ii) La source de carbone est un facteur clé dans la sélection microbienne. La présence de butyrate dans l'alimentation a montré une sélection robuste et reproductible de populations du genre *Malikia* surproductrices de polyhydroxybutyrate (taux spécifique de production de 1,1 Cmol/Cmol.h). En présence d'acide acétique, des populations du genre *Acinetobacter* faiblement productrices de PHB sont observées.
- (iii) Le taux de dilution est aussi un paramètre essentiel dans le processus de sélection. Une valeur élevée favorise les populations ayant une activité métabolique élevée.

Choisir des conditions opératoires (par exemple, mélange de substrats acides gras volatiles) en se plaçant dans la zone de double limitation C et P assure une sélection stable de surproducteurs microbiens et une production robuste de polyhydroxybutyrate.

**Mots clés :** Production de polyhydroxybutyrate - Cultures mixtes - Sélection microbienne - Bioréacteurs.

**SP24 - Comprendre, sélectionner et exploiter les microbiotes pour les biotechnologies environnementales****SP24-4****Enrichissement de bactéries chimiolithotrophes du sol pour la fixation biologique de l'azote sur une biocathode**

Axel Rous (axel.rous@inrae.fr), Elie Desmond-Le Quéméner, Eric Trably, Nicolas Bernet

LBE, Univ Montpellier, INRAe, Narbonne, France

**Introduction et objectifs :**

L'ammoniac utilisé dans la production d'engrais azotés est actuellement obtenu par des procédés coûteux énergétiquement et à l'origine d'importants rejets de gaz à effet de serre. Récemment, il a été proposé comme alternative plus sobre et moins polluante d'utiliser des biofilms électroactifs pouvant croître sur une biocathode en fixant le CO<sub>2</sub> et le N<sub>2</sub> pour produire de la biomasse utilisable comme engrais [1]. L'objectif de ces travaux était de comparer les performances des communautés microbiennes chimiolithotrophes/électroactives et diazotrophes obtenues par deux méthodes d'enrichissement.

**Matériels et méthodes :**

Deux stratégies ont été utilisées à partir d'échantillons de sols :

1) Un premier enrichissement a été réalisé dans un milieu minéral avec N<sub>2</sub> comme seule source d'azote et ajout de carbone organique pour apporter énergie et carbone pendant 50j. Puis cet enrichissement a été transféré en cellule d'électrolyse microbienne (MEC) en contact avec une cathode polarisée à -0,7 V (vs SHE). Au bout de 60 jours, le milieu cathodique a été remplacé par un milieu dépourvu de carbone organique [2].

2) Un second enrichissement a été réalisé dans un milieu minéral avec H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> comme source d'énergie et de carbone et NH<sub>4</sub><sup>+</sup> comme source d'azote pendant 30 jours. Puis le milieu a été remplacé par un milieu dépourvu d'azote organique.

Les communautés obtenues ont été caractérisées par séquençage des ADNr 16s et la fixation de N<sub>2</sub> validée et quantifiée par la mesure de l'activité réductrice de l'acétylène (ARA).

**Résultats, discussion et conclusion :**

La méthode ARA confirme la fixation de l'azote (40,7 μmolC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/L.j et 18,8 μmolC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/L.j) dans les communautés issues des enrichissements 1 et 2. Les deux enrichissements ont permis la sélection de la famille des *Peptococcaceae* (*Desulfotomaculum*) connus comme chimiolithotrophes facultatifs et homoacétogènes. Les familles des *Xanthomonadaceae* et *Rhodospirillaceae*, plutôt connues comme hétérotrophes, sont présentes en MEC. Des *Xanthobacteraceae* autotrophes sont retrouvés dans les enrichissements H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> et milieux des MEC. L'analyse de ces communautés a permis d'établir un modèle des échanges de carbone, d'azote et d'énergie dans ces écosystèmes microbiens fixant N<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>.

**Mots clés :** Cellule d'électrolyse microbienne (MEC) - Fixation de l'azote - Biocathode - Bactéries chimiolithotrophes - Ecosystèmes microbiens.

**Références :**

1. Rago L, Zecchin S, Villa F, Goglio A, Corsini A, Cavalca L et al. 2019. Bioelectrochemical Nitrogen fixation (e-BNF): Electro-stimulation of enriched biofilm communities drives autotrophic nitrogen and carbon fixation. *Bioelectrochemistry*. 125:105-15.
2. Zaybak Z, Pisciotto J, Tokash J, Logan B. 2013. Enhanced Start-up of Anaerobic Facultatively Autotrophic Biocathodes in Bioelectrochemical Systems. *J. Biotech.* 168:47885.

**SP25 - Lutte contre l'antibio-résistance : Stratégies innovantes de criblage et nouvelles molécules****SP25-O.1****Structure-function studies and screening for efflux pumps inhibitors after their reconstitution of in biomimetic systems**

Martin Picard<sup>1</sup> (martin.picard@ibpc.fr), Marine Novelli<sup>2</sup>, Nicolas Fix-Boulier<sup>1</sup>, Céline Madigou<sup>1</sup>, Jean-Michel Brunel<sup>2</sup>, Jean-Michel Bolla<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Biologie Physico-Chimique des Protéines Membranaires (UMR7099), CNRS, Paris, France

<sup>2</sup> MCT - UMR\_MD1, Inserm U1261, Faculté de Pharmacie, Marseille, France

**Introduction and Objectives:**

The need to overcome antibiotic resistance in common Gram-negative pathogens remains unmet and represents a challenging aspect of the research in the field of antimicrobials. Among the various resistance mechanisms developed by bacteria, efflux pumps are on the front line. They consist of membrane proteins that expel noxious compounds outside of the bacteria, across its two-membranes environment. Efflux pumps constitute promising therapeutic targets, as their blockage could restore the actual arsenal utility.

**Materials and Methods:**

We have developed an original and unique methodology that allows to specifically monitor the activity of *in vitro* reconstituted efflux pumps from Gram negative bacteria. This test relies on the reconstitution of the efflux pumps in proteoliposomes mimicking the two-membranes architecture of the envelope of Gram-negative bacteria, and on the monitoring of the transfer of substrates through the reconstituted pump using fluorescent reporters.

**Results, Discussion and Conclusion:**

Our *in vitro* approach allows us to study the molecular determinants behind efflux pump assembly and transport and to tackle their structure-function analysis by crystallography, cryo-EM and NMR. In addition, the methodology was miniaturized and automatized on a 96-wells microplate reader, hence making it possible to automatically test large-scale chemical libraries. Our project is to identify efflux pump inhibitors (EPI) that consist of adjuvant molecules without intrinsic antibiotic activity but working by blocking efflux pump and therefore restoring the activity of antibiotics.

*Mots clés* : Efflux pump - Inhibitors - Structure-function - Proteoliposomes.

**SP25 - Lutte contre l'antibio-résistance : Stratégies innovantes de criblage et nouvelles molécules****SP25-1**

Antimicrobiens

**Nouvelle approche pour lutter contre les résistances bactériennes**

Miyanou Rosales-Hurtado<sup>1</sup> (miyanou.rosales-hurtado@umontpellier.fr), Lindita Lari<sup>1</sup>, Jean-Denis Doquier<sup>2</sup>, Georges Feller<sup>3</sup>, Laurent Gavara<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de Biomolécules Max Mousseron, Montpellier, France

<sup>2</sup> Dipartimento di Biotechnologie Mediche, Università di Siena, Sienne, Italie

<sup>3</sup> Laboratoire de Biochimie, Centre d'Ingénierie des Protéines-InBioS, Université de Liège, Liège, Belgique

**Introduction et objectifs :**

L'émergence récente et continue de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, est de nos jours un grave problème de santé publique. [1] Cela est d'autant plus accentué par la mauvaise utilisation des antibiotiques combinée au manque d'intérêt de l'industrie pharmaceutique. Ainsi, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a récemment présenté une liste de pathogènes à traiter en priorité mais a aussi mis l'accent sur développement de nouveaux médicaments ciblant plus particulièrement les bactéries à Gram-négatif résistantes aux carbapénèmes exprimant des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE). [2] Il est donc urgent de trouver de nouvelles stratégies antibactériennes et de nouveaux agents antibactériens pour lutter contre les bactéries multirésistantes.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Il a été donc imaginé d'utiliser les mécanismes de résistances présents chez la bactérie afin de lutter contre elle-même. Pour cela, des molécules ont été conçues en s'inspirant des antibiotiques présents sur le marché et les reliant par le biais d'un linker à une molécule active possédant une activité antibactérienne. Une synthèse hétérocyclique en 9 étapes a été réalisée pour obtenir une potentielle pro-drogue. Par ailleurs, notre concept a été mis en évidence par des tests microbiologiques et enzymatiques réalisés à Université de Sienne et à l'Université de Liège. Dans un premier temps, des mesures d'interaction par titration calorimétrique isotherme (ITC) ont été réalisées démontrant la reconnaissance enzymatique et la coupure hydrolytique du pro-médicament. Les paramètres de liaisons ont ainsi pu être déterminés ( $K_{met}$   $K_{cat}$ ) ainsi que les premières relations structure-activité. Des expériences enzymologiques sur un large panel de  $\beta$ -lactamases ont permis de dresser un profil de reconnaissance et démontrer le relargage du principe actif. Des évaluations sur des souches bactériennes ont été réalisées avec la détermination des CMI (concentration minimale inhibitrice) correspondantes. De plus, la stabilité en milieux biologiques des promédicaments ont été déterminée. Cette étude ouvre une nouvelle voie alternative dans le traitement des infections bactériennes multi-résistantes en retournant le principal mode de résistance contre la bactérie.

**Mots clés :** Agents antimicrobiens - Résistance -  $\beta$ -lactamases.

## Références :

1. Lee Ventola C, 2015. The antibiotic resistance crisis : part 1 : causes and threats, Pharm. Ther. 40, 277-283. PMC4378521
2. 2017, World Health Organization, Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery and development of new antibiotics.



## SP25 - Lutte contre l'antibio-résistance : Stratégies innovantes de criblage et nouvelles molécules

SP25-2

Antimicrobiens

**1,2,4-Triazole-3-thione compounds potently inhibit VIM and NDM-1 metallo-beta-lactamases and re-sensitize multi-resistant clinical isolates to meropenem**

Jean-François Hernandez<sup>1</sup> (jean-francois.hernandez@umontpellier.fr), Alice Legru<sup>1</sup>, Federica Verdirosa<sup>2</sup>, Yen Vo-Hoang<sup>1</sup>, Giusy Tassone<sup>3</sup>, Filippo Vascone<sup>4</sup>, Caitlyn A. Thomas<sup>5</sup>, Giuseppina Corsica<sup>2</sup>, Manuela Benvenuti<sup>3</sup>, Georges Feller<sup>6</sup>, Michael W. Crowder<sup>5</sup>, Laura Cendron<sup>4</sup>, Cecilia Pozzi<sup>3</sup>, Stefano Mangani<sup>3</sup>, Jean-Denis Docquier<sup>2,6</sup>, Laurent Gavara<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut des Biomolécules Max Mousseron, Université Montpellier, CNRS, ENSCM, Montpellier, France

<sup>2</sup> Dipartimento di Biotechnologie Mediche, University of Siena, Siena, Italie

<sup>3</sup> Dipartimento di Biotechnologie, Chimica e Farmacia, University of Siena, Siena, Italie

<sup>4</sup> Laboratory of Structural Biology, Dpt of Biology, University of Padua, Padua, Italie

<sup>5</sup> Dpt of Chemistry and Biochemistry, Miami University, Oxford, OH, USA

<sup>6</sup> Dpt SDV, Centre d'Ingénierie des Protéines-InBioS, Université de Liège, Liège, Belgique

**Introduction et objectifs :**

Metallo- $\beta$ -lactamases (MBLs) are increasingly involved as a major mechanism of resistance to carbapenems in relevant opportunistic Gram-negative pathogens. Unfortunately, clinically efficient MBL inhibitors still represent an unmet medical need. We are developing compounds containing a 1,2,4-triazole-3-thione scaffold as an original zinc ligand and few promising series were already reported [1-4]. Here, a new series characterized by a diversely substituted amino acid moiety is presented. The primary objectives were to obtain compounds with a broader inhibition spectrum and higher synergistic activity in combination with meropenem in microbiological assays.

**Matériels et méthodes :**

More than 40 compounds were synthesized following known protocols. They were purified by HPLC and characterized by mass spectrometry (MS) and NMR. Their purity was above 95%. Their inhibitory potency was measured on recombinant clinically-relevant MBLs (VIM-1, -2, -4, NDM-1, IMP-1) in 96-wells plates. The inhibition mode of best compounds was assessed on VIM-2 and NDM-1 using equilibrium dialysis, native MS, isothermal calorimetry (ITC) and X-ray crystallography. The antibacterial synergistic activity of best compounds (32microg/mL) combined to meropenem was assessed on several clinical MBL-producing multidrug-resistant isolates (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) using a broth microdilution method. Several experiments were performed to study the drug-like properties of selected compounds: cytotoxicity (HeLa cells), ADME profile, selectivity toward human metallo-enzymes, pharmacokinetic studies in rats. Finally, a preliminary *in vivo* evaluation was performed on a murine model of bacterial pneumonia.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Several compounds showed broad-spectrum activity with submicromolar to nanomolar inhibitory potencies against most relevant MBLs (i.e. VIMs and NDM-1). In addition, they fully restored the activity of meropenem against both VIM- and NDM-1-producing clinical isolates (e.g. up to 1000-fold reduction of meropenem MIC on a NDM-1-producing *E. coli*). The study of structure-activity relationships pointed the determining role of certain di-heteroaryl-substituted amino acid moieties in both NDM-1 inhibition and potentializing activity. Equilibrium dialysis, native MS, ITC and X-ray crystallography showed that the best compounds at least partly inhibited MBLs by zinc stripping. Finally, their low cytotoxicity, favourable ADME properties and selectivity against mammalian metallo-enzymes, and preliminary *in vivo* experiments further supported the promising potential of these compounds.

... / ...

**SP25 - Lutte contre l'antibio-résistance : Stratégies innovantes de criblage et nouvelles molécules**

... / ...

*Mots clés* : MBL inhibitor - Bacterial resistance - Meropenem - Gram-negative.

Références :

1. Gavara L, Seville L, De Luca F, Mercuri P, Bebrone C, Feller, G, et al. 2020. 4-Amino-1,2,4-triazole-3-thione-derived Schiff bases as metallo-beta-lactamase inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* 208:112720.
2. Legru A, Verdirosa F, Hernandez J-F, Tassone G, Sannio F, Benvenuti M, et al. 2021. 1,2,4-Triazole-3-thione compounds with a 4-ethyl alkyl/aryl sulfide substituent are broad-spectrum metallo-beta-lactamase inhibitors with re-sensitization activity. *Eur J Med Chem.* 226:113873.
3. Gavara L, Legru A, Verdirosa F, Seville L, Nauton L, Corsica G, et al. 2021, 4-Alkyl-1,2,4-triazole-3-thione analogues as metallo-beta-lactamase inhibitors. *Bioorg. Chem.* 113:105024
4. Verdirosa F, Gavara L, Seville L, Tassone G, Corsica G, Legru A, et al. 2022. 1,2,4-Triazole-3-thione analogues with a 2-ethylbenzoic acid at position 4 as VIM-type metallo-beta-lactamase inhibitors. *ChemMedChem* 17:e202100699.

## SP25 - Lutte contre l'antibio-résistance : Stratégies innovantes de criblage et nouvelles molécules

SP25-3

Antimicrobiens

**Le cluster de biosynthèse de l'antibiotique odilorhabdine et le locus d'auto-résistance codant l'acétyl-transférase OatA sont spécifiques à une niche et aux bactéries productrices**Anne Lanois<sup>1</sup> (anne.lanois-nouri@umontpellier.fr), Lucile Pantel<sup>2</sup>, Alain Givaudan<sup>1</sup>, Maxime Gualtieri<sup>2</sup><sup>1</sup> DGIMI UMR1333 UM-INRAE, INRAE, Montpellier, France<sup>2</sup> Nosopharm, Nosopharm, Nimes, France

Découvrir de nouvelles classes d'antibiotiques pour combattre l'antibiorésistance est devenue une priorité pour lutter contre les infections nosocomiales. C'est dans cette optique qu'un premier composé issu de la famille des odilorhabdines, produites par la bactérie entomopathogène *Xenorhabdus nematophila*, a récemment passé avec succès l'étape préclinique réglementaire. Les odilorhabdines sont des peptides cationiques inhibant la traduction bactérienne par fixation sur la sous-unité ribosomale 30S[1]. Les souches issues des genres *Xenorhabdus* et *Photorhabdus* vivent en symbiose avec leur nématode et possèdent un génome riche en loci codant pour des non ribosomal peptides synthetase (NRPS) et des polyketide synthases (PKS) et donc en métabolites secondaires.

Afin de mieux appréhender les résistances associées qui pourraient émerger lors de l'utilisation clinique de ces molécules, il est primordial de comprendre comment la souche productrice se protège des molécules actives qu'elle génère et la distribution du gène de résistance.

**Matériels, méthodes et résultats :**

Le locus NRPS permettant la synthèse de la molécule active ainsi des gènes adjacents ont été clonés par recombinaison homologue chez *E. coli*. La détermination des CMI de l'odilorhabdine naturelle NOSO-95C contre les souches de *E. coli* recombinants a permis l'identification du gène de résistance : *oatA* codant pour une N-acétyltransférase. Sa purification nous a permis dans un premier temps de confirmer par des tests *in vitro* qu'elle inhibait bien l'activité antimicrobienne de NOSO-95C. Ensuite, des analyses LC-MS/MS associées à des tests d'inhibition de la traduction ont démontré que OatA agit par acétylation préférentielle du groupement NH<sub>2</sub> de l'acide aminé en position 2 de NOSO-95C, bloquant ainsi sa capacité à inhiber la traduction chez *E. coli*. Cette position avait été décrite comme essentielle dans l'interaction de ce composé avec le ribosome[2].

L'analyse phylogénique a permis d'associer de manière exclusive la présence de ce gène de résistance au cluster de l'odilorhabdine trouvé uniquement chez *Xenorhabdus nematophila* et une clade phylogénétique spécifique de *Photorhabdus*[2].

**Conclusion :**

Ce travail a permis d'identifier le gène d'auto-résistance de la souche productrice des odilorhabdines et d'observer qu'il n'est présent chez aucune souche clinique. De plus, la souche productrice vivant dans une niche écologique spécifique, cela diminue fortement la probabilité d'un transfert horizontal.

**Mots clés :** Cluster de gènes biosynthétiques - Acétyl-transférase - *Xenorhabdus* - Auto-résistance - Antibiotique.

**Références :**

1. Pantel, L., Florin, T., Dobosz-Bartoszek, M., Racine, E., Sarciaux, M., Serri, M., Houard, J., Campagne, J.-M., de Figueiredo, R.M., Midrier, C., Gaudriault, S., Givaudan, A., Lanois, A., Forst, S., Aumelas, A., Cotteaux-Lautard, C., Bolla, J.M., Vingsbo Lundberg, C., Huseby, D.L., Hughes, D., Villain-Guillot, P., Mankin, A.S., Polikanov, Y.S., Gualtieri, M. 2018. *Mol Cell*, 70, 83-94.e7
2. Lanois-Nouri, A., Pantel, L., Fu, J., Houard, J., Ogier, J.-C., Polikanov, Y.S., Racine, E., Wang, H., Gaudriault, S., Givaudan, A., Gualtieri, M. 2022. *mBio*, 13, e02826-02821.

**SP25 - Lutte contre l'antibio-résistance : Stratégies innovantes de criblage et nouvelles molécules****SP25-4**

Antimicrobiens

**Est-ce que les pharmacopées anciennes peuvent être utiles à la recherche de stratégies anti-infectieuses ?**Pierre Fechter (p.fechter@unistra.fr)

UMR7242, CNRS - Université de Strasbourg, Illkirch, France

L'homme a de tous temps cherché à soulager ses souffrances physiques par l'utilisation des remèdes à sa disposition dans la nature. Les pharmacopées antiques ou médiévales contiennent ainsi de vastes informations sur l'usage de la matière médicale qu'elle soit végétale, minérale ou animale, et il n'est pas irréaliste de penser que ces pharmacopées millénaires recèlent des secrets qui pourraient avoir des incidences notables sur la composition des médicaments actuels. La question est de savoir comment exploiter rationnellement ce vaste vivier de solutions thérapeutiques potentielles.

Le premier objectif a été d'identifier, grâce au développement d'outils informatiques, des préparations de médicaments issus de la pharmacopée médiévale arabe, qui représente l'âge d'or de la médecine antique, et ayant a priori des propriétés bactéricides (1). Nous avons pu sélectionner quelques préparations d'intérêt. Il s'agissait dans un deuxième temps de confirmer expérimentalement ce potentiel. Nous avons ainsi identifié à partir d'une préparation, des molécules anti-bactériennes originales, et montré que ces préparations agissent par synergie d'action, ciblant le pathogène sur différents fronts, et l'infection dans son ensemble (aussi bien le pathogène que le système immunitaire...). Il apparaît que ces médecins antiques maîtrisaient suffisamment la manipulation et la transformation des ingrédients de base (végétal, animal ou minéral) pour leur conférer des propriétés différentes, les combiner de manière structurée pour en sortir des formulations originales en adéquation avec les symptômes traités (2,3), et appréhendait de manière rationnelle leur toxicité.

L'ensemble de nos résultats tendent à montrer que les préparations anciennes ont été développées de manière tout à fait rationnelle, suivant une démarche scientifique prémisses de notre démarche actuelle, et très loin de l'image d'ésotérisme qui leur est souvent attribuée. Et donc que l'étude de ces manuscrits peut s'avérer riche en connaissances nouvelles.

Ce projet a nécessité la mise en place d'un réseau interdisciplinaire de chercheurs, historiens, chimistes, pharmaciens, biologistes, informaticiens et sociologues, qui se penchent ensemble sur l'incorporation des savoirs antiques dans la médecine moderne. Ce réseau ne cherche qu'à s'étendre...

**Mots clés:** Pharmacopée médiévale - Informatique - Antibactérien - Combinaison organométallique - Interdisciplinaire.

## Références :

1. Braud et al (2021). Analyzing ancient pharmacopeiae with FCA (2021). Formal Concept Analysis 16th International Conference, ICFA 2021 hal-03325496.
2. Abdallah et al. (2022) Past mastering of metal transformation enabled physicians to increase their therapeutic potential, as assessed by historical medical texts. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology DOI 10.1016/j.jtemb.2022.126926.
3. Pitchon, et al. (2022) How history can help present research of new antimicrobial strategies - Case of cutaneous infection remedies from the middle age Arabic pharmacopeia, In 'Medicinal plants as Anti-infectives', (2022), Elsevier.

**SP26 - Infections d'origine animale et environnementale****SP26-O.1**

Clinique

**Actualités sur la brucellose**Jean-Philippe Lavigne (jean.philippe.lavigne@chu-nimes.fr)

Service de Microbiologie et Hygiène Hospitalière, CHU Nîmes, Nîmes, France

La brucellose, ou fièvre de Malte, est une zoonose due aux bacilles à Gram négatif du genre *Brucella* affectant préférentiellement les animaux d'élevage. Bien qu'endémique dans de nombreux pays, cette maladie est devenue très rare en France. En effet, depuis 2005, notre pays est officiellement indemne de brucellose bovine, ovine et caprine. En France, les infections humaines sont liées principalement à *Brucella melitensis*. Malgré leur faible incidence, les cas humains de cette maladie restent d'actualité. La contamination a lieu au contact des animaux infectés mais surtout par ingestion de lait ou de produits laitiers non pasteurisés provenant des animaux infectés chez des voyageurs ayant séjourné dans des pays à haute prévalence de cette maladie ou lors de la manipulation des cultures de ce pathogène dans les laboratoires de biologie. Le diagnostic de la brucellose repose sur la culture de la bactérie (notamment à partir d'hémocultures), sur l'utilisation d'outils de biologie moléculaire ou sur la sérologie qui reste toujours utilisée malgré ses faibles performances.

Du fait de cas cliniques toujours présents et une certaine errance diagnostique pouvant entraîner une contamination du personnel de laboratoire, le but de cette conférence sera de présenter les actualités sur la brucellose. Les points discutés concerneront : i) la gestion des prélèvements et le risque de contamination du personnel de laboratoire ; ii) la gestion des expositions accidentelles de ce personnel ; iii) la problématique de la taxonomie ; iv) les actualités sur la sérologie ; et v) la description de nouvelles espèces de *Brucella*.

**Mots clés** : Brucellose - Risque de contamination - Gestion des accidents - Taxonomie - Nouvelles espèces.

## SP26 - Infections d'origine animale et environnementale

SP26-1

Clinique

## Case presentation and management of Lyme disease patients: a retrospective analysis in France during 9 years

Valérie Choumet<sup>1</sup> (vchoumet@pasteur.fr), Emeline Perthame<sup>2</sup>, Elisabeth Ferquel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Environnement et Risques Infectieux, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>2</sup> Hub Bioinformatique et Biostatistique, Institut Pasteur, Paris, France

Lyme borreliosis is the most common vector disease in temperate countries in the northern hemisphere. This disease is distributed in all temperate zones of the Northern hemisphere and is caused by bacteria of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex which comprises 20 different genospecies.

In Europe, several species of the complex: *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, *B. bavariensis*, *B. afzelii* and *B. spielmanii* were found responsible for human Lyme borreliosis.

In France, Lyme borreliosis is transmitted by the tick *Ixodes ricinus* found throughout the country with the exception of the Mediterranean coast and high altitude regions. Lyme borreliosis currently represents a real public health problem and a potentially emerging disease mostly due to anthropogenic changes in the ecosystem.

The Borrelia National Reference Center (CNR) at the Pasteur Institute contributed to the epidemiological surveillance of this zoonosis during 9 years (from 2003 to 2011). This surveillance involves, among other things, an estimation of the number of human cases as well as an analysis of the clinical forms of the disease. In total, for these surveillance activities, the CNR contacted around 700 physicians from 2003 to 2011 each year (specialist or general practitioners and biologists). A questionnaire was established (see supporting data). The information collected was imported or directly entered into the EpiInfo (2003-2006) and then Voozoo (2007-2011) databases that were designed to collect according to the CNR specifications.

3,509 case reporting files were collected. A multiple component analysis was performed. 26 variables active in the analysis, used to construct principal dimensions were selected and 2 variables as supplementary, used for further investigation.

Among the 3509 reporting files et according to the classification of the cases described in the Material and Method section, a great majority were confirmed (60%) while 10% were probable, 13.5% were doubtful, 10.2% were cases of seroprevalence and 6.4% were negative. A thorough analysis of the epidemiological data as well as associated clinical cases was performed and allowed a clear description a good description of the risks of exposure to borreliosis as well as of the great variety of the symptoms observed in infected patients according to their age.

**Mots clés :** Lyme borreliosis - Tick-borne disease - Epidemiology - Clinical presentation.

## SP26 - Infections d'origine animale et environnementale

SP26-2

Clinique

**Clinical and bacterial determinants of *Yersinia pestis* bacteremia**

Pierre Lê-Bury<sup>1</sup> (pierre.le-bury@pasteur.fr), Thibaut Douché<sup>2</sup>, Anne Derbise<sup>1</sup>, Julien Madej<sup>1</sup>, Mariette Matondo<sup>2</sup>, Javier Pizarro-Cerda<sup>1</sup>, Olivier Dussurget<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unité de Recherche *Yersinia*, Institut Pasteur, Université Paris Cité, CNRS UMR6047, Paris, France

<sup>2</sup> Unité de Spectrométrie de Masse pour la Biologie, Plateforme de protéomique, Institut Pasteur, Université Paris Cité, CNRS USR2000, Paris, France

*Yersinia pestis* is the highly virulent etiological agent of plague, a reemergent disease. The three clinical forms of the disease are i) bubonic plague, the most frequent form resulting from the bite of an infected flea, ii) pneumonic plague, an airborne disease transmitted between individuals, and iii) septicemic plague, the most fulminant form. Bacteria reach the bloodstream in all three forms, ultimately leading to death.

We used an integrative and systems biology approach to understand the poorly characterized bacteremic phase of plague. We first gathered microarray, RNA-Seq and mass spectrometry public data to construct an interactive website called Yersiniomics, which integrates more than 300 *in vitro* and *in vivo* multi-omic experiments. This unique website allows access to the most complete *Yersinia* database through an interactive genome browser displaying results of every experiment for each gene on *Yersinia* reference genomes. Visualization of RNA-Seq coverage and differential analysis heatmaps for transcriptomic- and proteomic-data were also implemented.

In parallel, we set up growth conditions of *Y. pestis* in human plasma and whole blood to mimic the bacteremic phase of plague. We then developed a new experimental pipeline to define *Y. pestis* proteome in a biosafety level 3 environment. Notably, we established an original protocol for proteome analysis of bacteria grown in whole blood to enrich data obtained in infected plasma. Overall, we detected more than 2,500 proteins, representing the most complete *Y. pestis* proteome today.

We then selected 38 proteins based on Yersiniomics and differential expression in plasma, and inactivated their corresponding genes. Phenotypic study of the mutants led to identification of several proteins involved in copper homeostasis, as well as a subtilase, a protease and lipoproteins of unknown function, that were required for *Y. pestis* optimal growth in human blood and/or for full virulence in a murine model of septicemia. Subversion of innate immunity by these factors is currently under investigation.

**Mots clés :** Plague - Bacteremia - Proteomics - Neutrophils - Macrophages.

## SP26 - Infections d'origine animale et environnementale

SP26-3

Clinique

**La charge en ADN et en LPS sérique de *Legionella* et le profil cytokinique comme potentiels biomarqueurs pronostics des légionelloses**

Camille Allam<sup>1,2,3</sup> (camille.allam@chu-lyon.fr), Fabien Subtil<sup>4</sup>, Christophe Ginevra<sup>1,2</sup>, Noémie Fessy<sup>5</sup>, Ghislaine Descours<sup>1,2,3</sup>, Laetitia Beraud<sup>1,3</sup>, Benjamin Youenou<sup>6</sup>, Marine Ibranosyan<sup>1,2,3</sup>, Gérard Lina<sup>3,7</sup>, Florence Ader<sup>2,8</sup>, Sophie Jarraud<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> CNR des Légionelles, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> «LegioPath» - CIRI UMR INSERM 1111, Université Lyon 1, Lyon, France

<sup>3</sup> Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>4</sup> Service de Biostatistiques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>5</sup> Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>6</sup> CNR des staphylocoques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>7</sup> Pathogénie des Staphylocoques - CIRI UMR INSERM 1111, Université Lyon 1, Lyon, France

<sup>8</sup> Service des Maladies Infectieuses et Transmissibles, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Introduction :**

La légionellose (Legionnaires' disease, LD) est une pneumonie dont la sévérité est variable, associée à une mortalité estimée entre 10 et 30% selon le statut immunitaire et les comorbidités des patients. Il n'existe actuellement pas de biomarqueurs permettant de prédire l'évolution péjorative de l'infection. Notre objectif est d'évaluer des marqueurs bactériens (quantité d'ADN de *Legionella* dans les prélèvements respiratoires, présence et quantité d'ADN et de LPS dans le sérum) et de réponse de l'hôte en lien avec la sévérité initiale et le mauvais pronostic.

**Matériels et méthodes :**

Les patients LD ont été inclus à partir d'une cohorte prospective multicentrique. L'ADN pulmonaire a été mesuré par qPCR le jour de l'inclusion (J0, n=101) et à J8 pour les patients en USI (n=67). A J0, l'ADN sérique a été mesuré par qPCR (n=109) et digital droplet PCR (ddPCR, (n=107)), le LPS sérique par ELISA (n=108) et 19 cytokines circulantes par la technologie Luminex®. La sévérité a été estimée par un score SOFA  $\geq 5$ . La présence d'un SDRA et la durée d'hospitalisation ont été évaluées.

**Résultats :**

Parmi les 109 patients inclus, 67% étaient admis en USI, 33% avaient un score SOFA  $\geq 5$  et 49% un SDRA. A J0, la quantité d'ADN pulmonaire était plus élevée chez les patients sévère et corrélée à la quantité d'ADN et de LPS dans le sérum. Les patients sévères présentaient un profil avec une surexpression de médiateurs pro-inflammatoires et une diminution de l'IL-7. Les 3 marqueurs bactériens, le TNF- $\alpha$ , l'IL-6, l'IL-8, le MCP-1, et le MIP1- $\beta$  étaient prédictifs d'une mauvaise évolution. A J8, les patients ayant toujours une qPCR pulmonaire positive étaient les plus sévères.

**Conclusion :**

La légionellose sévère est associée à des quantités d'ADN de *Legionella* pulmonaires plus élevées, à une translocation d'ADN et de LPS dans le sérum et à un profil cytokinique particulier. A J0, 5 cytokines pro-inflammatoires, la positivité du LPS et de l'ADN sérique sont de bons biomarqueurs pronostics de la sévérité tardive. Le LPS dans le sérum est un paramètre facilement mesurable qui pourrait permettre d'identifier rapidement les patients qui auront une évolution péjorative.

**Mots clés :** Legionella - Pronostic - Biomarqueur - Lipopolysaccharidee - Réponse Immunitaire.





Société Française  
de Microbiologie

# MICROBES 2022

17<sup>e</sup> Congrès National de la SFM



Au CORUM de MONTPELLIER

3 > 5  
Octobre

## RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS

Mercredi 5 octobre

## SP27 - Secretion systems & effectors in bacterial infections

**SP27-O.1**

### The type III secretion system effector network postulates

Gad Frankel (g.frankel@imperial.ac.uk)

Imperial College London, London, UK

Infections with various extracellular and invasive Gram-negative pathogens rely on injection of type III secretion system (T3SS) effector proteins, which hijack cellular and immunological processes. While clinical isolates of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) inject between 21 and 45 effectors, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium encodes twice as many effectors as *S. Typhi*. Yet, the basis for this natural diversity in the effector composition and its impact on pathogenesis were unknown.

Most studies of effector biology employed a classical reductionist approach of investigating one effector at a time. However, by and large single effector mutants do not exhibit a colonisation phenotype. In this study we tested the hypothesis that rather functioning independently, the T3SS effectors form robust intracellular networks which can sustain significant perturbation, and that expanded effector repertoires play a role in distinct disease phenotypes and host adaptation.

*Citrobacter rodentium* is a natural murine pathogen that shares infection tactics and virulence genes with EPEC. While *C. rodentium* injects 31 T3SS effectors, the prototype EPEC strain E2348/69 translocates only 21 effectors. We tested the 'effector-network' paradigm by infecting mice with >100 *C. rodentium* effector mutant combinations. Deletion of effector genes from two distinctive starting points resulted in two mutants, one missing 19 unrelated effectors and the other missing 10 effectors involved in subversion of innate immuneresponses in intestinal epithelial cells. While both strains colonized the colon, they provoked distinct cytokine and immune cell infiltration responses, which, nonetheless, provided protective immunity against secondary infections.

Using curated functional information and the *in vivo* data to train a machine learning model predicted values for colonization efficiency of novel mutant combinations, which were confirmed *in vivo*. Furthermore, reproducing the E2348/69 effector repertoire in *C. rodentium* was not sufficient for efficient colonization, implicating effector networks in host adaptation.

In summary, our analysis revealed that T3SS effectors form robust networks, which can sustain significant contractions while maintaining virulence. Conversely, the host can bypass the obstacles the effector networks create, by triggering alternative, yet effective, immune responses.

**Mots clés :** Type III secretion system effectors - Gram negative infection - Immune response to infection - *Citrobacter rodentium*, EPEC, EHEC - Networks.

#### Références :

1. Ruano-Gallego, D., Sánchez-Garrido, J., Kozik, Z., Núñez-Berruero, E., Cepeda-Molero, M., Mullineaux-Sanders, C., Clark, J.N.B., Slater, S.L., Wagner, N., Glegola-Madejska, I., Roumeliotis, T.I., Pupko, T., Fernández, L.A., Rodriguez-Paton, A., Choudhary, J.S., and Frankel, G. 2002, *Science* 371: eabc9531.
2. Sánchez-Garrido, J., Ruano-Gallego, D., Choudhary, J.S., and Frankel G. 2002, *Trends Microbiol.* 30: 524-533.
3. Mullineaux-Sanders, C., Sanchez-Garrido, J., Hopkins, E.G.D., Shenoy, A.R., Barry, R., and Frankel, G. 2019. *Nat Microbiol. Rev.* 17: 701-715.
4. Berger, C.N., Crepin, V.F., Roumeliotis, T.I., Wright, J.C., Carson, D., Pevsner-Fischer, M., Furniss, R.C.D., Dougan, G., Bachash, M., Yu, L., Clements, A., Collins, J.W., Elinav, E., Larrouy-Maumus, G.J., Choudhary, J.S., and Frankel, G. 2017, *Cell Metabol.* 26: 738-752.e6.

SP27 - Secretion systems & effectors in bacterial infections 

SP27-1

**Type IV pilus retraction plays a key role in meningococcal pathogenesis by regulating endothelial microparticle release**

Isabel dos Santos Souza Ribeiro Gomes<sup>1</sup> (isabel.gomes@inserm.fr), Samuel Gerner<sup>2</sup>, Jason Ziveri<sup>1</sup>, Jean-Philippe Barnier<sup>3</sup>, Elodie Le Seac'h<sup>1</sup>, Youssouf Diallo<sup>1</sup>, Haniaa Segard<sup>1</sup>, Mathieu Coureuil<sup>3</sup>, Sara Razindrakoto<sup>4</sup>, Amanda Silva<sup>4</sup>, Xavier Nassif<sup>5</sup>, Andrea Bileck<sup>2</sup>, Thomas Rattei<sup>2</sup>, Philippe Morand<sup>1</sup>, Sandrine Bourdoulous<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Cochin, Paris, France

<sup>2</sup> Universität Wien, Vienne, Autriche

<sup>3</sup> INEM, Paris, France

<sup>4</sup> Université de Paris Cité, Paris, France

<sup>5</sup> Institut Pasteur Lille, Lille, France

Type IV pili (Tfp) are long filamentous structures that mediate numerous functions, including adherence to host cells and the triggering of signaling events. As they rapidly retract and elongate, pilus retraction generates remarkably high forces acting as mechanical signals in both bacteria and host cells. To date, how such forces contribute to bacterial pathogenesis has been poorly explored.

For *Neisseria meningitidis*, a bacterium responsible for meningitis and severe forms of sepsis often evolving towards a fatal outcome, pilus-mediated vascular colonization is a pre-requisite for meningeal involvement, formation of purpuric lesions, maintenance of bacteremia and, ultimately, lethality. Here, using both wild type (WT) and a retraction deficient strain ( $\Delta pilT$ ), we analysed the consequences on vascular cells of mechanical retraction induced by Tfp retraction. We observed that, while infection of primary human dermal microvascular endothelial cells by the WT strain induced the destabilization of the endothelial cell junctions, cell detachment and cell death, monolayer integrity was preserved upon infection by  $\Delta pilT$ . A complemented  $\Delta pilT::pilT$  strain restored the WT phenotype. Interestingly, infection by the WT strain was accompanied by plasma membrane blebbing and the release of exosomes. This release was not observed with the  $\Delta pilT$  strain, and was recovered upon infection by  $\Delta pilT::pilT$  strain. Proteomic analysis of the cell supernatants further confirmed the release of endothelial exosomes upon infection by the WT strain that might play key role in meningococcal pathophysiology. Intriguingly, infection by the  $\Delta pilT$  strain was accompanied by the release of two platelet-derived growth factors (PDGFD and PDGFB) known to play role in vessel stabilization. Antibody-neutralisation of PDGF secreted by  $\Delta pilT$ -infected cells was accompanied by the loss of endothelial integrity; conversely addition of recombinant PDGFB to endothelial cells infected by the WT strain reduced endothelial alteration. Using a humanized mouse model, we demonstrated *in vivo* that although both strains induced similar vascular colonization, infection by the WT strain generated much larger and occlusive thrombi as compared to infection by the  $\Delta pilT$  strain. These data demonstrate that mechanical tension promoted by Tfp retraction plays a key role in meningococcal pathogenesis by regulating endothelial microparticle release.

**Mots clés :** Type IV pili - *Neisseria meningitidis* - Meningococcal pathogenesis - Endothelial microparticle.

SP27 - Secretion systems & effectors in bacterial infections 

SP27-2

Insights into the structure and the mechanism of action of two type I toxins expressed by *Staphylococcus aureus*

Laurence Fermon (laurence.fermon@univ-rennes1.fr), Soizic Chevance, Marie-Laure Pinel-Marie, Arnaud Bondon

Université Rennes 1, Rennes, France

**Introduction and Objectives:**

Type I toxin-antitoxin (TA) systems are genetic modules composed of a peptide toxin whose overexpression confers growth stasis or cell death and a RNA antitoxin that base-pairs with the toxin mRNA to inhibit its translation. In this study, we focus on two type I toxins, SprG131 and SprG144 that belong to the *sprG1/SprF1* TA system expressed by the major human pathogen *Staphylococcus aureus*. We have previously shown that the SprG1 peptides are localized in the membrane and secreted to lyse human erythrocytes and bacterial rivals [1]. The objectives of this project are to decipher the structure and the mechanism of action of these toxins.

**Material and Methods:**

Structure of SprG1 peptides was resolved by NMR and confirmed by circular dichroism. To analyze the mechanism of action of SprG1 peptides, we used the N315 *S. aureus* strain overproducing SprG1 peptides with the anhydrotetracyclin (aTc)-inducible pALC plasmid. After aTc induction, the bacterial growth was measured at the optical density of 600 nm and the membrane depolarization and permeabilization were assessed through fluorescence measurements after incubation with DiBAC4(3) or Sytox probes respectively. Intracellular ATP was also quantified. To assess the structure-function link, directed mutagenesis has been conducted. Moreover, electronic microscopy has been performed to assess morphological changes on the bacteria. Finally, analysis of the peptide interaction with model membrane have been performed by calcein leakage and AFM.

**Results, Discussion and Conclusion:**

We demonstrated that SprG1 peptides form an  $\alpha$ -helix with a predicted transmembrane domain. The peptides overexpression leads to a membrane depolarization followed by an intracellular ATP drop and later a membrane permeabilization. This effect is mainly due to the combination of a hydrophobic part and a cationic part localized on the C-terminal of the SprG1 sequence. Moreover, electron microscopy highlights mesosome-like structures when SprG1 is overexpressed, confirming alterations in the cytoplasmic membrane. Finally, as these peptides are excreted in the extracellular medium and are hemolytic, we assessed the ability of peptides to permeabilize model membrane with different chemical properties. We showed for example that they can not only lyse mammalian membrane mimics, but also bacterial membrane mimics.

**Mots clés :** Toxin-antitoxin system - Type I toxins - Structure - Membrane interactions.

**Références :**

1. Pinel-Marie M-L, Brielle R, Felden B. 2014. Dual Toxic-Peptide-Coding *Staphylococcus Aureus* RNA under Antisense Regulation Targets Host Cells and Bacterial Rivals Unequally. *Cell Reports*. 7:424–435.

SP27 - Secretion systems & effectors in bacterial infections 

SP27-3

**Oxygen inhibits colibactin production by *Escherichia coli***Nadège Greif (nadege.greif@inserm.fr)

Institut de Recherche en Santé Digestive, INSERM Toulouse, Toulouse, France

Commensal and extra-intestinal pathogenic strains of *E. coli* frequently harbor the *pks* genomic island encoding the synthesis of colibactin, a genotoxic metabolite. Colibactin is a virulence factor promoting invasive disease. It is also produced in the intestinal lumen where it plays a role in intermicrobial interactions, inflicts mutagenic DNA damage to the host epithelium, and promotes colon tumorigenesis. The gut and infected tissue are low oxygen environments, but it is not known whether oxygen modulates production of the genotoxin. Here, we report on the serendipitous observation that oxygenation of the bacterial culture strongly modulates the autotoxicity of a *E. coli* *pks clbS* mutant deficient for colibactin self-protection system. We further found that DNA damaging activity by *pks+* *E. coli* decreased with increasing oxygen concentration in the medium. Similarly, the level of the N-myristoyl-D-Asn metabolite that is released during the final step of colibactin synthesis decreased with increasing oxygen concentration. The activity of the promoter of a gene for the colibactin synthase ClbB, as well as its transcription, were maximal under anoxic conditions, but decreased with increased oxygen concentration. Thus, colibactin synthesis is inhibited by oxygen, suggesting that the *pks* biosynthetic pathway is adapted to the anoxic intestinal lumen and to the hypoxic infected or tumor tissue.

**SP27 - Secretion systems & effectors in bacterial infections** 

SP27-4

Pathogénie

Microbiologie fondamentale

**The endoflagellum in *Leptospira*: an intricate design for efficient motility**

 Lenka Füle<sup>1</sup> (lenka.fule@pasteur.fr), Marc Duong<sup>1,2</sup>, Samuel Garcia Huete<sup>1</sup>, Magalie Duchateau<sup>1</sup>, Julia Chamot-Rooke<sup>1</sup>, Megan Brady<sup>3</sup>, Charles Sindelar<sup>3</sup>, Mathieu Picardeau<sup>1</sup>
<sup>1</sup> Institut Pasteur, Paris, France

<sup>2</sup> Université de Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

<sup>3</sup> Yale University, New Haven, États-Unis

**Introduction and Objectives:**

Spirochetes are peculiar diderm bacteria: the cells are long, thin, and spiral-shaped, but most importantly they possess intraperiplasmic flagella that extend throughout the cell cylinder, enabling them to reach high velocities in viscous media – and by extension, successfully disseminate in the host. The endoflagellum of Spirochetes is also structurally more complex than external flagella, featuring a notably larger basal body, the endoflagellar filament is composed of multiple flagellin subunits.

Since flagella-driven motility is identified as a key virulence factor, we aim to investigate the importance of each endoflagellar component in our model bacterium, *Leptospira*, which is the causative agent of leptospirosis. In this study, we are focusing on the filament core in *Leptospira* spp. which is composed by four flagellin-like protein isoforms, FlaB1-4, that despite bearing a high percentage identity, do not seem redundant. Moreover, the sheath of the *Leptospira* filament is asymmetric, suggesting that the core proteins participate in specific recruitment of sheath components.

**Materials and Methods:**

To unravel the role of each FlaB isoform, we aim to obtain deletion mutants for all *flaB* genes. Combining methods such as velocity measurements, infection models, mass spectrometry and cryo-electron tomography, we evaluate the impact of *flaB* deletions on the motility phenotype, virulence, expression of remaining *flaB* genes, and structure of the flagellar filament.

**Results, Discussion and Conclusion:**

For the *flaB* mutants we succeeded to obtain so far, we observed that the inactivation of one FlaB leads to the deregulation of the expression of the other isoforms on mRNA and protein levels, indicating the existence of a regulatory mechanism directly dependent on the expression levels of individual *flaB* genes. Moreover, *flaB1* mutants in *L. interrogans* (pathogen) and *L. biflexa* (saprophyte) do not possess the same phenotype. This finding suggests that there may be crucial differences between pathogenic and saprophytic strains regarding the role of each FlaB isoform in the composition of the endoflagellar filament.

*Mots clés* : Motility - Flagellum - *Leptospira* - Structure - Filament.

**ANNULÉ**

## SP28-A - Virus d'insectes (en association avec la SFV)

SP28-O.1

Virologie

**Les densovirus, de petits virus entomopathogènes, agents potentiels de biocontrôle des insectes ravageurs et vecteurs de maladies**

Anne-Sophie Gosselin-Grenet (anne-sophie.gosselin-grenet@umontpellier.fr)

UMR 1333 Diversité, Génomes &amp; Interactions Microorganismes-Insectes (INRAE/UM), Université de Montpellier, Montpellier, France

La gestion des populations d'insectes est un défi de taille pour la santé, mais également pour l'agriculture, celle-ci devant répondre à une demande mondiale croissante en nourriture tout en limitant son impact écologique. Les virus pathogènes d'insectes représentent une alternative aux insecticides chimiques pour contrôler les populations d'insectes vecteurs de maladies ou ravageurs des cultures. Cette piste a cependant été relativement peu explorée et nos connaissances sur la diversité des virus d'insectes, la pathogénèse virale et les mécanismes de spécificité d'hôtes et d'évolution de ces virus restent à ce jour limitées.

Parmi les virus entomopathogènes, les densovirus (DV) représentent des candidats prometteurs. Ils remplissent, en effet, les critères requis pour un agent de biocontrôle efficace, notamment leur infectiosité par voie orale et leur spécificité vis-à-vis de leurs hôtes insectes. Ces petits virus, appartenant à la famille des Parvoviridae, sont constitués d'une capsidie icosaédrique d'une vingtaine de nanomètres seulement, renfermant un génome ADN linéaire et simple brin de 4 à 6 kb. Ils ont notamment été décrits, avec une pathogénicité variable, dans les principaux groupes d'insectes d'importance agronomique, médicale et vétérinaire : lépidoptères (chenille/papillon), hémiptères (pucerons) et diptères (moustiques). La principale voie d'infection décrite pour les densovirus est alimentaire, voie par laquelle les virus se trouvent confrontés initialement à la barrière intestinale, indispensable à franchir pour initier l'invasion de l'hôte. La transmission verticale a également été décrite, pour les densovirus de moustiques. Cette exposé présentera une revue des connaissances actuelles sur les densovirus infectant les insectes et se focalisera sur des travaux récents illustrant certains aspects fondamentaux à étudier dans l'objectif d'une utilisation de ces virus pour le biocontrôle des insectes dits « nuisibles », à savoir leur prévalence, diversité, spécificité, pathogénèse et modes de transmission chez un lépidoptère ravageur de cultures et chez les moustiques vecteurs *Culex pipiens* et *Aedes albopictus*.

**Mots clés :** Densovirus - Insectes - Biocontrôle - Pathogénèse - Barrière intestinale.

## Références :

1. Gosselin Grenet AS, Salasc F, Francois S, Mutuel D, Dupressoir T, Multeau C, Perrin A et Ogliastro M. 2015. Les densovirus : une « massive attaque » chez les arthropodes. *Virologie*; 19(1): 19-31.
2. Wang Y, Gosselin Grenet AS, Castelli I, Cermenati G, Ravallec M, Fiandra L, Debaisieux S, Multeau C, Lautredou N, Dupressoir T, Li Y, Casartelli M, Ogliastro M. 2013. Densovirus crosses the insect midgut by transcytosis and disturbs the epithelial barrier function. *Journal of Virology*; 87 (22):12380-91.
3. Pigeyre L, Schatz M, Ravallec M, Gasmi L, Nègre N, Clouet C, Seveno M, El Koulali K, Decourcelle M, Guerardel Y, Cot D, Dupressoir T, Ogliastro M and Gosselin-Grenet AS. 2019. Interaction of a Densovirus with Glycans of the Peritrophic Matrix Mediates Oral Infection of the Lepidopteran Pest *Spodoptera frugiperda*. *Viruses*; Sep 17;11(9).
4. Perrin A, Gosselin-Grenet AS, Rossignol M, Ginibre C, Scheid B, Lagneau C, Chandre F, Baldet T, Ogliastro M, Bouyer J. 2020. Variation in the susceptibility of urban *Aedes* mosquitoes infected with a densovirus. *Scientific Reports*; Oct 29;10(1):18654.
5. Altinli M, Soms J, Ravallec M, Justy F, Bonneau M, Weill M, Gosselin-Grenet AS and Sicard M. 2018. Sharing cells with *Wolbachia*: the transovarian vertical transmission of *Culex pipiens* densovirus. *Environmental Microbiology*; Dec 25.

## SP28-A - Virus d'insectes (en association avec la SFV)

SP28-O.2

Virologie

## Virus associés à des insectes ravageurs de cultures : diversité et écologie des communautés

Sarah François<sup>1</sup> (sarah.francois@zoo.ox.ac.uk), Aymeric Antoine-Lorquin<sup>2</sup>, Doriane Mutuel<sup>2</sup>, Philippe Roumagnac<sup>3</sup>, Denis Filloux<sup>3</sup>, Emmanuel Fernandez<sup>3</sup>, Mylène Ogliastro<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of zoology, University of Oxford, Oxford, United Kingdom

<sup>2</sup> UMR DGIMI, INRAE-Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> UMR PHIM, CIRAD-INRAE-Université de Montpellier-IRD, Montpellier, France

## Introduction et objectifs :

Les approches Omiques ont révélé une extraordinaire diversité de virus chez tout type d'hôtes et d'écosystèmes (1). Appliquée aux écosystèmes agricoles, encore largement inexplorés (2,3), la métagénomique virale permettra une analyse exhaustive de la diversité des virus et leur circulation entre les insectes et les plantes, dans le but d'optimiser la gestion de ces écosystèmes et d'identifier des virus entomopathogènes potentiellement utilisables en lutte biologique.

L'objectif de cette étude est de caractériser la diversité, la composition et la dynamique spatio-temporelle de la structuration des communautés virales associées à trois insectes ravageurs de cultures : l'armigère de la tomate (*Helicoverpa armigera*), la mineuse de la tomate (*Tuta absoluta*) et la punaise verte (*Nezara viridula*).

## Matériels et méthodes :

Une collecte de 934 échantillons d'insectes (777 échantillons) et de leurs plantes-hôtes (157 échantillons) a été menée entre 2014 et 2019 en France, en Italie et en Espagne. Leurs communautés virales ont été obtenues via l'utilisation d'un protocole de métagénomique virale basé sur l'enrichissement des acides nucléiques viraux encapsidés à partir de broyats par filtration, ultracentrifugation et traitement DNase et RNase. Les acides nucléiques (ADN et ARN) ont ensuite été extraits, et après synthèse de l'ADNc et de l'ADNdb, l'ADN a été amplifié par PCR aléatoire. Les produits PCR ont été purifiés puis séquencés par les technologies MiSeq et HiSeq (4). Les 1,3 milliard des reads obtenus ont été nettoyés, assemblés et attribués taxonomiquement (cf pipeline (5)). Des analyses statistiques ont enfin été réalisées afin d'évaluer les impacts relatifs de facteurs abiotiques (saisonnalité, distance géographique, habitat) et biotiques (co-infections) sur la structuration des communautés virales associées aux ravageurs de cultures, aux échelles populationnelles et individuelles.

## Résultats, discussion et conclusion :

Le microbiote viral des insectes ravageurs et de leurs plantes contient une grande diversité de virus infectant insectes, plantes, champignons ou bactéries. Nous avons reconstitué les séquences codantes complètes de virus appartenant à 56 familles, incluant 184 espèces de virus déjà connues et 56 nouvelles espèces de virus. L'évaluation du rôle de facteurs biotiques et abiotiques sur la structuration du microbiote viral sera le thème central de cette présentation.

**Mots clés :** Virologie - Métagénomique - Insectes ravageurs de cultures - Microbiologie fondamentale - Microbiote.

## Références :

1. Shi M, Lin X, Tian J, Chen L, Chen X, Li C, et al. Redefining the invertebrate RNA virosphere. *Nature*. 2016;540:539–43.
2. Bernardo P, Charles-Dominique T, Barakat M, Ortet P, Fernandez E, Filloux D, et al. Geometagenomics illuminates the impact of agriculture on the distribution and prevalence of plant viruses at the ecosystem scale. *ISME J*. 2018;12(1):173–84.
3. Junglen S, Drosten C. Virus discovery and recent insights into virus diversity in arthropods. *Curr Opin Microbiol*. 2013;16(4):507–13.
4. François S, Filloux D, Fernandez E, Ogliastro M, Roumagnac P. Viral metagenomics approaches for high-resolution screening of multiplexed arthropod and plant viral communities. *Methods Mol Biol*. 2018;1746(1746):77–95.
5. François S, Antoine-Lorquin A, Kulikowski M, Frayssinet M, Filloux D, Fernandez E, et al. Characterisation of the Viral Community Associated with the Alfalfa Weevil (*Hypera postica*) and Its Host Plant, Alfalfa (*Medicago sativa*). *Viruses*. 2021;13(5):791.



**SP28-B - Viral pathogenesis** **SP28-1**

Virologie

**Human NLRP1 is a sensor of pathogenic coronavirus 3CL proteases in lung epithelial cells**Miriam Pinilla (m.pinilla@invivogen.com), Remi Planès*IPBS-CNRS, Toulouse, France*

Inflammation observed in SARS-CoV-2-infected patients suggests that inflammasomes, proinflammatory intracellular complexes, regulate various steps of infection. Lung epithelial cells express inflammasome-forming sensors and constitute the primary entry door of SARS-CoV-2. Here, we describe that the NLRP1 inflammasome detects SARS-CoV-2 infection in human lung epithelial cells. Specifically, human NLRP1 is cleaved at the Q333 site by multiple coronavirus 3CL proteases, which triggers inflammasome assembly and cell death and limits the production of infectious viral particles. Analysis of NLRP1-associated pathways unveils that 3CL proteases also inactivate the pyroptosis executioner Gasdermin D (GSDMD). Subsequently, caspase-3 and GSDME promote alternative cell pyroptosis. Finally, analysis of pyroptosis markers in plasma from COVID-19 patients with characterized severe pneumonia due to autoantibodies against, or inborn errors of, type I interferons (IFNs) highlights GSDME/caspase-3 as potential markers of disease severity. Overall, our findings identify NLRP1 as a sensor of SARS-CoV-2 infection in lung epithelia.

*Mots clés* : Sars-Cov-2 - NLRP1 inflammasome - Lung epithelial cells.

SP28-B - Viral pathogenesis 

SP28-2

Virologie

**A case of convergent evolution: Several viral and bacterial pathogens hijack RSK kinases through a common linear motif**

Nicolas Capelli<sup>1,2,3</sup> (nicolas.capelli@chu-montpellier.fr), Frédéric Sorgeloos<sup>1</sup>, Michael Peeters<sup>1</sup>, Messe Stephane<sup>1</sup>, Fabian Borghese<sup>1</sup>, Teresa Cesaro<sup>1</sup>, Thomas Michiels<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Virology Unit (VIRO), DeDuve Institute, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

<sup>2</sup> Virology, CHU Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> Pathogenesis and Control of Chronic and Emerging Infections, University of Montpellier, INSERM, Etablissement Français du Sang, Antilles Université, Montpellier, France

**Introduction and Objectives:**

The 90 kDa ribosomal s6 kinases (RSKs) are a group of serine/threonine kinases consisting of 4 RSK isoforms (RSK1-4). RSKs regulate important cellular functions such as cell proliferation, survival and motility. Three unrelated pathogens, including viruses and bacteria, evolved in a convergent fashion to hijack RSK. Proteins encoded by these pathogens use the very same mechanism to redirect these RSK kinases to non-canonical substrates, thereby evading the innate immune response or increasing their replication ability. Kinase usurpation relies on a previously unidentified short DDVF linear motif shared by these virulence factors. The range of pathogens that's hijack RSK kinase remains unknown. Our goal is to find new viral pathogens that interact with RSK kinase via this short RSK interacting motif.

**Materials and Methods:**

By *in silico* analysis, we screened human and veterinary viruses for the presence of conserved [DE]-[DE]-V-F linear motifs. A series of genes coding for identified candidate viral proteins, were PCR-amplified and cloned with a N-terminal Flag epitope in eukaryotic expression vectors, using the gateway technology. Interaction with RSK kinase were tested in 293T cells by co-immunoprecipitation and validated by directed mutagenesis.

**Results, Discussion and Conclusion:**

We identified a clear interaction was detected between the ORF11 tegument protein of Varicella-zoster virus and RSKs leading to its sustained phosphorylation. This worked will allowed us a better understanding of mechanisms leading to VZV replication and will contribute to decipher the VZV pathogen-host interactions. This work also provides a prominent illustration of convergent evolution across microbial pathogens to usurp key signaling kinases.

*Mots clés* : Host-pathogen interaction - Convergent evolution - Herpesviruses - Short linear motif.

SP28-B - Viral pathogenesis 

SP28-3

Virologie

## Deciphering HIV post-nuclear entry steps

Francesca Di Nunzio<sup>1</sup> (dinunzio@pasteur.fr), Viviana Scoca<sup>1</sup>, Renaud Morin<sup>2</sup>, Jean-Yves Tinevez<sup>3</sup><sup>1</sup> *Advanced Molecular Virology, Institut Pasteur, Paris, France*<sup>2</sup> *Imactiv-3D, Toulouse, France*<sup>3</sup> *Image Analysis Hub, Institut Pasteur, Paris, France*

New notions on the reverse transcription (RT) process of HIV, one of the major steps of the viral life cycle, have been deciphered only recently. Those discoveries revealed new spatiotemporal aspects of RT, uncoating (loss of the viral capsid) and the topology of HIV pre-integration, maturation and integration. Uncoating and RT processes were previously considered exclusive cytoplasmic steps. Thanks to the development of cutting edge technologies, only recently it has been possible to directly observe that the nuclear import can precede the completion of RT and uncoating. Of note, HIV prompts the redistribution of the cleavage and polyadenylation specificity factor 6 (CPSF6) in the nucleus from randomly distributed to cluster formation. We have also observed that all CPSF6 clusters contain viral components and nuclear speckle components.

Thus, we investigated the biophysical properties of HIV-induced CPSF6 clusters. It is known that viruses hijack host functions and most of them have adapted to usurp a newly revealed biological phenomenon called liquid-liquid phase separation (LLPS). LLPS is used by cells to concentrate enzymes and accelerate and confine a wide variety of cellular processes. LLPS droplets form through the process of nucleation and growth, until large enough to overcome surface tension. They can maintain a critical radius to be stable and continue to grow. We find that CPSF6 clusters increase twice their volume along the time post-infection (24h p.i. vs. 72h p.i.) and that they are spherical, typical shape of liquid droplets. Of note, biomolecular condensates follow the characteristics of liquids, thus, they usually contain highly dynamic molecules that exchange both within the condensate and with the surrounding environment. To evaluate whether virus-induced CPSF6 clusters present the aforementioned features we evaluated their fluorescence recovery after photobleaching (FRAP). We show that CPSF6 clusters match LLPS properties in the cells, being dynamic and evolving along infection. Furthermore, the recovery of CPSF6 fluorescent after photobleaching indicates the importance of CPSF6 equilibrium maintenance in these structures.

Overall, our results indicate that CPSF6 proteins undergo LLPS carrying multiple viral complexes, creating favorable hubs for the viral nuclear reverse transcription and for integration of actively transcribing proviruses in the neighboring chromatin.

*Mots clés* : HIV-1 - Nuclear remodeling - Condensates - Viral post-nuclear entry - Viral-host interactions.

## Références :

1. Scoca et al., *BioRxiv* 2021.
2. Rensen et al., *EMBO J.* 2021.
3. Blanco-Rodriguez et al., *JVI* 2020.

SP28-B - Viral pathogenesis 

SP28-4

Virologie

**Impact de l'épissage de l'ARNm bicistronique E6E7 sur l'initiation de la traduction de l'oncoprotéine E7 des HPV oncogènes type 16 et 18**

Philippe Paget-Bailly (philippe.paget-bailly@ird.fr), Roxane Bories, Ignacio Bravo

*MIVEGEC, Virostyle, CNRS, IRD, Montpellier, France*

Les Papillomavirus humains (HPV) oncogènes induisent de nombreux cancers dans la sphère ORL et ano-génitale. Les génotypes 16 et 18 sont responsables de 90% de ces cancers. Au niveau moléculaire, la carcinogenèse fait intervenir les oncoprotéines virales E6 et E7. Les HPV oncogènes produisent dans les cellules infectées un ARNm bicistronique contenant les deux ORF en tandem, E6 puis E7. Or, la machinerie traductionnelle cellulaire n'est pas adaptée à cette configuration. Il est proposé que l'épissage dans l'ORF E6, puisse favoriser la traduction de E7 en aval. Notre objectif a donc été de déterminer lequel de ces ARNm, épissés ou non, est utilisé pour produire l'oncoprotéine E7.

Pour ce faire, nous avons exprimé dans la lignée U2OS soit l'ensemble des ARNm épissés ou non, soit uniquement l'ARNm non épissé E6E7, soit uniquement l'ARNm épissé appelé E6\*E7 des génotypes 16 et 18. La séquence de l'eGFP a été fusionnée en C-ter de E7 dans les constructions plasmidiques utilisées afin de servir de marqueur de l'efficacité de traduction de E7. La production des différents ARNm et protéines HPV a enfin été étudiée par RT-qPCR et transcriptomique, et par western-blotting, cytométrie en flux et protéomique, respectivement.

Premièrement, l'eGFP est exprimée dans toutes nos conditions indiquant que les transcrits épissés ou non sont capables de traduire E7 à un certain niveau. Deuxièmement, la quantification des taux de transcrits ectopiques indique une plus forte expression des transcrits d'HPV18 que d'HPV16 dans nos trois conditions, et pour les deux génotypes, une plus faible expression dans la condition non-épissée par rapport aux deux autres, indiquant en premier lieu des disparités dans l'efficacité de transcription des différentes séquences HPV. Néanmoins, les niveaux d'expression de l'eGFP mesurés par western blotting et les sommes d'intensité de fluorescence mesurées par cytométrie en flux normalisées par les taux de transcrits montrent de manière significative que les transcrits épissés 16 et 18 sont deux fois plus efficaces pour traduire E7 que les transcrits non-épissés. Ces résultats, en cours de validation en transcriptomique et protéomique, indiquent que chez les HPV oncogènes 16 et 18 l'épissage sert effectivement à réguler positivement l'expression de l'oncoprotéine E7.

**Mots clés :** HPV - Épissage alternatif - Traduction - Oncogènes viraux.

**SP29 - La désinfection en 2022** (en association avec la SF2H)**SP29-O.1****Le rationnel pour une évaluation rapide d'efficacité virucide en contexte d'émergence/ré-émergence de maladies virales**

Christine Roques ([christine.roques@univ-tlse3.fr](mailto:christine.roques@univ-tlse3.fr))

*LGC - UMR 5503 - UFR Pharmacie, Toulouse, France*

Résumé non parvenu.

## SP29 - La désinfection en 2022 (en association avec la SF2H)

SP29-O.2

**Optimisation des procédures de désinfection pour réduire le gaspillage alimentaire lié au développement de moisissures**

Aurélie Hanin<sup>1</sup> (a.hanin@actalia.eu), Malvina Lefevre<sup>1</sup>, Vincent Visconti<sup>2</sup>, Philippe Dantigny<sup>2</sup>, Benjamin Duque<sup>1</sup>, Sawsen Dehaine-Zouaghi<sup>1</sup>, Bernard Picoche<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sécurité des Aliments, ACTALIA, Saint-Lô, France

<sup>2</sup> LUBEM, Université de Bretagne Occidentale, Plouzané, France

Du fait de leur capacité à survivre et à se développer sur diverses matrices, les moisissures sont largement impliquées dans l'altération des aliments et le gaspillage alimentaire. Les denrées sont fréquemment contaminées via l'ambiance des environnements de production dans lesquels les spores fongiques disséminent facilement. Les produits biocides sont donc des outils essentiels pour limiter les risques de contamination. Leur efficacité est évaluée selon des protocoles normatifs mais peu d'études ont permis d'évaluer les procédures de désinfection dans des conditions proches de la réalité d'utilisation industrielle.

La récolte à sec des spores fongiques après culture des moisissures en condition de stress hydrique modéré augmente la résistance intrinsèque aux désinfectants et permettrait l'obtention de conidies dont l'état physiologique se rapprocherait de celui des spores présentes dans les ateliers de transformation. Des spores «sèches» d'*Aspergillus flavus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Mucor circinelloides* et *Penicillium commune* ont donc été produites puis adhérentes sur des supports en acier inoxydable. Ces spores ont ensuite été soumises, dans une halle technologique pilote, à des traitements avec 4 formulations désinfectantes commerciales à base de chlore, de peroxyde d'hydrogène, de triamine ou d'acide glycolique. Différents modes d'application ont été utilisés : fumigation, nébulisation et canon à mousse. L'inactivation des spores a été mesurée en fonction de la température, de l'humidité relative, de la concentration en biocide ou encore du temps de contact afin d'identifier les facteurs des plus impactants et les modalités de traitement les plus efficaces.

Les résultats obtenus sont très variables en fonction des protocoles de désinfection appliqués, les niveaux d'abattement allant de 1,6 à plus de 7 log. La fumigation conduit à l'obtention des taux d'inactivation les plus élevés. L'espèce cible, le temps de contact, la concentration du biocide mais également la température ambiante et la quantité d'air utilisée pour générer la mousse peuvent affecter l'efficacité de la désinfection mais les facteurs les plus influents varient selon les substances actives testées et les espèces fongiques à éliminer.

Cette étude va permettre aux opérateurs des filières agroalimentaires d'optimiser leurs procédures de nettoyage et désinfection afin de limiter la fréquence de contamination de leurs produits par des spores fongiques.

**Mots clés :** Désinfection - Moisissures - Physiologie - Procédé - Optimisation.

**SP29 - La désinfection en 2022** (en association avec la SF2H)**SP29-1****The potential of cold atmospheric plasma technology in the reduction of horizontal genes transfer (HGT)**

Ibtissam Courti (ibtissam.courti@univ-jfc.fr), Florent Saint, Philippe Guillot, Cristina Muja

DPHE, INU J.-F. Champollion, Albi, France

**Introduction and Objectives:**

Bacterial resistance to antibiotics has become a major public health problem in recent years. The occurrence of antibiotics in the environment, especially in wastewater treatment plants, has contributed to the development of antibiotic-resistant bacteria (ARB) and the spread of antibiotic resistance genes (ARGs). In the last decade, it has been showed that cold atmospheric plasma (CAP) has the potential to inactivate microorganisms and more recently some studies demonstrated that the exposure of ARGs to plasma can induce their degradation. In this study we investigated the potential of CAP treatment for the reduction of horizontal gene transfer (HGT) of ARGs.

**Material and Methods:**

Two antibiotic resistant strains - *E. coli* HT-99 (chloramphenicol resistant) and *E. coli* J53-R (rifampicin resistant) were used as model donor bacteria and recipient bacteria respectively. Both strains were exposed to plasma generated by a CAP set-up using an pulsed voltage of 6kV and a mixture of helium-oxygen gas. We assessed the effect of plasma treatment on bacterial viability, cellular respiration, and cell membrane permeability. As plasma discharge generates important amounts of oxygen and nitrogen reactive species (RONS) the effect of plasma on the production of enzymes involved in oxidative stress response was evaluated by qPCR and enzyme quantification. At the same time the impact of plasma exposure on HGT was assessed by mixing treated HT-99 with untreated J53-R (ratio 1:1) and assessment of conjugation efficacy. Finally, the effect of plasma treatment on the genes involved in the conjugation process was evaluated by qPCR.

**Results and Discussions:**

The viability results showed a reduction of 7 and 4,5 log<sub>10</sub>, for HT-99 and J53-R respectively, after 30 min plasma treatment. These results were confirmed by the cellular respiration and cell membrane permeability results. At the same time the exposure to low doses of plasma increases the production of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) and favors the entrance of bacteria in viable but not culturable state (VBNC). Moreover, the exposure of donor strain reduced the conjugation efficacy. These findings confirm the potential of application of plasma in the reduction of HGT by conjugation.

**Mots clés :** Cold atmospheric plasma - *E. coli* - Horizontal gene transfer.

## SP29 - La désinfection en 2022 (en association avec la SF2H)

SP29-2

## Validation of the biocidal capacity to destroy antibiotic resistant plasmids by qPCR

Suzanne Loret (suzanne.loret@unamur.be)

SerP, Université de Namur (UNamur), Namur, Belgique

In a previous study, we showed that plasmid sequences of Enterobacteriaceae were found in strains of non-Enterobacteriaceae bacteria isolated from laboratory wastewater (communication by poster at the SFM 2019 congress), suggesting that the plasmid DNA of cultures of *E. coli* used in the laboratory are not destroyed by common decontamination methods and can be transferred to other bacterial strains present in wastewater. This in turn could contribute to the horizontal transfer of their antibiotic resistance gene to natural species. In the present study, we compared the ability of biocides frequently used in laboratories to destroy plasmids (DNA-BE).

Quantitative PCR was used to assess the DNA-BE of treatments of *E. coli* cultures by several physical and chemical decontamination methods on genes coding for (1) antibiotic resistance and (2) the origin of replication frequently found in laboratory plasmids (pBR322). The tested chemicals included bleach, acidic solutions and a commercial decontaminant containing two quaternary ammonium compounds (QACs): alkyl dimethyl benzyl ammonium chlorides (BACs) and didecyl dimethyl ammonium chloride (DDAC), in addition to aldehydes and organic acids.

All the chemicals tested showed a strong biocidal effect demonstrated by the inhibition of the growth of cultures of laboratory *E. coli*. Using Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR), we determined the "D-value" corresponding to the biocide dose or treatment time needed for a 90% decrease of the plasmid DNA by several methods of decontamination. The best D-values were obtained with sulfuric acid (0.7 M) and the commercial QAC-based disinfectant (3.2% v:v). Regarding physical sterilization methods, the D-value is better for steam (25 min at 121°C) than for UVC (49 min). A 20-minute treatment of liquid laboratory waste (LLW) with 1–10% sodium chlorine was ineffective in complete destroying of plasmid gene markers.

The fight against the rise of antibiotic resistance in the environment must go through the DNA-BE validation of any method of disinfection.

Present data call for increased awareness about appropriate use of disinfectants in research laboratories, especially in BSL 1-2 labs where the low risk for health could lead to underappreciation of the high risk of accidental release of undestroyed antibioresistant plasmids into wastewater.

**Mots clés :** Biosafety - Decontamination - Disinfection - Antibiotic resistant plasmids.

## Références :

1. Zaman, S. B.; Hussain, M. A.; Nye, R.; Mehta, V.; Mamun, K. T.; Hossain, N., A Review on Antibiotic Resistance: Alarm Bells are Ringing. *Cureus* 2017, 9, (6), e1403.
2. Karkman, A.; Do, T. T.; Walsh, F.; Virta, M. P. J., Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water. *Trends Microbiol* 2018, 26, (3), 220-228.
3. Ares-Arroyo, M.; Bernabe-Balas, C.; Santos-Lopez, A.; Baquero, M. R.; Prasad, K. N.; Cid, D.; Martin-Espada, C.; San Millan, A.; Gonzalez-Zorn, B., PCR-Based Analysis of ColE1 Plasmids in Clinical Isolates and Metagenomic Samples Reveals Their Importance as Gene Capture Platforms. *Front Microbiol* 2018, 9, 469.
4. Uluseker, C.; Kaster, K. M.; Thorsen, K.; Basiry, D.; Shobana, S.; Jain, M.; Kumar, G.; Kommedal, R.; Pala-Ozkok, I., A Review on Occurrence and Spread of Antibiotic Resistance in Wastewaters and in Wastewater Treatment Plants: Mechanisms and Perspectives. *Frontiers in Microbiology* 2021, 12, (3003), 717809.
5. Vijayakumar, R.; Sandle, T., A review on biocide reduced susceptibility due to plasmid-borne antiseptic-resistant genes-special notes on pharmaceutical environmental isolates. *J Appl Microbiol* 2019, 126, (4), 1011-1022.



**SP30 - Interfacer des microbes et des circuits électriques : nouvelles technologies électromicrobiennes****SP30-O.1****Investigation macro et micro échelle de la dynamique structurale et catalytique des biofilms microbiens électroactifs**Benjamin Erable (benjamin.erable@ensiacet.fr)*CNRS INP Toulouse Laboratoire de Génie Chimique, Toulouse, France*

The knowledge on the microbial electrocatalysis that takes place on the electrodes of microbial biofuel cells has greatly progressed, both on the mechanistic and kinetic aspects of catalysis, and on the parameters influencing the formation of electroactive biofilms on the electrode surface. Model analysis systems made up of flat electrodes, pure bacterial strains and synthetic electrolytic media are now well managed and allow the reproducible production of bioelectrocatalytic interfaces capable of sustaining current densities of over 100 A/m<sup>2</sup> of electrode. The major challenge today is to recycle all the capital of knowledge gathered on model bioelectrocatalytic interfaces to develop «multi-species» bioelectrocatalytic interfaces that are much more robust and less restrictive for industrial applications. Multi-species biofilms are indeed capable of oxidizing a wider spectrum of fuels, and are also resilient to harsh changes in environmental conditions (physical or chemical stress). However, a comprehensive description of all the processes and their interconnections that drive the establishment, colonisation and evolution of «multi-species» electroactive biofilms on the electrode surface is clearly lacking. This description is however a very complex problem because of the multi-scale and multi-physical nature of Electrode-Biofilm-Electrolyte systems, but above all because biofilm is a living system. In particular, the description of the multiple connections between hydrodynamics, transfer phenomena, bacterial mobility, biofilm growth and electronic exchanges is a major scientific barrier.

Our original approach is then to combine microfluidic technologies, electroanalysis, microscopy and microbial ecology to investigate directly in vivo the complexity of local phenomena (mobility, pH gradient, interaction between populations, heterogeneity of biofilm,...) and their dependence within multi-species electroactive biofilms. Our target is to understand how this complexity evolves over time and to identify the factors responsible for its evolution. This approach allows real-time and non-invasive access to various phenomena that have not yet been explored at the microscopic scale. On the basis of these data of understanding, we try to drive these phenomena directly on the scale of the biofilm, in order to «control» the electroactive biofilm, thanks to macroscopic parameters such as the management of the electrode potential, the hydrodynamics or the chemical composition of the electrolytes.

*Mots clés* : Biofilms - Electroactivity - Microsystems - Real time microscopy - Image processing.

**SP30 - Interfacer des microbes et des circuits électriques : nouvelles technologies électromicrobiennes****SP30-1****Halothermophilic microbial consortium selected for the bioelectrochemical treatment of saline textile effluents containing recalcitrant azo dyes**Sirine Saadaoui<sup>1, 2, 3</sup> (sirine.saadaoui@toulouse-inp.fr), Habib Chouchane<sup>3</sup>, Ameer Cherif<sup>3</sup>, Benjamin Erable<sup>1</sup><sup>1</sup> Laboratoire de génie chimique de Toulouse, Université de Toulouse, CNRS, INPT, UPS, Toulouse, France<sup>2</sup> Faculté des sciences de Tunis, Université de Tunis El Manar, Tunis, Tunisie<sup>3</sup> BVBGR-LR11ES31, Univ. Manouba, ISBST, Ariana, Tunisie**Introduction:**

Saline wastewater accounts for approximately 5% of the wastewater generated worldwide. Its release into the environment can lead to contamination of surface and groundwater. For example, in the textile industry, the tanning process generates wastewater containing up to 80 gL<sup>-1</sup> of NaCl coupled with high concentrations of azo dyes. Aerobic biological treatment is the most adopted technique for industrial wastewater treatment. However, the presence of high salinity can have a negative effect on the efficiency of the process, as salt can inhibit the activity of bacterial species, resulting in osmotic pressure that can cause cell death. Physical-chemical methods such as adsorption and flocculation are not widely adopted, mainly due to their high cost, secondary pollution and high energy consumption.

**Materials and Methods:**

The originality of this study is to combine biological and electrochemical methods in a 3-electrode bioelectrochemical system (BES) for the energy production and the treatment of saline textile wastewater loaded with azo dyes. This system has the particularity of involving halothermophilic electrobiocatalyst bacteria from Tunisian extreme environments able to tolerate high salinities. Several parameters affecting the performance of the BES have also been studied: the presence of the cosubstrate, the electrode material, the source of microorganisms. The obtained bioanodes and anolytes were studied comparatively by electrochemical, microscopic, analytical and molecular tools.

**Results and Conclusion:**

Based on the UV-visible spectra analysis, the breakdown of the azo bond was confirmed, the BES achieved 100% decolorization efficiency with a current density of 6 A/m<sup>2</sup>. SEM images showed the presence of a dense biofilm of bacterial cells formed on the anode and covering almost its entire surface. Microbial community analysis indicated that a diverse community of bacteria was active for effluent treatment coupled with energy production. At the phylum level, the electrodes were colonized by proteobacteria and firmicutes, which are the two phyla most involved in bioremediation. The analysis of the microbial community also showed the abundance of *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* and *Marinobacter* sp species characterized by their tolerance to extremophilic conditions and role in hydrocarbon degradation.

These results provide a suitable alternative to achieve bioelectrochemical degradation and energy recovery.

**Mots clés :** Bioelectrochemical system - Halothermophilic bacteria - Saline waste water - Recalcitrant azo dyes - Current generation.

**SP30 - Interfacer des microbes et des circuits électriques : nouvelles technologies électromicrobiennes****SP30-2****Impact de la stratégie d'inoculation microbienne sur les performances long-terme de traitement d'eaux résiduaires urbaines par des systèmes bioélectrochimiques**

Valentin Larzillière<sup>1,2</sup> (valentin.larzilliere@suez.com), Florence De Fouchécour<sup>2</sup>, Chrystelle Bureau<sup>2</sup>, Théodore Bouchez<sup>2</sup>, Roman Moscoviz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> BRS, SUEZ, Le Vesinet, France

<sup>2</sup> PROSE, INRAE, Antony, France

**Introduction :**

La stratégie d'inoculation microbienne des systèmes bioélectrochimiques influence-t-elle sur les performances de traitement sur le long terme? Lors des dernières années, le choix de l'inoculum pour les systèmes bioélectrochimiques a été étudié. Cependant, la plupart des expérimentations ont été menées avec des effluents synthétiques pendant une courte durée (de Fouchécour *et al.*, 2022). Dans cette étude, nous revisitons la question de l'impact du choix d'inoculation du biofilm électroactif sur le traitement d'eaux usées réelles et évaluons les conséquences sur ses performances long terme.

**Matériels et méthodes :**

Trois stratégies d'inoculation (boues anaérobies, réutilisation d'un biofilm électroactif ou aucun inoculum) ont été testées pour le traitement d'eaux usées collectées en sortie de bassin de décantation primaire. Dans un premier temps, la formation du biofilm anodique a été conduite lors de six batch successifs, suivis de huit mois de traitement en continu. Ces expérimentations ont été réalisées dans des pilotes bioélectrochimiques en H en triplicat, et avaient pour but la caractérisation de l'abattement de la demande chimique en oxygène (DCO) ainsi que la récupération du NH<sub>4</sub><sup>+</sup> par électrodialyse. L'évolution de la composition des communautés microbiennes formant des biofilms a été analysée au cours du temps par séquençage des gènes codant l'ARNr 16S.

**Résultats et conclusion :**

Pour traiter des eaux usées par des systèmes bioélectrochimiques, le choix d'inoculum induit seulement des effets à court terme. Après trois batch consécutifs, les performances électrochimiques et de traitement se sont homogénéisées quelle que soit la stratégie d'inoculation. Seul le biofilm issu de la stratégie sans inoculum avait une composition microbienne différente (abondance relative de l'ordre *Geobacterales* plus faible). Bien que les performances d'abattement de la DCO n'étaient pas significativement différentes, les densités de courant étaient significativement plus faibles. Nos résultats montrent que malgré la faible proportion de microorganismes électroactifs dans les eaux usées, le processus de sélection par la croissance sur l'électrode est suffisant pour permettre la mise en place rapide d'une activité électromicrobienne. Pour une application à grande échelle de traitement d'eaux usées à l'aide d'un système bioélectrochimique, l'utilisation d'eaux usées à la fois comme substrat et inoculum constitue donc le choix le plus opérationnel.

**Mots clés :** Systèmes bioélectrochimiques - Traitement des eaux usées - Stratégie d'inoculation - Long terme - Homogénéisation.

**Références :**

1. de Fouchécour, F., Larzillière, V., Bouchez, T., Moscoviz, R., 2022. Systematic and quantitative analysis of two decades of anodic wastewater treatment in bioelectrochemical reactors. (2022) *Water Research* 214, 118142. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118142>

**SP30 - Interfacer des microbes et des circuits électriques : nouvelles technologies électromicrobiennes****SP30-3****Performances de biofilms électromicrobiens pour l'abatement de la matière organique des eaux résiduaires en conditions hydrodynamiques contrôlées**Florent Bouchon<sup>1</sup> (florent.bouchon@inrae.fr), Ahlem Filali<sup>1</sup>, Théodore Bouchez<sup>1</sup>, Alain Bergel<sup>2</sup>, Yannick Fayolle<sup>1</sup><sup>1</sup> PROSE, INRAE, Antony, France<sup>2</sup> LGC, CNRS, Toulouse, France**Introduction et objectifs :**

Dans les stations de traitement et de valorisation des eaux résiduaires, un coût important est consacré à l'aération des bassins, notamment pour le traitement biologique de la matière organique. La technologie du tuba électromicrobien pourrait permettre de minimiser ce coût énergétique en mettant en œuvre des biofilms électroactifs formés sur un support conducteur servant d'anode (puits d'électrons).

Pour appréhender le comportement des anodes microbiennes et définir des scénarii de gestion et de maintien de leur activité sur le long terme, il reste à étudier l'impact des écoulements sur le développement de la diversité microbienne, les propriétés structurales et l'activité de ces biofilms.

**Matériels et méthodes :**

Un réacteur innovant de type Taylor-Couette électrochimique a été conçu dans ce but. Il comporte un cylindre interne en rotation abritant 20 anodes en graphite et une cathode en acier inoxydable constituant le cylindre extérieur et permet d'assurer le suivi des paramètres physico chimiques en continu.

Les anodes microbiennes sont caractérisées électrochimiquement. La diversité microbienne est en cours de caractérisation par séquençage de ribotags d'ADNr 16S. L'organisation spatiale des biofilms sera documentée par hybridation de sondes FISH ciblant spécifiquement l'ARNr 16S des populations électroactives et les fonctions exprimées par séquençage des ADNc en métatranscriptomique shotgun.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Une caractérisation abiotique préliminaire a été faite pour mesurer l'influence de l'hydrodynamique sur l'électrochimie du système. Une transition entre un régime pseudo-laminaire et pseudo-turbulent a été identifiée pour une vitesse de rotation de 8,5 RPM. L'évolution de l'épaisseur de la couche de diffusion a été caractérisée en fonction des contraintes de cisaillement afin de quantifier l'impact du biofilm sur les réactions électrochimiques.

En régime pseudo-laminaire, l'évolution des performances des bio-anodes est parfaitement reproductible. Une densité de courant maximale de 3,75 A/m<sup>2</sup>, mesurée après 10 jours de développement de biofilm correspond à une consommation de 16,8 gDCO/m<sup>2</sup>/j. Les performances de chaque anode ont été maintenues pendant plus de 6 mois en étudiant l'influence de différentes conditions hydrodynamiques (100 mPa à 5 Pa).

Cette étude permettra d'élaborer des stratégies de contrôle de l'activité du biofilm lié au traitement des eaux résiduaires urbaines à l'échelle pilote.

*Mots clés :* Biofilms électroactifs - Réacteur de Taylor-Couette bioélectrochimique - Cisaillement.

## SP30 - Interfacer des microbes et des circuits électriques : nouvelles technologies électromicrobiennes

SP30-4

## Improvement of microbial electrosynthesis by pure homoacetogens using a low redox potential mediator

María Fernanda Pérez Bernal<sup>1</sup> (maria-fernanda.perez-bernal@inrae.fr), Elie Desmond Le-Quémener<sup>1</sup>, Paul V. Bernhardt<sup>2</sup>, Eric Trably<sup>1</sup>, Nicolas Bernet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LBE, Univ. de Montpellier, INRAe, Narbonne, France

<sup>2</sup> School of Chemistry and Molecular Biosciences, University of Queensland, Brisbane, Australia

**Introduction and Objectives:**

Microbial electrosynthesis (MES) is a process that can be used for the conversion of CO<sub>2</sub> into industrially relevant organic products<sup>1</sup>. This conversion is catalyzed by microorganisms that uptake electrons from a cathode. The Rnf complex possessed by some acetogens allows them to couple oxidation of ferredoxin to the production of NADH and the creation of proton motive force allowing at the same ATP synthesis by the ATPase<sup>2</sup>. They can thus use electrons at a relatively high potential (-500 mV vs. SHE) to fix CO<sub>2</sub> and grow autotrophically through the Wood-Ljungdahl pathway. The aim of this study was to evaluate the potential of a redox mediator [Co-(trans-diammac)<sup>3+</sup>, E<sup>0</sup> < -550mV vs. SHE] to improve MES from CO<sub>2</sub>.

**Material and Methods:**

*Clostridium ljungdahlii* DSM13528<sup>T</sup>, and *Clostridium autoethanogenum* DSM10061<sup>T</sup>, both known to use the Rnf complex were individually tested. The strains were inoculated in the cathodic compartment of a two chambers reactor containing a buffered mineral medium (pH 6). The compartments were separated with a cation exchange membrane. CO<sub>2</sub> was used as substrate and was constantly bubbled and recirculated. A three electrode set-up was used to control the cathode potential using a VMP3 potentiostat. Reactors were operated under three different conditions: 1) Working electrode (WE) poised at -756 mV vs. SHE, potential at which electrochemical H<sub>2</sub> production occurs; 2) WE poised at -603 mV vs. SHE (no H<sub>2</sub> production); and WE poised at -603 mV vs. SHE with [Co-(trans-diammac)<sup>3+</sup>] = 1 mM.

**Results, Discussion and Conclusions:**

The microbial CO<sub>2</sub> reduction was clearly improved by the addition of the redox mediator. The maximum acetate titer and production rate (15 g/l, at 0.39 g/L/d) were achieved with *C. ljungdahlii* with mediator, while no acetate production was observed without mediator. For *C. autoethanogenum*, acetate was produced (≈7 g/l at 0.17 g/L/d) at -756 mV without mediator, however titer and production rate were higher (11 g/l at 0.37 g/L/d) in presence of the mediator. The results showed that the use of Co-(trans-diammac)<sup>3+</sup> as a redox mediator allows to obtain high acetate production rates and titers thus demonstrating its efficiency as electron carrier for MES.

**Mots clés :** Electro-synthesis - homoacetogens - microbial CO<sub>2</sub> reduction - Rnf complex - redox mediator.

**Références :**

1. PrévotEAU A, Carvajal-Arroyo JM, Ganigué R, Rabaey K. Microbial electrosynthesis from CO<sub>2</sub>: forever a promise? *Curr Opin Biotechnol.* 2020;62:48-57.
2. Tremblay PL, Zhang T, Dar SA, Leang C, Lovley DR. The Rnf complex of *Clostridium ljungdahlii* is a proton-translocating ferredoxin: NAD<sup>+</sup> oxidoreductase essential for autotrophic growth. *MBio.* 2013;4(1):1-8.

**SP31 - Alternatives aux antimicrobiens conventionnels****SP31-O.1**

Antimicrobiens

**Compréhension des phénomènes évolutifs phages/bactéries et phagothérapie 2.0**Camille Kolenda (camille.kolenda@chu-lyon.fr)*Bactériologie, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France*

Les bactériophages sont des virus naturels et spécifiques des bactéries. Les déterminants des interactions entre phages et bactéries sont nombreux et associés aux différentes étapes de cycle de réplication viral et responsables de la spécificité d'action importante des phages. Des phénomènes de coévolution se produisent continuellement dans l'environnement entre phages et bactéries avec un équilibre entre apparition de résistances bactériennes et adaptation réciproque des phages à ces résistances.

La phagothérapie consistant en l'utilisation de bactériophages pour traiter les infections bactériennes est une stratégie thérapeutique suscitant beaucoup d'espoir dans le contexte d'émergence mondiale de l'antibiorésistance. Un des enjeux du succès du développement de la phagothérapie est la bonne compréhension de ces mécanismes de coévolution entre phages et bactéries. En effet, elle permettra d'orienter la sélection des phages les plus actifs, avec des spectres d'action complémentaires pour couvrir le maximum de souches bactériennes et prévenir l'émergence de résistances bactériennes. Avec la connaissance des phénomènes d'interaction entre phages et bactéries, l'optimisation de l'efficacité des bactériophages pour s'adapter à des bactéries résistantes est aussi possible par des protocoles expérimentaux d'évolution dirigée (ou "*phage training*") ou des modifications génétiques des phages (ou "*phage engineering*").

*Mots clés* : Bactériophages - Phagothérapie - Co-évolution - Résistance.

## SP31 - Alternatives aux antimicrobiens conventionnels

SP31-1

Antimicrobiens

**La guerre bactérienne à longue distance : lyse par voie aérienne de *Legionella pneumophila* par *Pseudomonas fluorescens***

Julien Verdon<sup>1</sup> (julien.verdon@univ-poitiers.fr), Marie-Hélène Corre<sup>1</sup>, Anne Mercier<sup>1</sup>, Mathilde Bouteiller<sup>2</sup>, Christophe Ginevra<sup>3</sup>, Charly Dupont<sup>2</sup>, Sophie Jarraud<sup>3</sup>, David Giron<sup>4</sup>, Annabelle Merieau<sup>2</sup>, Jean-Marc Berjeaud<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Ecologie & Biologie des Interactions (EBI) UMR 7267, Université de Poitiers, Poitiers, France*

<sup>2</sup> *CBSA - Communication Bactérienne et Stratégies Anti-infectieuses - UR 4312, Université de Rouen, Evreux, France*

<sup>3</sup> *CIRI, Inserm, U1111, CNRS, UMR 5308, Centre National de Référence des Légionelles, Lyon, France*

<sup>4</sup> *Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI), UMR 7261, Université de Tours, Tours, France*

**Introduction et objectifs :**

Les composés organiques volatils microbiens sont des molécules dont les activités attirent de plus en plus l'attention des chercheurs. Ils peuvent agir comme des composés clés dans la communication intra et/ou inter-règne à longue distance mais aussi comme des antimicrobiens dans la compétition et la prédation. La plupart des études menées à ce jour se sont néanmoins concentrées sur leurs activités antifongiques et seules quelques unes ont rapporté leurs propriétés antibactériennes.

**Matériels et méthodes :**

Dans cette étude, un test d'inhibition de croissance à longue distance a été mis en place puis la comparaison du volatilome de plusieurs souches a été réalisée à l'aide d'une stratégie de microextraction en phase solide couplée (SPME) à la GC-MS. Plusieurs mutants de *Pseudomonas* ont été construits afin de décrypter les voies de régulation de la production du 1-undécène. Une approche de cryoélectromicroscopie à balayage a également été utilisée pour étudier le mode d'action du 1-undécène.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nous décrivons dans cette étude [1] une inhibition inattendue de la croissance de *L. pneumophila* lorsqu'elle est exposée à une souche physiquement séparée de *P. fluorescens*. La comparaison des volatilomes a révélé que l'émission de 1-undécène était fortement réduite chez un mutant de transposition incapable d'inhiber à distance la croissance de *L. pneumophila*. Nous avons montré que le 1-undécène était responsable de l'inhibition à distance *in vitro*, et entraînait la lyse des bactéries à faible concentration. C'est la première fois qu'une telle activité est décrite. Collectivement, nos résultats fournissent de nouvelles informations sur le mode d'action de composés volatils bactériens et orientent la recherche sur de nouvelles stratégies de lutte contre les pathogènes. En parallèle, nous avons initié l'analyse du volatilome d'isolats cliniques de *Legionella* sp. (70 réparties en différentes espèces et sérogroupes) dans le but d'identifier un volatilome « type » chez *Legionella* sp, ainsi que de molécules spécifiques aux différentes espèces et sérogroupes d'intérêt clinique. Ces signatures volatilomiques pourraient alors rendre envisageable la mise en place d'une méthode de diagnostic basée sur la détection de bioindicateurs pouvant discriminer la présence d'une espèce ou d'un séro groupe directement dans l'haleine de patients.

**Mots clés :** Composés organiques volatils - Activité antibactérienne - Volatilome - Biomarqueurs - SPME-GC/MS.

**Références :**

1. Corre MH, Mercier A, Bouteiller M, Khalil A, Ginevra C, Depayras S, et al. 2021. Bacterial Long-Range Warfare: Aerial Killing of *Legionella pneumophila* by *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiol Spectr.* 9:e0040421. doi: 10.1128/Spectrum.00404-21.

## SP31 - Alternatives aux antimicrobiens conventionnels

SP31-2

Antimicrobiens

**PHAGEinLYON - PHAG-ONE : Isolement et caractérisation de phages actifs contre des souches d'*E. coli* du ST131 productrices de carbapénèmases et/ou de BLSE**

Floriane Laumay<sup>1</sup> (floriane.laumay@chu-lyon.fr), Eline Terrazoni<sup>1</sup>, Leslie Blazere<sup>1</sup>, Emilie Helluin<sup>1</sup>, Mélanie Bonhomme<sup>1</sup>, Patricia Simoes-Martins<sup>1</sup>, Mathieu Medina<sup>1</sup>, Camille Kolenda<sup>1</sup>, Tristan Ferry<sup>1,2</sup>, Laurent Dortet<sup>3</sup>, Frédéric Laurent<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>3</sup> Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre, France

**Introduction et objectifs :**

L'antibiorésistance est une problématique de santé publique majeure. La diffusion mondiale des souches d'*Escherichia coli* appartenant au séquence type (ST) 131 est particulièrement préoccupante, puisqu'une très large proportion d'*E. coli* producteurs de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et de plus en plus d'*E. coli* producteurs de carbapénèmases (CP) appartiennent à ce ST. La phagothérapie est une des alternatives possibles. L'utilisation d'assemblages de bactériophages pourrait permettre de contrôler l'émergence de bactéries résistantes aux phages, mais cela implique de sélectionner des phages suffisamment différents et complémentaires, et de caractériser leur activité sur un panel de souches relevant.

Dans ce contexte, nous avons cherché à isoler de l'environnement des phages anti-*E. coli* ST131 et à évaluer leur activité sur un panel de 92 souches cliniques représentatives de ce ST, productrices de CP et/ou BLSE.

**Matériels et méthodes :**

Les phages ont été pré-amplifiés à partir d'eaux usées et de bactéries sensibles aux phages, puis isolés en double couche à partir de souches appartenant à différents sous-clades du ST131. Leur spectre d'activité a été déterminé par plaque assay et leur génome séquencé par technique Illumina. L'activité des phages a été comparée en fonction du type de sous-clade, du type de CP/BLSE et du genre des phages.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Neuf des 12 phages isolés étaient actifs sur moins du tiers des souches du panel ; néanmoins, un phage était actif sur 68% des souches (n=63) et 2 phages étaient actifs chacun sur 86% (n=80). Les phages du genre *Tequatrovirus* présentaient le spectre le plus large. L'appartenance à un sous-clade et les CP/BLSE détectées chez les bactéries n'influençaient pas l'activité des phages. De façon intéressante, la combinaison de l'activité de 2 phages appartenant à 2 genres différents (*Tequatrovirus* et *Vectrevirus*) permettait de couvrir près de 92% des souches. Enfin, 6 souches étaient insensibles aux phages isolés.

Nous rapportons ici l'isolement et la caractérisation de phages strictement lytiques actifs contre une large sélection d'*E. coli* ST131 cliniques multi-résistants. Des approches de type GWAS et la recherche de systèmes de défense anti-phages sont en cours pour identifier les déterminants génétiques de l'activité des phages.

**Mots clés :** Phagothérapie - Bactériophages - *Escherichia coli* ST131 - Carbapénèmases - BLSE.



**SP31 - Alternatives aux antimicrobiens conventionnels****SP31-3**

Antimicrobiens

**La matière noire microbienne pour lutter contre l'antibiorésistance**Sophie Kypraios<sup>1</sup> (sophie.kypraios@deinove.com), Georges Gaudriault<sup>2</sup><sup>1</sup> *Bio Banking, DEINOVE, Grabels, France*<sup>2</sup> *Directeur Scientifique, DEINOVE, Grabels, France*

L'antibiorésistance est le plus grand risque sanitaire du 21ème siècle et pourrait être responsable d'environ 10 millions de morts d'ici 2050 d'après Jim O'Neill [1]. La découverte de nouveaux antibiotiques dirigés contre ces superbactéries est donc un enjeu majeur et fait l'objet de nombreux efforts depuis des dizaines d'années. La plupart des antibiotiques sont des composés naturels produits par des micro-organismes environnementaux. A l'heure actuelle nous estimons que 99.9% de la biodiversité disponible demeure encore inaccessible aux techniques de manipulation dites «classiques». DEINOVE est une société de biotechnologie française pionnière dans l'exploitation de cette matière noire microbienne inexploré. Nous disposons de technologies permettant de cribler le potentiel métabolique des bactéries présentes dans différents type d'environnements (sols contaminés, sources d'eaux chaudes, effluents...) en petit volume (quelques picolitres). Les souches sélectionnées sont ensuite produites en gros volume (jusqu'à 20L) pour identifier de nouveaux produits naturels actifs contre les bactéries multi-résistantes. Cette approche a permis la création d'un soucier unique de plus de 10 milles souches et le développement de plusieurs programmes. D'ailleurs une molécule est actuellement évaluée en essai clinique pour le traitement des infections intestinales à Clostridium difficile un pathogène qui met en péril le pronostic vital des malades.

*Mots clés* : Antibiorésistance - Biotechnologie - Matière noire microbienne.

## Références :

1. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report And Recommendations The Review On Antimicrobial Resistance Chaired By Jim O'Neill. Welcome Trust and the UK Department of Health.May 2016.

## SP31 - Alternatives aux antimicrobiens conventionnels

SP31-4

Antimicrobiens

**Potentiel des microcines, bactériocines des entérobactéries, en tant qu'alternatives aux antibiotiques**

Séverine Zirah<sup>1</sup> (severine.zirah@mnhn.fr), Soufiane Telhig<sup>1,2</sup>, Sabine Naimi<sup>2</sup>, Laila Ben Said<sup>2</sup>, Sylvie Rebuffat<sup>1</sup>, Ismail Fliss<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unité MCAM UMR 7245 CNRS-MNHN, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, France

<sup>2</sup> Département Sciences des aliments, Université Laval, Québec, Canada

**Introduction et objectifs :**

Les microcines sont des bactériocines de spectre étroit produites par les entérobactéries, montrant une diversité de structures et de mécanismes d'action remarquables [1]. Afin d'examiner leur potentiel en tant qu'alternative aux antibiotiques face à l'émergence et la dissémination de multirésistance, nous avons évalué l'activité antibactérienne sur des souches multirésistantes aux antibiotiques de 4 microcines : la microcine J25 (MccJ25), peptide lasso inhibiteur de l'ARN polymérase ; la microcine C (McC), peptide nucléotide inhibiteur de l'aspartyl ARNt synthétase ; la microcine E492 (MccE492), peptide sidérophore ciblant la mannose perméase et la microcine B17 (MccB17), peptide à cycles thiazole et oxazole inhibiteur de l'ADN gyrase. Enfin, nous avons évalué *in vitro* et *in vivo* la stabilité et l'impact sur le microbiote colique de MccJ25.

**Matériels et méthodes :**

Les CMI et CMB ont été mesurées sur 54 entérobactéries de trois espèces, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* et *Klebsiella pneumoniae*. La stabilité de MccJ25 et son effet sur le microbiote colique ont été examinés *in vitro* (simulateur dynamique du tractus intestinal TIM-1, système de fermentation colique PolyfermS) et *in vivo* sur modèle porcin. La composition du microbiote a été déterminée par metabarcoding 16S. Les prélèvements collectés *in vitro* et *in vivo* ont été extraits et analysés par LC-MS, analyse multivariée et construction de réseaux moléculaires.

**Résultats, discussion et conclusion :**

McC a présenté le plus large spectre d'inhibition tandis que MccJ25 a montré la plus forte activité [2]. MccJ25 a révélé une bonne stabilité en conditions gastriques mais une dégradation en conditions duodénales avec plusieurs hydrolyses dans la boucle, réduisant son activité. La comparaison de l'effet sur le microbiote colique de MccJ25 avec celui de la rifampicine, qui cible également l'ARN polymérase, a montré un impact important de la rifampicine sur le métabolome, avec l'accumulation d'acides aminés, tandis que le métabolome en présence de MccJ25 revient rapidement proche de son état initial. MccJ25 a montré un effet modéré sur la composition du microbiote et le métabolome colique *in vitro* et *in vivo*. L'ensemble de ces résultats révèlent un fort potentiel des microcines en tant qu'alternatives aux antibiotiques.

**Mots clés :** Peptides antimicrobiens - Bactériocines - Microbiote - Métabolomique - Activité antibactérienne.

**Références :**

1. Telhig S, Ben Said L, Zirah S, Fliss I, Rebuffat S, 2020, Front Microbiol 11, 2807.
2. Telhig S, Ben Said L, Torres C, Rebuffat S, Zirah S, Fliss I, 2022, Microbiol Spectr, e0275221.

**SP32 - Les mycobactéries non-tuberculeuses : pathogénèse et prévention****SP32-O.1**

Clinique

***Mycobacterium abscessus* : pathogénèse et traitements dans le modèle zebrafish**Laurent Kremer (laurent.kremer@irim.cnrs.fr)

Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, CNRS UMR9004, Montpellier, France

*Mycobacterium abscessus* est un pathogène émergent et opportuniste pouvant causer des infections pulmonaires sévères, notamment chez les patients atteints de mucoviscidose. Les infections à *M. abscessus* sont associées au développement de lésions granulomateuses. Malheureusement, les possibilités de lutte contre cette bactérie restent très limitées du fait de son extrême résistance aux antibiotiques. Par ailleurs, peu d'éléments sont connus concernant les mécanismes de virulence développés par ce pathogène. Nous exploitons le modèle embryonnaire de zebrafish pour décrire et comparer la pathogénèse des variants lisses (S) et rugueux (R) de *M. abscessus*, à la fois dans des larves sauvages et déficientes en CFTR. L'utilisation de ce modèle animal a permis de mettre en avant la virulence accrue du variant R par rapport au variant S. L'infection par le variant R se caractérise notamment par la formation de structures extracellulaires en cordes, qui représentent un mécanisme d'échappement au système immunitaire inné. L'infection des embryons dépourvus de CFTR a permis de caractériser les relations entre infections/inflammation et mucoviscidose, permettant de mieux appréhender la vulnérabilité particulière des patients atteints de mucoviscidose face aux infections à *M. abscessus*. Par ailleurs, le modèle zebrafish a été utilisé pour évaluer l'efficacité thérapeutique *in vivo* de plusieurs agents antimycobactériens. Nos travaux récents ont également permis de valider ce modèle pour tester l'activité d'un phage thérapeutique vis-à-vis d'une infection causée par une souche de *M. abscessus* multi-résistante aux antibiotiques. En résumé, ce nouveau modèle animal est mis à profit pour décrypter certains traits immunopathologiques spécifiques des infections à *M. abscessus* et d'orienter de futures thérapies innovantes pour contrer ces infections.

**Mots clés :** Mycobacterium - Zebrafish - Virulence - Antibiothérapie - Phagothérapie.

**SP32 - Les mycobactéries non-tuberculeuses : pathogénèse et prévention****SP32-1**

Clinique

**Disruption of membrane microdomains increases resistance to *Mycobacterium marinum* infection**

Angélique Perret (angelique.perret@unige.ch), Cristina Bosmani, Thierry Soldati

Biochemistry, University of Geneva, Geneva, Switzerland

**Introduction:**

The social amoeba *Dictyostelium discoideum* and mammalian immune phagocytes share a high conservation of cell-autonomous defence pathways and are hosts of various intracellular bacterial pathogens. *Mycobacterium marinum* is the etiological agent of fish tuberculosis, a disease that shares crucial hallmarks with human tuberculosis. Both pathogens have remarkably similar infectious cycles mainly due to conserved virulence factors such as secretion systems and cell wall components.

Flotillins are organizers of small and dynamic membrane microdomains enriched in sterols and sphingolipids. They are important for the internalisation and intracellular survival of many pathogens. Nevertheless, underlying mechanisms remain unclear. The *D. discoideum* vacuolins are flotillin homologues. Our work aims at investigating the role of membrane microdomains, associated proteins and lipids, during *M. marinum* infection of the hosts *D. discoideum* and the mammalian BV-2 microglial cells.

**Materials and Methods:**

To decipher the role of membrane microdomain components during infection, we use stable *D. discoideum* vacuolin knock-out cell lines, BV-2 flotillin knock-down cells, as well as sterol-depleted cells. We monitor the ability of *M. marinum* to grow intracellularly in these hosts using luciferase- or mcherry-expressing *M. marinum* and monitoring of the respective signals with a plate reader or via high-content microscopy. We investigated the localisation and accumulation of vacuolins/flotillins and sterols at the *M. marinum*-containing vacuole (MCV) by live and immunofluorescence microscopy, using various reporter cell lines and markers.

**Results and Discussion:**

We demonstrated that vacuolins and sterols localize at the MCV throughout the infection. Surprisingly, both components appear to be essential for a successful infection. Indeed, vacuolins knock-out cells and sterol depleted cells were more resistant to infection. In addition, depleting sterols from vacuolin knock-out cells had an additive effect and completely abrogated intracellular *M. marinum* growth. These results indicate that microdomain components likely act in an inter-dependent manner. This hypothesis is strengthened by results showing a decrease of vacuolin accumulation at the MCV in conditions of sterol depletion. Preliminary results in BV-2 microglial cells suggest that mammalian flotillins are also manipulated during *M. marinum* infection, making membrane composition a core player for a successful infection in evolutionary distant phagocytes.

*Mots clés* : Host-pathogen interaction - Mycobacteria - Microdomains - Sterols.

**SP32 - Les mycobactéries non-tuberculeuses : pathogénèse et prévention****SP32-2****Clinique****Mycobacterium genavense in France : An observational multicentric study over the last decade**Cécile Le Brun<sup>1</sup> (c.lebrun@chu-tours.fr), Olivia Peuchant<sup>2</sup>, Pascale Bémer<sup>3</sup>, Philippe Lanotte<sup>1</sup>, Aurélie Guillouzouic<sup>3</sup><sup>1</sup> Bactériologie, CHU de Tours - Hôpital Bretonneau, Tours, France<sup>2</sup> Bactériologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France<sup>3</sup> Bactériologie, CHU de Nantes, Nantes, France

*Mycobacterium genavense*, a nontuberculous mycobacterium, led to devastating infections in immunocompromised patients. We conducted the current study to characterize clinical and epidemiologic features of infections with *M. genavense* this last decade in the age of immunotherapies.

We conducted a retrospective cohort survey in France. Patients with *M. genavense* infection diagnosed from 2009 to 2020 in three university hospitals were identified and their clinical, laboratory, and microbiologic data were analyzed. Fourteen cases of *M. genavense* were identified. Seven patients had AIDS, 1 had solid organ transplantation, 3 have hematologic pathology or cancer and 2 had sarcoidosis. Fifty percent (n = 7) were male, mean age was 55 years. Seven patients had disseminated infection with fever and deterioration of the general condition. Digestive symptoms like diarrhea, abdominal pain are found in half of the patients. Disease most commonly involved the gastrointestinal tract, spleen, liver, lung or bone marrow. *M. genavense* was found from the lymph node (n = 5), intestinal biopsy (n = 2), blood (n = 5), lung sample (n = 5), stool (n = 2), bone marrow (n = 2, hepatic biopsy (n=1), pleural fluid (n=1) and bone biopsy (n=1). MGIT culture in liquid medium is positive in 50% of cases. Diagnosis was challenging with PCR required for identification in all cases. Antimycobacterial treatment was started for all patients except 1 who died rapidly. It always includes at least three molecules with mainly clarithromycin, ethambutol, rifampicin and moxifloxacin.

Four patients (29%) died, 6 (43%) were considered cured with no residual symptoms, 1 had chronic symptoms and 3 were lost to follow-up.

The epidemiology seems to have changed little in recent years. The prognosis for this infection remains very poor and there has been no progress in treatment. Clinical presentations in HIV and non-HIV immunocompromised patients were similar.

**Mots clés :** Mycobacterium genavense - Immunocompromised - Infection - Treatment.

**SP32 - Les mycobactéries non-tuberculeuses : pathogénèse et prévention**

SP32-3

Clinique

**Épidémie de bactériémies à *Mycobacterium mucogenicum* : Recherche d'un potentiel réservoir dans le réseau d'eau d'un Centre Hospitalo-Universitaire**

Jérôme Ory (jerome.ory@chu-nimes.fr), Elise Roig, Flore Compan, Catherine Remy, Alix Pantel

Service de microbiologie et hygiène hospitalière, CHU Nîmes, Nîmes, France

**Introduction :**

*Mycobacterium mucogenicum* est une Mycobactérie Non Tuberculeuse (MNT) rarement impliquée en pathologie humaine. En 2018 et 2021, cinq cas de bactériémies sur Voie Veineuse Centrale à *M. mucogenicum* ont été recensés au CHU de Nîmes. Une première investigation a identifié l'eau du réseau comme réservoir de ces MNT.

L'objectif de cette étude était de réaliser une cartographie complète du réservoir de MNT à travers une campagne environnementale à grande échelle.

**Matériels et méthodes :**

Le réseau d'eau est alimenté par 3 entrées d'eau : 3 bars, 8 bars et 12 bars. Le réseau 3 bars et 8 bars se déversent dans les bassins alimentant les services d'hématologie, pneumologie et gastroentérologie (bâtiment principal) où les patients infectés ont été hospitalisés. Du 24 avril au 3 juin 2022, 42 points ont été prélevés. Après 1 min d'écoulement, 250 ml d'eau ont été prélevés dans un flacon contenant du thiosulfate de sodium. 25 et 100 ml ont été filtrés sur membrane de 0,22 µm. Les filtres ont été déposés sur gélose Middlebrook 7H10. Après une incubation de 7 jours à 35 +/- 2°C, les colonies macroscopiquement caractéristiques des MNT ont été isolées sur Brucella blood Agar. Après 2 à 5 jours d'incubation, les colonies isolées ont été identifiées par spectrométrie de masse (VITEK® MS, bioMérieux) avec ou sans traitement par VITEK MS MYCOBACTERIUM/NOCARDIA KIT.

**Résultats :**

57,2% (n=24/42) des échantillons prélevés étaient positifs à *M. mucogenicum*, 21,4 % (n=9) à *M. chelonae*, 19% (n=8) à *M. fortuitum*. 4 échantillons étaient ininterprétables (flore associée trop importante). *M. mucogenicum* est retrouvée au niveau du compteur 3 bars (150 UFC/L), à la sortie des bassins (40 UFC/L) et dans plusieurs services du bâtiment principal (40 à > 15 000 UFC/L).

**Conclusions :**

Cette étude souligne l'importance de l'investigation environnementale du réseau de distribution d'eau, lors de cas groupés de bactériémies à MNT. La potentielle source est l'entrée du réseau 3 bars alimentant une zone de l'hôpital où les patients ont séjourné. Des investigations supplémentaires (prélèvements, séquençage et comparaison des souches) sont en cours pour confirmer cette hypothèse et élaborer un plan d'action.

**Mots clés :** *Mycobacterium mucogenicum* - Mycobactérie - Environnement - Réseau d'eau - Cartographie.

**SP32 - Les mycobactéries non-tuberculeuses : pathogénèse et prévention****SP32-4**

Clinique

**Étude des risques d'exposition à *Mycobacterium ulcerans* dans les espaces de vie quotidiens au sud du Bénin**

Alexandra Boccarossa<sup>1</sup> (alexandra.boccarossa@gmail.com), Harvey Johnson<sup>1</sup>, Sébastien Fleuret<sup>2</sup>, Laurent Marsollier<sup>1</sup>, Estelle Marion<sup>1</sup>, Matthieu Eveillard<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INCIT - ATOMycA, Inserm, Angers, France

<sup>2</sup> ESO, CNRS, Angers, France

**Introduction et objectifs :**

L'ulcère de Buruli (UB) est dû à une bactérie environnementale : *Mycobacterium ulcerans*. Les activités liées à l'eau ont été identifiées comme étant la principale variable associée au risque d'UB 1. Notre objectif était de préciser quelles étaient les circonstances de contact avec des points d'eau et quelles étaient les activités les plus à risque y étant pratiquées afin de proposer des mesures de prévention ultérieurement.

**Matériel et méthodes :**

Nous avons réalisé une étude cas-témoins. Pour chaque cas, deux témoins ont été inclus. Ceux-ci étaient des proches (famille, voisins) du cas correspondant. Un appariement a été réalisé sur l'âge ( $\pm 1$  an), le sexe, la zone de résidence et si possible le type d'activités. L'enquête a été réalisée sur le terrain, dans les départements du Plateau et de l'Ouémé (Bénin). Un questionnaire standardisé a été rempli au cours d'un entretien pour chaque cas et chaque témoin. Différentes informations ont été recueillies : lieu d'habitation, activités champêtres, cultures, élevage et activités quotidiennes. Pour chacune de ces activités et chacun des lieux où elles étaient pratiquées, la présence de points d'eau a été notée, en différenciant leur caractère naturel ou artificiel, ainsi que les opportunités de contacts avec ces points d'eau. La localisation de ces lieux de vie en zone inondable lors de crues a également été notée. Les effractions cutanées éventuelles dues à des plantes ou des insectes aquatiques ont été relevées. Enfin, il a été demandé aux sujets participants s'ils utilisaient des mesures de protection lors de leurs contacts avec l'eau. Parallèlement, des prélèvements d'insectes et de végétaux aquatiques ont été réalisés dans les points d'eau naturels fréquentés par les cas et les témoins au cours de leurs activités quotidiennes. La recherche de *M. ulcerans* a été réalisée par PCR sur l'ensemble des prélèvements afin d'identifier les points d'eau à risque.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les résultats, intégrant des données microbiologiques et de sciences humaines sont actuellement en cours d'analyse et pourront être présentés lors du congrès. Cette recherche s'intègre dans une perspective « One Health », avec des investigations réalisées depuis l'environnement jusqu'aux populations.

**Mots clés :** Ulcère de Buruli - *Mycobacterium ulcerans* - One Health - Sciences humaines - Activités à risque.

**Références :**

1. Boccarossa A, et al. A combined study of Buruli ulcer disease in Southeastern Benin proposing preventive strategies based on epidemiological, geographic, behavioural and environmental analyses. PLoS Global Public Health 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0000095>

## Conférence plénière

### From Petri Dish to Patient: Mycobacteriophages and Their Therapeutic Potential

Graham F. Hatfull (gfh@pitt.edu)

*University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA*

Mycobacteriophages are phages infecting *Mycobacterium* hosts. A collection of over 10,000 phages has been isolated on *Mycobacterium smegmatis* by students and faculty in the broadly implemented SEA-PHAGES program, and over 2,000 of these phages have been sequenced and annotated. This genomic information together with host range data has advanced their therapeutic use for treating patients with antibiotic resistant infections, especially those caused by *M. abscessus* in cystic fibrosis (CF) patients. However, most of the potentially therapeutic phages are temperate, and must be engineered for obligatorily lytic growth prior to clinical use. Diseases caused by non-tuberculous mycobacteria (NTM) are increasing in prevalence and are seen in immunocompromised patients in addition to those with CF. The infections are intrinsically refractory to antibiotic therapies, and the antibiotics themselves are toxic and poorly tolerated, particularly with long-term intravenous administration. There is therefore a critical need for new therapies for controlling these infections, and phages present potentially useful new tools. We have described the first therapeutic use of phages in a paediatric CF patient that was immunosuppressed following bilateral lung transplantation and a disseminated *M. abscessus* infection. A cocktail of three phages was administered and substantially reduced the infection. Subsequently, we have explored the variability of phage susceptibilities of *M. abscessus* clinical isolates, and identified, prepared, and provided mycobacteriophages for over 20 patients with drug resistant NTM infections. Favourable outcomes were observed in many but not all cases. Phage resistance is rare and although neutralizing antibody responses are common, they do not always correlate with poor outcomes.



SP33 - Epigenetics & infection 

SP33-O.1

Pathogénie

Microbiologie fondamentale

**Chemical targeting the Epigenetics to fight AMR: a promise and a difficult challenge**

Paola Arimondo (paola.arimondo@cnr.fr)

*Epigenetic Chemical Biology, Institut Pasteur - CNRS UMR3523, Paris, France*

Infectious diseases are a major health treat and there is a need to find innovative targets and new compounds targeting them 1. A common phenomenon in most microbial infections is the attenuation of the host's immediate immune response, allowing for long-term colonization. Many pathogens achieve this by manipulating the epigenetic regulation of the host. Indeed, pathogens either release factors that directly targets the host chromatin or hijack its epigenetic machinery, both resulting in alterations of the host epigenome. Thus, inhibiting these phenomena will give an advantage to the host and thus facilitate the elimination of the microbe. Importantly, epigenetic modifications, such as DNA and histone modifications, are reversible and modulate gene expression without changing the DNA sequence. This makes them ideal drug targets. In cancer treatment, epigenetic regulators (enzymes and chromatin-binding proteins) are already validated drug targets, with several molecules approved for clinical use. In the context of infection, drugs targeting chromatin have been explored very little. Among the major epigenetic modifications, there is the methylation of DNA and histones that play a key role in gene expression regulation.

We are synthesising a specific chemical library targeting the methyltransferases of DNA and histone2-3 and setting-up biochemical and cellular assays to screen it. We developed a reliable chemical biology high-content imaging strategy to screen compound libraries simultaneously on multiple histone marks inside cells 4. Interestingly, this assay pointed out a synergistic interaction between two histone methyltransferases (CARM1 and DOT1L), suggesting possible effective synergistic drug combinations.

The inhibitors can be used either as chemical scalpels to probe the epigenetic mechanisms that are aberrant in the diseases or as potential leads for new therapeutic strategies. The design of the chemical library was successful as it allowed us identify two families of epigenetic inhibitors that are active against resistant parasite responsible of malaria 5

## Références :

1. Miethke M, et al. *Nat Rev Chem*. 2021 Aug 19:1-24. doi: 10.1038/s41570-021-00313-1
2. Halby L et al. *J Med Chem*. 2017 60(11):4665-4679 & Halby L. et al. *Phil. Trans RS B*, 2018, 373(1748) pii: 2017007 doi: 10.1098/rstb.2017.0072.
3. Bon C, et al. , *Molecules* 2021, 26(17), 5300 doi: 10.3390/molecules26175300 & 5. Bon C, et al. *Future Medicinal Chemistry* 2022 <https://doi.org/10.4155/fmc-2021-0251>
4. Yang Si et al. *RSC Chemical Biology*, 2022, doi: 10.1039/D1CB00095K.
5. Nardella F et al. *ACS Central Science* 2020, 6(1):16-21 doi: 10.1021/acscentsci.9b00874. & Nardella F et al. *J Med Chem*. 2021 64(14):10403-10417. doi: 10.1021/acs.jmedchem.1c00821.

SP33 - Epigenetics & infection 

SP33-1

RNA-RNA network in the regulation of *Staphylococcus aureus* metabolism and virulence

Isabelle Caldelari (i.caldelari@unistra.fr), Noémie Mercier, Pascale Romby

UPR9002, CNRS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

**Introduction and Objectives:**

*Staphylococcus aureus* is an opportunistic pathogen that causes multiple infections by colonizing a large number of tissues and organs. This bacterium has developed a wide range of strategies to adapt to various stresses. In addition to transcription factors and two-component systems, the regulatory RNAs (sRNAs), often induced upon stress, regulate in a dynamic manner the expression of numerous genes, including those which encode virulence factors. They act by direct basepairings with their target messenger RNAs (mRNAs) and impact their stability or translation. Although more than 100 different sRNAs have been identified in *S. aureus*, only the functions of few of them have been elucidated.

**Materials and Methods:**

In the team, we have recently applied the MAPS method (MS2-affinity purification coupled with RNA sequencing) to determine the complexes formed *in vivo* between several RNAs. The bait RNA is fused to a MS2 tag at its 5' end. The tag is specifically recognized by the phage MS2 (MS2-CP) capsid protein bound to an amylose resin to specifically retain the RNA-RNA pairs, which are characterized by high-throughput sequencing after specific elution.

**Results, Discussion and Conclusion:**

The MAPS approach allowed establishing the targetomes of several sRNAs, RsaA, RsaC, RsaD, RsaE, RsaG, RsaI and of *icaR* mRNA, which encodes a major transcription repressor of biofilm and is the target of the two sRNAs, RsaE and RsaI [1, 2]. The study will present the map of regulatory networks, in which all these RNAs intervene together with transcription factors and two component systems to finely regulate metabolism and virulence in response to changes in environmental conditions. Ultimately it will reveal new strategies and/or targets to fight this pathogen.

**Mots clés :** Staphylococcus aureus - regulation network - sRNA - virulence - metabolism.

**Références :**

1. Desgranges E, Barrientos L, Herrgott L, Marzi S, Toledo-Arana A, Moreau K, Vandenesch F, Romby P, Caldelari I. 2022. The 3'UTR-derived sRNA RsaG coordinates redox homeostasis and metabolism adaptation in response to glucose-6-phosphate uptake in *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol.* 117(1):193-214. doi: 10.1111/mmi.14845.
2. Barrientos L, Mercier N, Lalaouna D, Caldelari I. 2021. Assembling the Current Pieces: The Puzzle of RNA-Mediated Regulation in *Staphylococcus aureus*. *Front Microbiol.* 21;12:706690. doi: 10.3389/fmicb.2021.706690.

SP33 - Epigenetics & infection 

SP33-2

***Brucella* targeting of nuclear dynamics**

Amandine Blanco (amandine.blanco@ibcp.fr), Arthur Louche, Thais Lacerda, Suzana P. Salcedo

MMSB / UMR5086, CNRS - Université Lyon I, Lyon, France

**Introduction and Objectives:**

Brucellosis is an important zoonotic disease caused by intracellular bacteria of the genus *Brucella*, and considered by the World Health Organisation to be one of the most widespread bacterial zoonosis worldwide (1-2). This pathogen ensures its survival and proliferation inside host cells by secreting effector proteins *via* a type IV secretion system. These effectors modulate various cellular functions including immune response and intracellular trafficking. 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 (3). We have recently identified two such effectors from *Brucella abortus*, NyxA and NyxB, which traffic through specific cytoplasmic compartments in the vicinity of replicating bacteria and are imported into the host nucleus 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 show that NyxA/B interact with the host de-SUMOylase SENP3, preventing its accumulation in the nucleoli during infection. This in turn extensively impacts overall nuclear spatial dynamics, as we observed that key components of ribosomal biogenesis machinery accumulate in the host cytosol of infected cells. These results highlight a novel stress response to bacterial infection and an important role of SENP3 in *Brucella* intracellular replication.

**Mots clés :** *Brucella abortus* - Effector - Nucleomodulin - SENP3.

**Références :**

1. 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>
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. 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>

SP33 - Epigenetics & infection 

SP33-3

Pathogénie

Microbiologie fondamentale

**Mécanisme moléculaire de H3K4me2, une modification d'histone induite par *Streptococcus pneumoniae***Justine Matheau<sup>1,2</sup> (justine.matheau@pasteur.fr), Christine Chevalier<sup>1</sup>, Paola Arimondo<sup>3</sup>, Mélanie Hamon<sup>1</sup><sup>1</sup> Unité Chromatine et Infection, Département de Biologie Cellulaire et Infection, Institut Pasteur, Paris, France<sup>2</sup> Ecole doctorale 562 Bio Sorbonne Paris Cité, Université de Paris, Paris, France<sup>3</sup> Unité Chimie Biologique Epigénétique, Département de Biologie Structurale et Chi, Institut Pasteur, Paris, France**Introduction et objectifs :**

Au cours d'une infection, les bactéries peuvent moduler la réponse transcriptionnelle de la cellule hôte via l'induction de modifications d'histones, des protéines responsable de l'organisation de l'ADN eucaryote [1-3]. Ces modifications sont importantes pour l'efficacité d'une infection et souvent des mécanismes de virulence. Nous avons identifié une modification persistante (la di-méthylation de la lysine 4 de l'histone H3 (H3K4me2)) qui pourrait représenter une marque épigénétique maintenant une mémoire de l'infection. Pour étudier le rôle de cette marque, nous voulons identifier un inhibiteur chimique capable de la bloquer.

**Matériels et méthodes :**

Nous utilisons *Streptococcus pneumoniae*, une bactérie encapsulée extracellulaire qui est à la fois un colonisateur naturel de l'homme et un agent pathogène opportuniste des voies respiratoires. Nous effectuons des infections de cellules épithéliales *in vitro*, où nous observons la modification épigénétique à partir de 48h post-infection. Des inhibiteurs chimiques sont utilisés pour trouver une molécule capable de bloquer la méthylation.

**Résultats, discussion et conclusion :**

En collaboration avec le laboratoire de Chimie Biologique Epigénétique dirigé par Paola Arimondo, plusieurs molécules chimiques inhibitrices d'histone méthyltransférases [4] ont été testées. Nous avons identifié une molécule capable d'inhiber H3K4me2 à 85% dans des cellules alvéolaires humaines. Étant donné que la méthylation de H3 persiste au moins 7 jours après l'infection, nous voulons étudier l'impact de cette modification sur une deuxième infection. La découverte de cet inhibiteur va donc nous permettre de dévoiler l'impact de cette modification d'histone persistante sur une infection de cellules épithéliales respiratoires au pneumocoque.

**Mots clés :** Interactions hôte-bactérie - *Streptococcus pneumoniae* - Cellules épithéliales - Modification d'histone.

**Références :**

1. Dong W, Hamon MA. Revealing eukaryotic histone-modifying mechanisms through bacterial infection. *Semin Immunopathol.* avr 2020;42(2):20113.
2. Dong W, Rasid O, Chevalier C, Connor M, Eldridge MJG, Hamon MA. *Streptococcus pneumoniae* Infection Promotes Histone H3 Dephosphorylation by Modulating Host PP1 Phosphatase. *Cell Reports.* mars 2020;30(12):4016-4026.e4.
3. Pereira JM, Hamon MA, Cossart P. A Lasting Impression: Epigenetic Memory of Bacterial Infections? *Cell Host & Microbe.* mai 2016;19(5):57982.
4. Bon C, Halby L, Arimondo PB. Bisubstrate inhibitors: the promise of a selective and potent chemical inhibition of epigenetic 'writers'. *Epigenomics.* 2020 Sep;12(17):1479-1482.

SP33 - Epigenetics & infection 

SP33-4

Pathogénie

Microbiologie fondamentale

**Staphylococcus aureus induces DNA damage in host cell**

Nadia Berkova<sup>1</sup> (nadejda.berkova@inrae.fr), Nassim Mouhali<sup>1</sup>, Martine Deplanche<sup>1</sup>, Minh-Thu Nguyen<sup>2</sup>, Alan Diot<sup>3</sup>, Frédéric Laurent<sup>3</sup>, Gerard Lina<sup>3</sup>, François Vandenesch<sup>3</sup>, Friedrich Götz<sup>2</sup>, Michael Otto<sup>4</sup>, Yves Le Loir<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR 1253 STLO, Laboratoire de microbiologie, INRAE, Rennes, France

<sup>2</sup> Mikrobielle Genetik, Universität Tübingen, Tübingen, Germany

<sup>3</sup> UMR5308, Université Claude Bernard Lyon 1, Centre International de Recherche en Infectiologie, Lyon, France

<sup>4</sup> Laboratory of Human Bacterial Pathogenesis, US National Institutes of Health, Bethesda, USA

**Introduction and Objectives:**

Human cells are permanently exposed to environmental and endogenous factors that induce DNA damage, thus affecting genomic integrity [1]. The host cells counteract the consequences of lesions by DNA damage response and checkpoint systems that repair DNA structure or trigger cell death when DNA is irredeemably damaged.

*S. aureus*, a highly versatile gram-positive bacterium, can cause a multitude of human diseases ranging from mild superficial skin to life-threatening disseminated infections. *S. aureus* is one of the most prevalent pathogen that cause chronic ruminant mastitis. Chronic *S. aureus* infection is likely to be associated with the internalization of the pathogen by host cells, where bacteria are protected from host defenses.

We aimed to investigate whether *S. aureus* can compromise host genomic integrity.

**Materials and Methods:**

To evaluate *S. aureus*-induced DNA damage we used methods of cellular microbiology, molecular biology, electron and confocal microscopy, flow cytometry, size-exclusion chromatography, mass spectrometry.

**Results, Discussion and Conclusions:**

We found that *S. aureus* can compromise host genomic integrity as indicated by bacteria-induced histone H2AX phosphorylation, a marker of DNA double strand breaks, in human cervix cancer HeLa and osteoblast-like MG-63 cells [2]. This DNA damage is mediated by alpha phenol-soluble modulins (PSM $\alpha$ 1–4), while a specific class of lipoproteins (Lpls), encoded on a pathogenicity island in *S. aureus*, dampens the H2AX phosphorylation thus counteracting the DNA damage. This DNA damage is mediated by ROS. DNA damage is followed by the induction of DNA repair that involves the ATM kinase-signaling pathway. An examination of *S. aureus* strains, isolated from the same patient during acute initial and recurrent bone and joint infections, showed that recurrent strains produce lower amounts of Lpls, induce stronger DNA-damage and prompt the G2/M transition delay to a greater extent that suggest an involvement of these mechanisms in adaptive processes of bacteria during chronicization [3, 4]. Our findings suggest that *S. aureus* infection has an impact on the genome and epigenome of host cells, which may exert patho-physiological dysfunctions and indicate that the balance between the levels of PSM $\alpha$  and Lpls expression impacts the persistence of the infection [2, 4, 5].

**Mots clés :** Staphylococcus aureus - DNA damage - phenol-soluble modulins - lipoproteins - G2/M transition delay.

**Références :**

1. Garinis, G. A., van der Horst, G. T., Vijg, J. & Hoeijmakers, J. H. DNA damage and ageing: new-age ideas for an age-old problem. 2008; Nat Cell Biol 10: 1241–1247.
2. Staphylococcus aureus induces DNA damage in host cell. Deplanche M, Mouhali N, Nguyen MT, Cauty C, Ezan F, Diot A, Raulin L, Dutertre S, Langouet S, Legembre P, Taieb F, Otto M, Laurent F, Götz F, Le Loir Y, Berkova N. 2019; Sci Rep. 22;9(1):7694.
3. Nguyen MT, Deplanche M, Nega M, Le Loir Y, Peisl L, Götz F, Berkova N. Staphylococcus aureus Lpl Lipoproteins Delay G2/M Phase Transition in HeLa Cells. 2016 ; Front Cell Infect Microbiol. 6:201.
4. Deplanche M, Filho RA, Alekseeva L, Ladier E, Jardin J, Henry G, Azevedo V, Miyoshi A, Beraud L, Laurent F, Lina G, Vandenesch F, Steghens JP, Le Loir Y, Otto M, Götz F, Berkova N. Phenol-soluble modulin  $\alpha$  induces G2/M phase transition delay in eukaryotic HeLa cells. 2015; FASEB J. 29(5):1950-9.
5. Nicolas A, Deplanche M, Commere PH, Diot A, Genthon C, Marques da Silva W, Azevedo V, Germon P, Jamme H, Guédon E, Le Loir Y, Laurent F, Bierne H, Berkova N. Transcriptome architecture of osteoblastic cells infected with Staphylococcus aureus reveals strong inflammatory responses and signatures of metabolic and epigenetic dysregulation. 2022; Front Cell Infect Microbiol. 7;12:854242.

**SP34-T - Nouveaux modèles pour l'étude de la physiopathologie des infections****SP34-T-O.1**

Autre

**Using organoids to decipher the molecular mechanisms underlying viral neuroinfections**Raphaël Gaudin (raphael.gaudin@irim.cnrs.fr)*CNRS, Montpellier, France*

Organoids revolutionized numerous fields as they exhibit complex features in vitro that better mimic tissue architecture than the usual monolayer cell lines. Indeed, organoids are composed of different cell types that grow in three dimensions to form complex networks and structures, which cannot be recapitulated with 2D cell monolayers. As such, organoid, differentiated from stem cells, represent great model systems to study the impact of viral infection on specific tissues, although limitations also exist. Here, I will show how cerebral organoids helped us deciphering the molecular mechanisms underlying Zika virus and SARS-CoV-2 infection of the brain and perspectives in the field.

*Mots clés* : Virus-host interactions - SARS-CoV-2 - Zika virus - Neuroinvasion - Stem cell.

## Références :

1. Partiot E et al, 2022, *BioRxiv*, 10.1101/2022.09.13.507484.
2. Gaudin R et al, 2022, *Trends Mol Med*, 10.1016/j.molmed.2021.10.007.
3. Gaudin & Goetz, 2021, *Trends Cell Biol*, 10.1016/j.tcb.2020.09.005.
4. Ayala-Nunez & Gaudin, 2020, *Plos Pathog*, 10.1371/journal.ppat.1008434.
5. Ayala-Nunez NV et al, 2019, *Nature Communications*, 10.1038/s41467-019-12408-x.

## SP34-T - Nouveaux modèles pour l'étude de la physiopathologie des infections

SP34-T-1

Autre

**A Zebrafish model of persistent *Salmonella* infection reveals dynamic changes of macrophage polarization**

Jade Leiba<sup>1</sup> (jade.leiba@umontpellier.fr), Tamara Sipka<sup>1</sup>, Matteo Bernardello<sup>2</sup>, Christina Begon-Pescia<sup>1</sup>, Resul Özbilgiç<sup>1</sup>, Sofiane Tairi<sup>1</sup>, Emilio Gualda<sup>2</sup>, Pablo Loza<sup>2</sup>, Lionello Bossi<sup>3</sup>, Anne Blanc-Potard<sup>1</sup>, Georges Lutfalla<sup>1</sup>, Mai Nguyen-Chi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LPHI, CNRS, Université Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> Institute of Photonic Sciences, ICFO, Barcelona, Espagne

<sup>3</sup> Institute for Integrative Biology of the Cell-I2BC, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France

Numerous intracellular bacterial pathogens use immune subversion strategies to survive inside the host and persist long period of time. Among them, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium establish an intracellular niche in the macrophage and interfere with its antibacterial response. Although long-term survival of *Salmonella* has been associated with permissive M2 macrophages in a mice chronic infection model, the dynamics of macrophage polarization during *Salmonella* infection has not been studied *in vivo* in a living animal. In this study, we describe a model of *Salmonella* infection in the zebrafish larva in which polarized macrophage and bacteria interactions are visualized in real time at high-resolution thanks to transgenic reporter lines and fluorescent *Salmonella* strains. We showed that *S. Typhimurium* infection causes different outcomes, from larval death to bacterial persistence. We demonstrated that during initial stages of *S. Typhimurium* infection, macrophage and neutrophil are quickly recruited to the infection site. In addition, macrophages polarized toward M1-like phenotypes. By contrast during later stages of infection, *Salmonella* promotes the massive accumulation of M2-like macrophages in which *Salmonella* can persist. Together, our results show that the zebrafish represents a valuable model to decipher the dynamic of macrophage polarization during persistent bacterial infection.

**Mots clés :** Zebrafish - *Salmonella* - Macrophage - Polarization - Persistent infection.

## SP34-T - Nouveaux modèles pour l'étude de la physiopathologie des infections

SP34-T-2

Autre

**Le système de recombinaison phagique  $mv4$ Int/attP : vers un outil reprogrammable d'ingénierie des génomes bactériens ?**Kevin Debatisse<sup>1</sup> (debatissekevinbac@gmail.com), Muriel Cocaïgn-Bousquet<sup>1</sup>, Pascal Le Bourgeois<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Toulouse Biotechnology Institute, INSA, Toulouse, France<sup>2</sup> Université Toulouse 3 - Paul Sabatier, Toulouse, France**Introduction et objectifs :**

Un des enjeux de la biologie synthétique est de produire de nouveaux microorganismes capables de dégrader ou synthétiser des composés complexes, nécessitant de transférer des voies métaboliques complètes dans des châssis bactériens d'intérêt biotechnologique. Par leur capacité à intégrer de l'ADN de grande taille dans le génome de leur bactérie hôte, les systèmes de recombinaison des bactériophages tempérés, constitués d'une intégrase (Int), d'un site d'ADN phagique (*attP*) et d'un site d'ADN bactérien (*attB*), pourraient constituer des outils pertinents pour l'incorporation de ces voies métaboliques dans les châssis bactériens. Leur utilisation est cependant limitée par l'impossibilité de choisir le site d'intégration dans le génome hôte car chaque intégrase est inféodée à ses sites *attP* et *attB*. Le module d'intégration du phage mv4, qui cible un ARNtSER de *Lactobacillus bulgaricus* [1], a été décrit comme atypique car il ne nécessite pas de facteur d'hôte [2] et les sites *attP* et *attB* présentent une organisation unique [3, 4], avec un site *attB* de 16 pb, le plus petit site décrit dans la littérature [3].

**Matériels et méthodes :**

Les sites de recombinaison ont été réanalysés par recombinaison *in vitro* de banques aléatoires et séquençage NGS des produits de recombinaison. Ces expériences ont permis de redéfinir la structure des régions nécessaires à la recombinaison (taille du site *attB* et organisation du site *attP*, sites de fixation de l'intégrase), de caractériser les contraintes s'exerçant sur ces sites, et de montrer que l'intégrase possédait une certaine tolérance vis-à-vis de leur séquence nucléotidique.

**Résultats et conclusion :**

Notre étude a démontré que le site *attB* et la région cœur du site *attP* possèdent une taille de 21 pb et présentent une organisation plus classique que celle décrite, avec des régions répétées inversées de 7 pb entourant une région d'échange de brins de 7 pb. La flexibilité de l'intégrase a permis de rediriger la recombinaison vers des ARNtSER d'autres espèces bactériennes, ou d'autres séquences hétérologues, par simple modification du site *attP*. Ces résultats ouvrent la voie au développement d'un outil de transgénèse couplant les avantages des intégrases et la facilité de ciblage de systèmes de type CRISPR-Cas.

**Mots clés :** Biologie synthétique - Recombinaison site-spécifique - Bactériophage - Ingénierie génome - Bactéries.

**Références :**

1. Dupont L, Boizet-Bonhoure B, Coddeville M, Auvray F, Ritzenthaler P. 1995. Characterization of genetic elements required for site-specific integration of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bacteriophage mv4 and construction of an integration-proficient vector for *Lactobacillus plantarum*. *J Bacteriol* 177:586–595.
2. Auvray F, Coddeville M, Ritzenthaler P, Dupont L. 1997. Plasmid integration in a wide range of bacteria mediated by the integrase of *Lactobacillus delbrueckii* bacteriophage mv4. *J Bacteriol* 179:1837–1845.
3. Auvray F, Coddeville M, Ordonez RC, Ritzenthaler P. 1999. Unusual structure of the *attB* site of the site-specific recombination system of *Lactobacillus delbrueckii* bacteriophage mv4. *J Bacteriol* 181:7385–7389.
4. Coddeville M, Spinella JF, Cassart P, Girault G, Daveran-Mingot ML, Le Bourgeois P, Ritzenthaler P. 2014. Bacteriophage mv4 site-specific recombination: the central role of the P2 mv4Int-binding site. *J Virol* 88:1839–1842.



## SP34-T - Nouveaux modèles pour l'étude de la physiopathologie des infections

SP34-T-3

Autre

**Infection congénitale par le hCMV : impact sur la composition des petites vésicules extracellulaires placentaires et conséquences sur les cellules fœtales**

Charlène Martin<sup>1</sup> (charlene.martin@inserm.fr), Mathilde Bergamelli<sup>1</sup>, Hélène Martin<sup>1</sup>, Yann Aubert<sup>1</sup>, Yadaly Gassama<sup>2</sup>, Jean-Michel Mansuy<sup>3</sup>, Marlène Marcellin<sup>4</sup>, Odile Burllet-Schiltz<sup>4</sup>, Ilse Hurbain<sup>5</sup>, Graça Raposo<sup>5</sup>, Jacques Izopet<sup>3</sup>, Mélinda Bénard<sup>6</sup>, Nathalie Moinard<sup>7</sup>, Alexandre Favereaux<sup>2</sup>, Gisela D'Angelo<sup>5</sup>, Cécile Malnou<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Toulousain des Maladies Infectieuses et Inflammatoires (Infinity), Toulouse, France

<sup>2</sup> Univ. Bordeaux, CNRS, Interdisciplinary Institute for Neuroscience, Bordeaux, France

<sup>3</sup> CHU Toulouse, Hôpital Purpan, Laboratoire de Virologie, Toulouse, France

<sup>4</sup> Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, IPBS, Toulouse, France

<sup>5</sup> Institut Curie, CNRS UMR144, Structure et Compartiments Membranaires, Paris, France

<sup>6</sup> CHU Toulouse, Hôpital des Enfants, Service de Néonatalogie, Toulouse, France

<sup>7</sup> CECOS, Groupe d'activité de médecine de la reproduction, CHU Toulouse, Toulouse, France

L'infection par le Cytomégalovirus humain (hCMV) est un problème majeur durant la grossesse, affectant 1% des naissances vivantes. Il s'agit du virus le plus couramment transmis *in utero* et il est la cause la plus fréquente de malformations cérébrales et de surdités d'origine infectieuse. Bien que le hCMV ait une action directe lors de l'infection des progéniteurs neuraxiaux dans le cerveau fœtal, la réponse du placenta à l'infection pourrait également contribuer aux perturbations du développement cérébral, notamment par l'intermédiaire de la sécrétion de petites vésicules extracellulaires (sEV).

Nos travaux récents ont montré que ces nanovésicules membranaires placentaires, sécrétées par des cytotrophoblastes humains de premier trimestre, voient leur quantité modifiée lors de l'infection par le hCMV, ainsi que leur composition protéique et en miARN, désormais orientée vers un phénotype proviral. L'évaluation de l'impact de ces sEV sur l'infection de cellules receveuses naïves d'origine fœtale a pu ainsi mettre en évidence une potentialisation de l'infection en présence de sEV issues de cytotrophoblastes infectés. Le même phénomène est retrouvé en utilisant des sEV préparées à partir d'un modèle *ex vivo* d'histocultures de placenta précoce infectées et des sEV préparées à partir de liquide amniotique de patientes naturellement infectées par le hCMV en début de grossesse, par rapport à des sEV issues de contrôles non infectés. En lien avec les conséquences de ces différences de composition sur le développement cérébral fœtal, nous évaluons actuellement l'impact des sEV sur les propriétés biologiques de cellules souches neurales humaines (NSC). La croissance, la survie et la prolifération de ces dernières ne semblent pas impactées par les sEV issues de cytotrophoblastes infectés ou non, en revanche des différences semblent se profiler concernant l'impact des sEV sur la différenciation des NSC en neurones.

Ainsi, ces résultats appuient l'hypothèse d'une influence positive des sEV placentaires sur le développement cérébral fœtal, qui serait altérée au cours de l'infection par le hCMV. En conclusion, le hCMV pourrait donc agir de manière indirecte sur le compartiment cérébral fœtal en modifiant la composition des sEV placentaires, qui agiraient ainsi de manière paracrine sur la biologie des progéniteurs neuronaux.

**Mots clés :** Cytomégalovirus - Infection congénitale - Vésicules extracellulaires placentaires - Cellules souches neurales humaines.

**SP34-T - Nouveaux modèles pour l'étude de la physiopathologie des infections****SP34-T-4**

Autre

**Réplication de sapovirus humains dans le modèle entéroïde intestinal**

Gabriel Euler-Nicolas<sup>1</sup> (gabriel.euler@ifremer.fr), Cécile le Menec<sup>1</sup>, Robert L. Atmar<sup>2</sup>, Mary K. Estes<sup>2</sup>, Soizick Le Guyader<sup>1</sup>, Marion Desdouts<sup>1</sup>

<sup>1</sup> MASAE/LSEM, IFREMER, Nantes, France

<sup>2</sup> Department of Molecular Virology and Microbiology, Baylor College of Medicine, Houston, États-Unis

**Introduction et objectifs :**

Les sapovirus appartiennent à la famille des *Caliciviridae* et sont des virus non-enveloppés à ARN positif simple brin apparentés aux norovirus. Si leur fréquence et leur pathogénicité ont pu être sous-estimées, des études récentes montrent qu'ils contribuent de manière significative à l'incidence des gastro-entérites, surtout pédiatriques. En l'absence d'un modèle d'étude physiologique, ces virus restent assez méconnus.

Dans des modèles de lignées cellulaires, des souches porcines et humaines ont montré une dépendance aux acides biliaires pour établir l'infection. Les norovirus dépendent de l'expression intestinale de certains antigènes tissulaires de groupe sanguin (HBGA), mais les données épidémiologiques et biologiques manquent quant aux sapovirus.

Le modèle d'entéroïdes intestinaux humains a permis la culture des norovirus, répondant à de nombreuses questions fondamentales sur leurs mécanismes. L'objectif de cette étude est donc d'isoler des souches de sapovirus humains capables de répliquer dans des cultures issues d'entéroïdes humains, et d'identifier les facteurs nécessaires ou non à sa réplication dans ce modèle physiologique.

**Matériel et méthodes :**

Des selles humaines positives aux sapovirus sont préparées afin d'obtenir des inoculum viraux. Des cellules souches intestinales provenant de donneurs sains sont cultivées en trois dimensions dans un gel, puis dissociées pour former des monocouches différenciées qui sont infectées. La concentration en génome viral est quantifiée par qRT-PCR et comparée entre 2 heures et 72 heures post-infection pour observer la réplication.

Le tropisme viral est évalué à l'aide d'entéroïdes issus de différents segments de l'appareil digestif. La dépendance aux acides biliaires et aux HBGA sont testées avec différentes concentrations d'acides biliaires, ou sur des entéroïdes de phénotypes HBGA contrastés.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nous avons démontré pour la première fois la réplication de deux souches de sapovirus GI.1 et GI.2 sur le modèle entéroïde intestinal humain, dans des cellules différenciées issues des trois segments de l'intestin grêle (jejunum, duodenum et ileum) mais pas du colon. La présence d'acides biliaires dans le milieu d'infection est nécessaire à la réplication virale, mais le phénotype HBGA des entéroïdes n'est pas limitant pour l'infection par les souches étudiées, comme supposé par les rares études disponibles sur le sujet.

*Mots clés :* Sapovirus - Entéroïdes - Antigènes tissulaires de groupe sanguin - Virus entérique.

**SP35 - Diagnostic hors laboratoire : Nouveaux outils & SSB****SP35-O.1****Diagnostic biologique délocalisé et SSB : de la Maladie à virus Ebola à la COVID-19**

Audrey Merens (merensbio@gmail.com)

*Hôpital d'Instruction des Armées BEGIN, Saint-Mandé, France*

Résumé non parvenu.

**SP35 - Diagnostic hors laboratoire : Nouveaux outils & SSB****SP35-O.2****Impact du diagnostic rapide des virus respiratoires**

Jérôme Le Goff (jerome.le-goff@aphp.fr)

*Virologie, APHP, Paris, France*

De nombreux outils de détection rapide simplex ou multiplex des génomes des virus respiratoires sont désormais disponibles. Certains peuvent être utilisés en biologie délocalisée. Une synthèse des travaux publiés sur l'impact des tests de diagnostic rapide des virus respiratoires sur la prise en charge des malades (traitement, durée de séjour,..) sera présentée.

**SP35 - Diagnostic hors laboratoire : Nouveaux outils & SSB****SP35-1****Initiatives récentes pour le déploiement de laboratoires mobiles**

Christophe Batejat (christophe.batejat@pasteur.fr), Jessica Vanhomwegen, Jean-Claude Manuguerra

*Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence, Institut Pasteur, Paris, France*

Depuis toujours, l'investigation des épidémies et la recherche sur les agents pathogènes se fait en laboratoire, mais également sur le terrain. De la paillette d'Alexandre Yersin à Hong Kong en 1884 au laboratoire mobile européen EMLab à Guéckédou en 2014, en passant par les Laboratoires de microbiologie ambulants de l'Institut Pasteur en 1916-1917 ou les expéditions de capture et analyses de chauve-souris dans des grottes, le laboratoire mobile peut prendre des formes variées et a beaucoup évolué au fur et à mesure des avancées technologiques, des impératifs de santé publique et des exigences réglementaires et sociales.

L'épidémie de maladie à virus Ebola en Afrique de l'Ouest en 2014-2016 a mis en avant le rôle primordial que jouent les laboratoires mobiles pour le diagnostic précoce des maladies infectieuses émergentes dans des zones où les laboratoires classiques sont absents. Cependant, les bénéfices apportés par ces laboratoires mobiles sur le terrain n'ont pu masquer certains défauts ; à l'heure où bon nombre d'institutions se sont lancées dans le développement ou l'acquisition de laboratoires mobiles, il était urgent de définir les éléments essentiels pour permettre un travail d'investigation de qualité et en toute sécurité.

Le bureau Europe de l'Organisation Mondiale de la Santé, sous l'impulsion des principaux laboratoires mobiles européens, a ainsi édité un guide de classification des différents types de laboratoires mobiles existants. Un guide des critères minimaux portant sur les aspects logistiques, le management de la qualité, la gestion des données patients et la sécurité et sûreté biologiques est également en cours de finalisation.

C'est sous cet angle que l'on peut aussi observer l'évolution des capacités de laboratoire mobile de l'Institut Pasteur au fil du temps et selon les activités.

*Mots clés* : Laboratoire mobile - Terrain - Diagnostic - Biosécurité.

## SP35 - Diagnostic hors laboratoire : Nouveaux outils &amp; SSB

SP35-2

**Automated and combined HIV, HBV, HCV, and syphilis testing among illegal gold miners in French Guiana using a standardized dried blood device**

Edouard Tuailon<sup>1</sup> (e-tuailon@chu-montpellier.fr), Amandine Pisoni<sup>2</sup>, Elisa Reynaud<sup>2</sup>, Maylis Douine<sup>3</sup>, Louise Hureau<sup>3</sup>, Carmen Alcocer Cordellat<sup>2</sup>, Roxane Schaub<sup>3</sup>, Dennis Poland<sup>4</sup>, Richard Monkel<sup>4</sup>, Joan Lommen<sup>4</sup>, Konstantin Yenkovyan<sup>5</sup>, Stephen Vreden<sup>6</sup>, Mathieu Nacher<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pathogenesis & Control of Chronic and Emerging Infections, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Virologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> Inserm 1424, Centre d'Investigation Clinique Antilles-Guyane, Cayenne, Guyane française

<sup>4</sup> Labonovum, Limmen, Netherlands

<sup>5</sup> Department of Biochemistry, Neuroscience Laboratory, Cobrain Center Yerevan, Yerevan, Arménie

<sup>6</sup> Foundation for Scientific Research of Suriname, Paramaribo, Suriname

**Background:**

Blood spotted onto filter paper can be easily collected outside healthcare facilities and shipped to a central laboratory for serological testing. However, dried blood testing generally requires manual processing for pre-analytical steps. In this study, we used a standardized blood collection device combined with an automated elution system to test illegal gold miners living in French Guiana for HIV, HBV, HCV and syphilis.

**Material and Methods:**

We included 378 participants, 102 females and 266 males, in three illegal gold mining resting sites. Blood collected on the Ser-Col device (Labonovum) was eluted using an automated system (SCAUT Ser-Col automation, Blok System Supply) and an automated analyzer (Alinity i, Abbott). Ser-Col results were compared to both plasma results, considered the gold standard, and to DBS results, considered the reference sampling method using dried blood.

**Results:**

In plasma samples, two participants (0.5%) tested positive for HIV, six (1.5%) tested positive for hepatitis B surface antigen (HBsAg), eight were weakly positive for anti-HCV antibodies but negative for HCV RNA, and 47 tested positive for treponemal antibodies (12.4%), including 20 females (19.6%) and 27 males (9.8%,  $p=0.010179$ ). We observed a full concordance of Ser-Col and DBS results for HIV diagnosis compared to plasma results. Ser-Col and DBS samples tested positive in five HBsAg carriers and negative for one participant with a low HBsAg level in plasma (0.5 IU/mL). All participants tested negative for HCV in Ser-Col and DBS samples, including the eight participants who tested low positive for HCV antibodies and HCV RNA negative in plasma. Among syphilis seropositive participants, 41 (87.2%) and 40 (85.1%) tested positive for treponemal antibodies in Ser-Col and DBS samples, respectively.

**Conclusion:**

The Ser-Col method allows automated dried blood testing of HIV, HBV, HCV and syphilis with performances comparable to DBS. Automated approaches to test capillary blood transported on dried blood devices may facilitate large-scale surveys and improve testing of populations living in remote areas.

*Mots clés* : HIV - Hépatite B - Hépatite C - Syphilis - Vulnérable population.

## SP36 - Production de métabolites par fermentation (en association avec la FFBiotech)

SP36-O.1

## Production efficace d'acide 3-hydroxypropionique par une cascade de conversion mettant en œuvre des bactéries lactiques puis des bactéries acétiques en bioréacteurs

Claire Saulou-Bérion (claire.saulou@agroparistech.fr), Thi-Lan-Phuong Nguyen, Florence de Fouchécour, Ana-Karen Sanchez-Castaneda, Pedro Arana-Agudelo, Marwen Moussa, Violaine Athès, Ioan-Cristian Trelea, Marielle Bouix, Catherine Béal, Henry-Eric Spinnler

UMR SAYFOOD, AgroParisTech, INRAE, Université Paris-Saclay, Palaiseau, France

Les procédés biotechnologiques permettant de produire des molécules «plateformes» bio-sourcées d'intérêt pour la chimie suscitent un grand intérêt dans le contexte de la bioéconomie. L'acide 3-hydroxypropionique (3-HP) a été identifié comme une cible prioritaire par le Département américain de l'énergie [1]. Notre projet porte sur une approche intégrée utilisant une cascade de conversions microbiennes pour la production de 3-HP à partir de glycérol. Le glycérol est d'abord converti en un mélange équimolaire de 1,3-propanediol (1,3-PDO) et de 3-HP en utilisant *Lactobacillus reuteri*, récoltée après croissance sur un milieu à base de glucose. Dans notre étude, les effets de 11 facteurs nutritionnels et environnementaux rencontrés par les bactéries au cours de leur croissance en bioréacteur sur leur capacité à effectuer la bioconversion ultérieure ont été évalués [2]. Après récolte et concentration de la biomasse cellulaire, la bioconversion est réalisée en fournissant progressivement le glycérol aux bactéries, pour éviter l'accumulation de l'intermédiaire aldéhyde inhibiteur. Des valeurs de pH et de vitesse spécifique d'alimentation en glycérol permettant d'augmenter les performances de production en bioréacteur ont été identifiées. Les conditions choisies ont significativement amélioré la concentration finale en 3-HP (+ 20 %) et la productivité (+ 38 %). Pour augmenter le rendement global [3], le 1,3-PDO a été sélectivement oxydé en 3-HP par *Acetobacter cerevisiae*. Après croissance sur glycérol et sans récolte cellulaire, une stratégie d'alimentation en substrat basée sur le contrôle du pH a été mise en place, en utilisant une solution équimolaire de base et de 1,3-PDO [4]. Trois niveaux de pH ont été testés : 5,0, 4,5 et 4,0. Des concentrations élevées ont ainsi été atteintes (> 60 g.L<sup>-1</sup> à pH 5,0) malgré un impact majeur du pH (~ 10 g.L<sup>-1</sup> à pH 4,0), avec un rendement de conversion proche de 1 mole.mole<sup>-1</sup>. La productivité spécifique maximale a atteint environ 2 g<sub>3-HP</sub>.g<sub>biomasse</sub><sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, quel que soit le pH [4]. La faisabilité d'une bioconversion extractive, correspondant au couplage à un procédé d'extraction liquide-liquide réactive, a été démontrée. Parallèlement, un modèle cinétique du bioprocédé a été développé pour mieux décrire les phénomènes bactériens impliqués et définir une stratégie efficace de contrôle du bioprocédé [5].

**Mots clés :** Molécule plateforme - Chimie durable - Bioconversion - Bioprocédé - Physiologie microbienne.

## Références :

1. Bozell JJ, Petersen GR. 2010. Technology development for the production of biobased products from biorefinery carbohydrates - the US Department of Energy's "Top 10" revisited. *Green Chem.* 12:539-554.
2. Nguyen T-LP, Saulou-Bérion C, Delettre J, Béal C. 2021. Culture conditions affect *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 ability to perform glycerol bioconversion into 3-hydroxypropionic acid. *J. Biosci. Bioeng.* 131(5):501-508.
3. de Fouchécour F, Sanchez-Castaneda AK, Saulou-Bérion C, Spinnler HE. 2018. Process engineering for microbial production of 3-hydroxypropionic acid. *Biotechnol. Adv.* 36(4):1207-1222.
4. de Fouchécour F, Lemarchand A, Spinnler HE, Saulou-Bérion C. 2021. Efficient 3-hydroxypropionic acid production by *Acetobacter* sp. CIP 58.66 through a feeding strategy based on pH control. *AMB Expr.* 11:130-140.
5. Arana-Agudelo P, Moussa M, Trelea I-C, Lachin K, Athès V. 2022. Reactive liquid-liquid extraction of bio-based 3-hydroxypropionic acid using a biocompatible organic phase containing a tertiary amine: A model-based approach to elucidate dominant mechanisms. *Sep. Purif. Technol.* 294:121184.

**SP36 - Production de métabolites par fermentation** (en association avec la FFBiotech)**SP36-O.2****Augmentation de 28% de la productivité de la pénicilline, en améliorant le transfert d'oxygène dans un réacteur de 200 m<sup>3</sup>, grâce à une modification morphologique de la souche productrice**

Jean-Luc Simon (jeanlucsimon56@gmail.com)

*Fédération française des Biotechnologies, Maroeuil, France*

L'histoire, la biosynthèse, avec les stoechiométries de production de la biomasse et de l'antibiotique et le rôle des différentes pénicillines sont présentées.

La productivité industrielle de la pénicilline est limitée par le transfert d'oxygène entre la phase gazeuse (l'air injecté) et la phase liquide (le moût de fermentation). Cette limitation est causée par la viscosité du milieu de culture à cause de la morphologie filamenteuse du champignon producteur.

Par un traitement mutagène ciblé du microorganisme, on a obtenu une structure en pellet beaucoup moins viscosante. Le facteur limitant la productivité est alors devenu le transfert d'oxygène de la phase liquide (le moût) vers la phase solide (la pellet).

En jouant sur le taux d'ensemencement pour augmenter le nombre de pellets et corrélativement en diminuer la taille, on a pu augmenter les flux de matières, donc la productivité, d'un facteur 1,28.

*Mots clés* : Pénicilline - Productivité - Morphologie de la souche.



**SP36 - Production de métabolites par fermentation** (en association avec la FFBiotech)

SP36-1

**Valorization of lignocellulose by microbial processes into high-value added molecules**Ludovic Besaury (ludovic.besaury@univ-reims.fr), Mathieu Cassarini, Caroline Remond

Université de Reims Champagne Ardenne, INRAe, FARE, UMR A 614, chaire AFERE, Reims, France

Due to its inherent recalcitrance and its high importance as a feedstock in biorefining processes global importance as a co-product during this climate crisis, the development of a lignocellulose conversion remains a major challenge to unlock a successful bioeconomy.

New biotechnological tools such as co-cultures have been developed in our lab in order to increase lignocellulose degradation and produce cheap efficient enzymatic cocktails. The use of synthetic microbial co-cultures thus has many advantages and has been implemented in order to mimic natural processes. A polyphasic study combining transcriptomic, enzymology metabolomic was performed on a *Phanerochaete chrysosporium* (fungus)-*Streptomyces* (bacteria) co-culture with wheat bran as carbon source which generated promising results: 1) an easy set-up of co-cultures of different microorganisms from 2 domains of life, 2) an overexpression of several lignocellulolytic enzymatic activities, 3) an elicitation of some specific biosynthetic cluster genes observed only in the co-culture experiment [1]. Those co-cultures led thus to the production of enzymes and secondary metabolites undetected previously which could be high value.

Furthermore, lignocellulose can be bioconverted as a carbon source into a large panel of molecules of interest such as pigments. Production price of microbial pigments remains high due to costly optimal synthetic media necessary for the microbial cultures. An interesting way to reduce such cost is to use some abundant, cheap and renewable agro-industrial co-products as carbon sources. Interesting candidates were selected *in silico* by comparative genomic analysis of their carbohydrate active and proteolytic enzymes and also based on their pigment production [2]. Focus was then made on violacein production by *Chromobacterium vaccinii*, which was shown to grow mainly on the protein fraction of agro-industrial co-products. For this strain, protein-rich substrates led to enhanced pigment production [3]. Moreover, new bacterial species were discovered from the environment which harboured new gene clusters with no known expressed pigments. The results obtained are thus promising in the context of biorefinery for the production of pigments.

**Mots clés :** Lignocellulose - Biotechnology - Co-cultures - Pigments.

## Références :

1. Detain, J., Rémond, C., Rodrigues, C. M., Harakat, D., & Besaury, L. (2022). Co-elicitation of lignocellulolytic enzymatic activities and metabolites production in an *Aspergillus-Streptomyces* co-culture during lignocellulose fractionation. *Current research in microbial sciences*, 3, 100108.
2. Cassarini, M., Besaury, L., & Rémond, C. (2021). Valorisation of wheat bran to produce natural pigments using selected microorganisms. *Journal of Biotechnology*, 339, 81-92.
3. Cassarini, M., Crônier, D., Besaury, L., & Rémond, C. (2022). Protein-Rich Agro-Industrial Co-products are Key Substrates for Growth of *Chromobacterium vaccinii* and its Violacein Bioproduction. *Waste and Biomass Valorization*, 1-10.

**SP36 - Production de métabolites par fermentation** (en association avec la FFBiotech)

SP36-2

**Enrichissement d'une culture microbienne mixte pour la valorisation CO<sub>2</sub> en acétate**

Claire Dumas (cl\_dumas@insa-toulouse.fr), présenté par Léa Laguillaumie

TBI, INRAe, Toulouse, France

**Introduction et objectifs :**

Cette étude vise à mettre en œuvre la fermentation du CO<sub>2</sub> avec supplémentation de H<sub>2</sub> pour la production de molécules plateformes en culture microbienne mixte [1]. La maîtrise de la compétition microbienne entre les micro-organismes méthanogènes et homoacétogènes est cruciale. La température a été identifiée comme un facteur clé : des conditions mésophiles (37 °C) permettent de favoriser l'homoacétogénèse et d'affaiblir la méthanogénèse [2, 3]. Ainsi, des enrichissements de cultures microbiennes mixtes ont été effectués à 25 °C et 35 °C pour évaluer les caractéristiques de la compétition à une température plus faible.

**Matériel et méthodes :**

Des enrichissements ont été réalisés en batch successifs. Les cultures étaient composées d'un milieu minéral inoculé à 15 % d'un mélange de boues de STEP et de digestion anaérobie. Un mélange H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> a été injecté jusqu'à une pression relative de 1 bar. Deux stratégies ont été testées 1) transfert « Long », après plusieurs injections de gaz et consommation totale 2) transfert « Court », pendant la phase exponentielle de la première injection de gaz. A la suite des transferts, des tests d'activité ont été réalisés sur chaque enrichissement pour tester les activités méthanogènes acétoclastes, hydrogénophiles et acétogènes hydrogénophiles.

**Résultats :**

Nous avons pu observer que :

- l'acétate n'a jamais été détecté à 35 °C, alors qu'il l'était à 25 °C.
- la stratégie de transfert Long à 35°C, a permis de basculer de 50/50 acétate/ méthane (bilan e-) à 100 % de méthane au cours des batchs successifs.
- le passage à des transfert Court à 25 °C a permis d'inverser cette tendance et d'évoluer vers 100 % d'acétate au cours des batchs successifs.
- les tests d'activité réalisés sur les différents enrichissements ont permis de caractériser les groupes fonctionnels en présence.

Ces résultats ont permis de montrer qu'il était possible d'enrichir une culture en homoacétogènes, en s'affranchissant des méthanogènes sans utiliser d'inhibiteur chimique et en contrôlant les paramètres de croissance. Ceci grâce à l'abaissement de la température combiné à un taux de dilution court.

*Mots clés* : CO<sub>2</sub> reduction - Microbial competition - Acetate production - Bioreactors - Modeling.

**SP37 - Antibactériens, antiviraux : nouvelles cibles, nouveaux inhibiteurs****SP37-O.1**

Antimicrobiens

**Targeting the electron transport chain: a new paradigm in Antimycobacterial Drug Discovery**Baptiste Villemagne (baptiste.villemagne@univ-lille.fr)

U1177 - Drugs and Molecules for Living Systems, Univ. Lille, Inserm, Institut Pasteur de Lille, Lille, France

There is an urgent need to feed the anti-tuberculosis drug pipeline with new compounds in order to improve future antibiotic regimens and facilitate the fight against drug resistant tuberculosis. In order to identify novel anti-tuberculosis agents, a synthetic chemical library of bioinspired and structurally unique molecules was assembled and screened against *Mycobacterium tuberculosis*. A family of compounds displaying a rigid and chiral tricyclic-spirolactam core (TriSLa) was identified. Hit-to-lead optimization efforts allowed for a 2-log improvement in potency to give low nanomolar TriSLa inhibitors. *In vitro* profiling found TriSLa to be *Mycobacterium* specific, with activity against *M. marinum*, *M. avium* and *M. abscessus* but not against other Gram negative or positive bacteria tested. Furthermore, TriSLa were not only active against extracellular replicating *M. tb*, but also non-replicating ss18b, and on intracellular H37Rv. TriSLa showed a time dependent bactericidal activity against both replicating and non-replicating bacteria. Selection and characterisation of TriSLa resistant *M. tb* and *M. marinum* isolates identified mutations in the type II NADH dehydrogenase (NDH-2) genes as the cause of resistance. NDH-2 is part of the mycobacterial electron transport chain, which has become a very promising pathway for the discovery and development of new antimicrobials in the last decades. Biochemical validation subsequently confirmed that TriSLa were potent inhibitors of both isozymes Ndh and NdhA. Within *M. tb* TriSLas were confirmed to induce a rapid change in NAD<sup>+</sup>/NADH ratio as well as a decrease of bacterial ATP levels. Finally, to gain insight on the efficacy of TriSLas in an *in vivo* infection model, these compounds were evaluated in a *M. marinum* zebrafish infection model and found to protect the Zebrafish from the infection. These findings therefore unveil the discovery and characterization of a novel chemical scaffold that may have the potential to become a new class of anti TB drug.

*Mots clés* : Tuberculosis - Electron transport chain - Inhibitors - Drug discovery.

**SP37 - Antibactériens, antiviraux : nouvelles cibles, nouveaux inhibiteurs****SP37-O.2**

Antimicrobiens

**Antiviraux de nouvelle génération ciblant l'import nucléaire du VIH**Nathalie Arhel (nathalie.arhel@irim.cnrs.fr)*Equipe VTRIS (Traffic viral, Restriction et Immunité innée), Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, Castelnau-Le-Lez, France*

Il existe aujourd'hui de nombreux antirétroviraux ciblant différentes étapes du cycle du virus de l'immunodéficience humaine (VIH), et qui, combinés, permettent de réprimer de manière efficace sa réplication. Cependant, la prise quotidienne de médicaments tout au long de la vie entraîne des défauts d'observance, et plusieurs entreprises pharmaceutiques tentent actuellement d'identifier des antiviraux à longue durée d'action, voire curatifs.

La capsid du VIH-1 (CA) est une cible thérapeutique attractive car, contrairement aux autres molécules antirétrovirales qui ciblent des étapes précises du cycle de réplication, les inhibiteurs de capsid ciblent multiples étapes, en raison de son rôle essentiel dans les phases aussi bien précoces que tardives (1, 2).

Nous avons identifié une protéine cellulaire, appelée transportine-1 ou TRN-1, qui transporte CA dans le noyau (3). En utilisant des mutants de TRN-1 et de CA, nous avons identifié les acides aminés qui sont importants à leur interaction et entrepris de rechercher des petites molécules capables de bloquer l'interaction entre CA et la transportine-1 en vue de déboucher sur un candidat médicament anti-VIH.

Nos travaux ont permis d'identifier une molécule antivirale, appelée H27, qui a un puissant effet antiviral sur le VIH-1. H27 et ses analogues ne ciblent pas la rétrotranscription (et donc ne constituent pas un inhibiteur non-nucléosidique de la RT), mais bloquent l'import nucléaire. Aucune différence n'a été notée en fonction du mode d'entrée du virus dans la cellule, que ce soit par endocytose (pseudotypage VSV-G), ou par fusion en utilisant les co-récepteur CXCR4 ou CCR5. La molécule H27 inhibe la réplication virale avec une IC50 de 0.5-1  $\mu$ M en lignées cellulaires et cellules T primaires infectées par le VIH-1. La concentration maximale non toxique est estimée bien supérieure à 100  $\mu$ M, car cette concentration réduit la viabilité de 20% seulement au bout de 5 jours de traitement en lymphocytes T primaires. Des expériences de temps d'addition et de fenêtre d'action indiquent qu'elle agit après la rétrotranscription et bloque à la fois l'entrée dans le noyau et la décapsidation. Nos travaux ont ainsi permis d'identifier un antiviral au mécanisme nouveau qui cible l'import nucléaire du VIH.

**Mots clés :** Anti-viral - VIH - Import nucléaire.

## Références :

1. Campbell, E.M., and Hope, T.J. (2015). HIV-1 capsid: the multifaceted key player in HIV-1 infection. *Nat Rev Microbiol* 13, 471-483.
2. Carnes SK, Sheehan JH, Aiken C. (2018). Inhibitors of the HIV-1 capsid, a target of opportunity. *Curr Opin HIV AIDS* 13: 359-65.
3. Fernandez J, Machado AK, Lyonnais S, Chamontin C, Gärtner K, Léger T, Henriquet C, Garcia C, Portilho DM, Pugnère M, Chaloin L, Muriaux D, Yamauchi Y, Blaise M, Nisole S, Arhel NJ. (2019). Transportin-1 binds to the HIV-1 capsid via a nuclear localization signal and triggers uncoating. *Nat Microbiol.* 4(11):1840-1850.

**SP37 - Antibactériens, antiviraux : nouvelles cibles, nouveaux inhibiteurs****SP37-1**

Antimicrobiens

**Utilisation de vésicules membranaires produites par *Lacticaseibacillus casei* pour prévenir la formation de biofilms de *Salmonella* Enteritidis**

David da Silva Barreira (david.da-silva-barreira@u-bourgogne.fr), Julie Laurent, Jessica Lourenço, Jean Guzzo, Aurélie Rieu

UMR PAM, Université de Bourgogne, Dijon, France

**Introduction et objectifs :**

Le bacille à Gram négatif *Salmonella enterica* sérovar Enteritidis est à l'origine de la majorité des cas de salmonellose non typhique dans le monde. Ces bactéries se caractérisent depuis les 10 dernières années par une augmentation de la résistance aux traitements antimicrobiens conventionnels. La formation de biofilms par les salmonelles est un élément majeur de l'acquisition et de la dissémination de résistances. C'est pourquoi il est urgent de trouver des solutions permettant de prévenir la formation et d'éliminer les biofilms aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que dans le monde médical.

L'utilisation des propriétés antagonistes de certains lactobacilles afin de lutter contre la formation des biofilms est une approche peu explorée qui présente de nombreux avantages. Les lactobacilles sont une famille de bacilles à Gram positif très diversifiée regroupant notamment des bactéries du microbiote intestinal ainsi que des bactéries utilisées dans les procédés industriels de fermentation agroalimentaire. Comme tous les organismes vivants, les lactobacilles produisent des vésicules membranaires (MVs) qui sont des nanostructures de 20 à 400 nm de diamètre délimitées par une membrane lipidique. Ces vésicules peuvent contenir divers constituants cellulaires et sont reconnues pour exercer de multiples fonctions.

Dans ce travail, nous avons étudié l'impact des vésicules membranaires libérées par *Lacticaseibacillus casei* dans la formation du biofilm de *S. Enteritidis*.

**Matériels et méthodes :**

Les MVs libérées par *L. casei* dans le surnageant de culture ont été purifiées et leur impact sur la formation de biofilms de *S. Enteritidis* en microplaques de polystyrène a été analysé par coloration au cristal violet.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nos résultats mettent en évidence la diminution significative de la formation de biofilm de *S. Enteritidis* en présence des MVs produites par *L. casei*. De plus, ce travail montre que les MVs affectent les étapes précoces de la formation du biofilm en prévenant l'adhésion des bactéries à la surface des microplaques. Le traitement par les vésicules offre une alternative séduisante au traitement par les bactéries entières. À l'avenir, les MVs libérées par *L. casei* pourraient être un outil de prévention efficace dans la lutte contre les biofilms de *S. Enteritidis*.

**Mots clés :** Biofilms - Vésicules membranaires - *Salmonella enterica* - *Lacticaseibacillus casei*.

## SP37 - Antibactériens, antiviraux : nouvelles cibles, nouveaux inhibiteurs

SP37-2

Antimicrobiens

**Container material dictates stability of bacteriophage suspensions: Light scattering and infectivity measurements reveal mechanisms of infectious titre decay**Pierre Marcoux<sup>1</sup> (pierre.marcoux@cea.fr), Larry O'Connell<sup>1,2</sup>, Yoann Roupioz<sup>3</sup><sup>1</sup> LETI/DTBS, CEA, Grenoble, France<sup>2</sup> IRIG/SyMMES, Univ. Grenoble Alpes, Grenoble, France<sup>3</sup> IRIG/SyMMES, CNRS, Grenoble, France**Aims:**

The stability of phage suspensions has become a crucial topic in phage therapy as exposure to common labware can lead to a drastic reduction of bacteriophage infectious titre on timescales ranging from days to mere hours. Three mechanisms can cause the observed infectious titre losses: adsorption onto labware surfaces, virion aggregation in the aqueous phase and finally virus inactivation. To investigate these mechanisms, the infectious titre (IT) decay rate was measured for various bacteriophages as a function of storage container material. Additionally, parallel light scattering and infectious titre measurements reveal distinct mechanisms for IT loss, depending on phage.

**Methods and Results:**

Suspensions of bacteriophages 44AHJD, P68 and gh-1 were stored in various labware. IT of each suspension was repeatedly measured over the course of 2 weeks. Large variability in IT decay was observed, with >4 log<sub>10</sub> loss in glass and low-binding polypropylene. Incubation of polymer containers with Bovine Serum Albumin (BSA) resulted in a consistent reduction in IT decay. [1] Aggregation state of phage suspensions was studied by nanoparticle tracking analysis (NTA), revealing highest aggregation in glass-stored suspensions and lowest after storage in BSA-treated containers.

**Conclusions:**

Glass and 'low-binding' containers may aggravate IT decay while BSA treatment may present an easy mitigation strategy. IT versus NTA titre diagrams highlight the importance of phage inactivation in combination with aggregation.

**Significance and impact of the study:**

Container material is a significant determinant of bacteriophage IT decay. It is therefore essential to confirm IT following storage and tailor choice of phage storage containers accordingly. Aggregation of phages and adsorption onto labware surfaces are not only the mechanisms accounting for IT loss but also biological instability.

**Mots clés :** Phage therapy - Colloidal stability - Virus adsorption - Infectious titre - Nanoparticle tracking analysis.

**Références :**

1. O'Connell L, Roupioz Y, Marcoux PR, 2022, Journal of Applied Microbiology, 00, 1–15.
2. Angelidaki, I., Treu, L., Tsapekos, P., Luo, G., Campanaro, S., Wenzel, H., Kougias, P.G.: Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives. *Biotechnology Advances*. 36, 452–466 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.011>
3. Grimalt-Aleman, A., Łężyk, M., Kennes-Veiga, D.M., Skiadas, I.V., Gavala, H.N.: Enrichment of Mesophilic and Thermophilic Mixed Microbial Consortia for Syngas Biomethanation: The Role of Kinetic and Thermodynamic Competition. *Waste Biomass Valor.* (2019). <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00595-z>
4. Rafrafi, Y., Laguillaumie, L., Figueras, J., Dumas, C.: Correction to: Biological Methanation of H<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> with Mixed Cultures: Current Advances, Hurdles and Challenges. *Waste Biomass Valor.* 12, 5283–5283 (2021). <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01346-9>

**SP38 - Adaptation et persistance microbienne au cours des infections chroniques****SP38-O.1**

Clinique

**Capacités adaptatives des pathogènes opportunistes d'origine environnementale et persistance au cours de la mucoviscidose**Hélène Marchandin<sup>1,2</sup> (helene.marchandin@umontpellier.fr)<sup>1</sup> Service de microbiologie et hygiène hospitalière, CHU de Nîmes, Nîmes, France<sup>2</sup> Hydrosociences Montpellier, Equipe PHySE, Université de Montpellier, Montpellier, France**Contexte :**

La mucoviscidose est une maladie génétique s'accompagnant d'une dysfonction au niveau du tractus respiratoire favorisant la survenue de colonisations/infections microbiennes pouvant devenir chroniques. La persistance bactérienne alors observée s'accompagne de nombreuses modifications adaptatives des bactéries concernées.

**Microorganismes d'origine environnementale et mucoviscidose :**

Les pathogènes opportunistes identifiés dans ce contexte sont, pour la plupart, d'origine environnementale, le plus souvent hydrique, et ont donc un mode de vie libre. Le plus connu est *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) mais certains pathogènes sont actuellement considérés comme émergents comme *Stenotrophomonas maltophilia* (*Sm*) et les bactéries du genre *Achromobacter* (*Ac*). Après la primo-colonisation, la persistance au niveau pulmonaire qui représente une niche écologique étroite et soumise à de nombreuses pressions de sélection biotiques et abiotiques, nécessite la mise en œuvre de stratégies adaptatives indispensables au maintien des pathogènes dans le tractus respiratoire des patients.

**Capacités adaptatives :**

Ces stratégies adaptatives sont multiples. Très étudiées pour *Pa*, elles ont plus récemment été décryptées pour *Sm* et *Ac* qui partagent des traits physiopathologiques avec *Pa*. Les modifications adaptatives observées au cours de la persistance comprennent des modifications génétiques (accumulation de mutations, hypermutation) et génomiques (délétions, insertions et réarrangements génomiques) qui sous-tendent de nombreuses modifications métaboliques et phénotypiques : apparition de phénotype mucoïde, de variants à petites colonies (formes de persistance intracellulaire), de bactéries résistantes/multi-résistantes aux antibiotiques, modification de la capacité à former du biofilm. La communication et les interactions s'établissant entre les différents microorganismes présents peuvent également favoriser leur persistance. Enfin, au cours des infections chroniques, des colonisations complexes sont observées impliquant de nombreux variants aux caractéristiques distinctes au sein d'une espèce donnée. Ces variants vont conférer à la population bactérienne dans son ensemble une capacité de réponse accrue aux fluctuations environnementales, la survie de certains variants dans des conditions environnantes données assurant une dynamique compensatoire permettant à la population de se reconstituer et de persister dans l'arbre respiratoire.

**Conclusion :**

Les capacités d'adaptation des pathogènes opportunistes d'origine environnementale leur permettent de coloniser chroniquement le tractus respiratoire des patients malgré les tentatives d'éradication mises en œuvre. Une meilleure connaissance de ces processus d'adaptation pourrait soutenir le développement de nouvelles stratégies anti-infectieuses.

**Mots clés :** Mucoviscidose - Pathogènes opportunistes - Adaptation - Persistance.

## SP38 - Adaptation et persistance microbienne au cours des infections chroniques

SP38-1

Clinique

**Within-host microevolution of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii***

Léa Bednarczuk<sup>1,2</sup> (lea.bednarczuk@univ-lyon1.fr), Alexandre Chassard<sup>1,2</sup>, Suzana Salcedo<sup>3</sup>, Julie Plantade<sup>1</sup>, Xavier Charpentier<sup>1</sup>, Maria-Halima Laaberki<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Equipe Transferts horizontaux de gènes et bactéries pathogènes, Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Villeurbanne, France

<sup>2</sup> VetAgro Sup, Marcy-L'Étoile, France

<sup>3</sup> Institut de Biologie et Chimie des Protéines (IBCP), Lyon, France

**Introduction and Objectives:**

*Acinetobacter baumannii* is a causative agent of nosocomial infections in humans and animals and is characterized by an increasing incidence of multidrug resistance. *Acinetobacter baumannii* is responsible for a wide range of infections including urinary tract infections (UTI). Little is known about genomic changes during colonization without antibiotic pressure and thereby host-driven evolution. Here we use whole-genome sequencing to investigate within-host microevolution during a subclinical long-term UTI.

**Materials and Methods:**

VetAgro Sup laboratory (69280 Marcy-l'Étoile, France) gave us access to several *Acinetobacter baumannii* strains isolated from a cat with UTI over a five-year period. The genome of each isolate was whole sequenced using long read (Nanopore Technology) and short read sequencing (Illumina). The genomes were assembled with Unicycler and annotated with Prokka. Single nucleotide Polymorphisms (SNP) and gaps of the late isolates, in comparison to the first one, were called using SNIPPY and MAUVE respectively. The most variable genes and the functional categories to which they belong have been identified and the associated phenotypes have been compared among the isolates.

**Results, Discussion and Conclusion:**

During this 5 years-UTI, the infection is surprisingly monophyletic with very few variations in genome sizes and nucleotide sequences. More than 80% of the SNPs are located in genic regions and are non-synonymous. Genes that are affected by SNPs, insertion or deletion are implicated in adhesion, biofilm formation, cell division and antibiotic resistance.

Immediately after the onset of infection, the host received two colistin treatments which failed to eliminate the bacteria. Thereafter, no further antibiotic treatment was attempted for the next five years. The antibiotic resistance increased in the two next years and then seems to wane probably in order to give way to other survival strategies. Despite that adhesion and biofilm genes were affected, all the isolates produce almost the same amount of biofilm on abiotic surfaces with little diversity in biofilm architecture. We hypothesize that adhesion and biofilm formation genes accumulate variations during the infection because they encode adhesive and highly immunogenic structures at the surface of the cells, and modification of these structures could lead to host immune escaping.

**Mots clés :** Within-host microevolution - *Acinetobacter baumannii* - Bacterial adhesion - Biofilm - Antibiotic resistance.



## SP38 - Adaptation et persistance microbienne au cours des infections chroniques

SP38-2

Clinique

**Caractérisation des persisters intracellulaires de *Staphylococcus aureus* : Ressuscitation, Localisation et *Small Colony Variants***

Florian C. Marro<sup>1,2</sup> (florian.marro@evotec.com), Jacques Brocard<sup>3</sup>, Frédéric Laurent<sup>2,4</sup>, Ariel J. Blocker<sup>1</sup>, Jérôme Josse<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> Evotec ID Lyon, In Vitro Biology, Infectious Diseases and Antibacterials Unit, Lyon, France

<sup>2</sup> CIRI - Centre International de Recherche en Infectiologie, Inserm U1111, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, Univ Lyon, UCBL, Lyon, France

<sup>3</sup> Platim, SFR Bioscience, Univ Lyon, ENS de Lyon, Inserm, CNRS, US8 UAR3444, UCBL, Lyon, France

<sup>4</sup> CRIOAc Lyon, www.crioac-lyon.fr, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Introduction et objectifs :**

*Staphylococcus aureus* peut être internalisé par les ostéoblastes et favoriser la chronicisation des infections ostéo-articulaires. A l'aide de microscopie automatisée en temps-réel, nous avons précédemment démontré que les persisters intraostéoblastiques (sous-population tolérant transitoirement une pression antibiotique sans présenter de résistance) sont non ou lentement répliatifs. Dans la poursuite de ce travail, les objectifs sont de caractériser ces persisters en étudiant (i) leurs capacités de ressuscitation *in vitro* et *in cellulo*, (ii) la proportion de *small colony variants* (SCV), (iii) leur localisation intraostéoblastique.

**Matériels et méthodes :**

La souche *S. aureus* SH1000 exprimant constitutivement la GFP et marqué à l'eFluor450 (dont l'intensité de fluorescence est divisée par 2 à chaque répliation) a été utilisé pour infecter les ostéoblastes. Les bactéries intracellulaires sont traitées ou non à la rifampicine, inhibant les répliations rapides et enrichissant les persisters, puis à :

- 6h post-infection, la rifampicine est retirée, les cellules infectées sont suivies en microscopie automatisée.
- 1h et 24h post-infection les bactéries intracellulaires sont récupérées et étalées sur géloses. L'aire des colonies est cinétiquement suivie.
- 1h, 6h et 24h post-infection les cellules infectées sont analysés quantitativement par microscopie électronique à transmission pour déterminer la localisation des staphylocoques.

**Résultats et conclusion :**

Le retrait de la rifampicine a montré que les persisters maintiennent leur état non ou lentement répliatif *in cellulo* alors que collectés et étalés sur gélose ils possèdent la capacité de former des colonies, démontrant leur viabilité. L'aire de ces colonies est significativement plus faible que celle des staphylocoques intracellulaires non traités alors que la proportion de SCV au cours du temps est similaire. De plus, les persisters sont principalement contenu dans une vacuole serrée à simple membrane.

Ainsi, les persisters intracellulaires de *S. aureus* après traitement à la rifampicine (i) sont viables et ressuscitent uniquement en dehors des ostéoblastes, (ii) ont un retard de croissance global sur gélose et un pourcentage de SCV identique en comparaison avec la condition non traitée, (iii) sont principalement vacuolaire.

La connaissance de l'état répliatif et de la localisation des persisters combinés à la microscopie automatisée sera un outil précieux pour le développement de molécules anti-persisters.

**Mots clés :** *S. aureus* - Intraostéoblastique - Persisters - Etat répliatif - Small Colony Variants.

## SP38 - Adaptation et persistance microbienne au cours des infections chroniques

SP38-3

Clinique

***Staphylococcus aureus* biofilm in *in vitro* bone microenvironment model**

Fabien Lamret<sup>1</sup> (fabien.lamret@univ-reims.fr), Jennifer Varin-Simon<sup>1</sup>, Anaïs Lemaire<sup>1</sup>, Manon Lagoutte<sup>1</sup>, Marius Colin<sup>1,2</sup>, Sophie Gangloff<sup>1,2</sup>, Fany Reffuveille<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> EA 4691 BIOS, Université de Reims Champagne Ardenne, Reims, France

<sup>2</sup> UFR de Pharmacie, Université de Reims Champagne Ardenne, Reims, France

Bone and prosthesis infections often leads to chronic infection due to bacteria colonization on implant surface. The developing biofilm is dramatically influenced by the bone microenvironment but therapeutic approaches are not adapted to these specific features. In the present study, our objective was to develop an *in vitro* model using different supports prepared to mimic the periprosthetic environment.

We compared *Staphylococcus aureus* biofilm formation (bacterial adhesion by enumeration on agar, matrix production thanks to confocal microscopy and biofilm-related gene regulation by q-PCR) of two methicillin-sensitive (MSSA, CIP53.154 and SH1000) and one methicillin-resistant strain (MRSA, USA300) on a synthetic calcium phosphate coating, an exclusively mineral bone explant or a bone explant (mineral and organic parts).

The two MSSA strains adhered on the synthetic calcium phosphate coating ( $1.5 \times 10^5$  cells/mm<sup>2</sup>). This colonization was less important for USA300 ( $6 \times 10^4$  cells/mm<sup>2</sup>). The adhesion behavior of the three strains was identical on the mineral bone explant (between 3 and  $5 \times 10^4$  cells/mm<sup>2</sup>). Concerning the entire bone explant, USA300 have shown a higher capacity to adhere ( $1 \times 10^5$  cells/mm<sup>2</sup>) than the two other *S. aureus* (between 6 and  $8 \times 10^3$  cells/mm<sup>2</sup>).

In a second approach, we compared *S. aureus* adhesion on bone explant preserved by freezing with a different duration (<1 month; 1-6 months; > 6 months). Whereas the rate of adhesion per mm<sup>2</sup> was similar for USA300 strain, the number of adhered bacteria for both MSSA strains strongly increased with the bone explant time of preservation (around  $1 \times 10^2$ ,  $7 \times 10^3$  and  $3 \times 10^4$  cells/mm<sup>2</sup>, respectively to time preservation). Antibiotic contained bone explant due to prophylactic treatment of patients is still present in bone explant but degrades during freezing preservation over time.

Furthermore, the simultaneous presence of bone explant and fibronectin-coated titanium, mimicking an implanted prosthesis, was also found to increase the bacterial adhesion by 2-fold on bone explant. These results highlight the need for new biofilm models, more complex and representative of the infectious environment with adapted culture medium and presence of *in situ* supports in order to better evaluate therapeutic strategies on biofilm.

**Mots clés :** *Staphylococcus aureus* - Biofilm - Bone and prosthesis infection.

## SP38 - Adaptation et persistance microbienne au cours des infections chroniques

SP38-4

Clinique

**Vaccine-escape evolution of *Bordetella parapertussis***

Valérie Bouchez<sup>1,2</sup> (valerie.bouchez@pasteur.fr), Albert Moreno-Mingorance<sup>3,4</sup>, Alba Mir-Cros<sup>3,4</sup>, Annie Landier<sup>1,2</sup>, Nathalie Armatys<sup>1,2</sup>, Sophie Guillot<sup>1,2</sup>, Teresa Martín-Gómez<sup>3</sup>, Julie Toubiana<sup>1,2,5</sup>, Michael Weigand<sup>6</sup>, Ana Bento<sup>7</sup>, Juan José González-López<sup>3,4</sup>, Sylvain Brisse<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Unité Biodiversité et Epidémiologie des bactéries pathogènes, Institut Pasteur – Université Paris Cité, Paris, France

<sup>2</sup> National Reference Center for Whooping Cough and Other *Bordetella* Infections, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>3</sup> Department of Clinical Microbiology, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelone, Espagne

<sup>4</sup> Department of Genetics and Microbiology, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelone, Espagne

<sup>5</sup> Department of General Pediatrics and Pediatric Infectious Diseases, Université de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France

<sup>6</sup> Division of Bacterial Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, États-Unis

<sup>7</sup> School of Public Health, Indiana University, Bloomington, États-Unis

**Background:**

Vaccination against *Bordetella pertussis* (*Bp*) has strongly affected the recent evolution of this human respiratory pathogen and may have done so co-incidentally on *Bordetella parapertussis* (*Bpp*), which is phylogenetically, antigenically and biologically close to *Bp*.

**Aim:**

The aim of our study is to define the population diversity and evolutionary dynamics of human-isolated *Bpp* and investigate genomic signatures of escape from vaccination immunity against *Bp*.

**Methods:**

A total of 250 *Bpp* isolates were collected in France, the USA and Spain between 1937 and 2019, and their genomes were sequenced. The temporal evolution and population dynamics of *Bpp* sublineages and genes coding for *Bp* vaccine antigen homologs and other virulence determinants were investigated.

**Results:**

The evolutionary rate of *Bpp* was estimated at  $2.12 \times 10^{-7}$  substitutions per site-year-1, with a last common ancestor around 1877 [95% highest posterior density (HPD): 1865 -1889] and most 2014-2019 *Bpp* isolates (84% i.e. 79/94) had a last common ancestor around 1998. Strong signatures of positive selection were uncovered. The *bvgA-fhaB* intergenic region, upstream of the filamentous hemagglutinin antigen gene, displayed 6 substitutions, two of which became fixed in the 1950-1960s, suggesting progressive adaptation of *Bpp* to *Bp*-vaccinated human populations by a possible modulation of *fhaB* expression. As previously observed in *Bp*, strong selection towards pertactin deficiency was also evidenced, with 17 distinct genetic events leading to non-expression of this vaccine antigen. Of these, deletion  $\Delta G-1895$  was estimated to be occurred in 2005 and was observed in 73.8% (149/202) of post-2007 isolates. Other landmark evolutionary changes were uncovered, including in *dnt* and *ptID* genes for the dermonecrotic factor and a component of the pertussis toxin secretion apparatus, respectively.

**Conclusion:**

This work demonstrates evolution of genomic features of *Bpp* that are homologous to *Bp* antigens, showing parallelisms with *Bp* adaptation to vaccine driven population immunity and providing a striking example of bystander evolution driven by vaccination against another pathogen.

**Mots clés :** *Bordetella parapertussis* - Phylogenetic diversity - Vaccine driven evolution - Virulence factors.



Société Française  
de Microbiologie

# MICROBES 2022

17<sup>e</sup> Congrès National de la SFM



Au CORUM de MONTPELLIER

3 > 5  
Octobre

## RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES

## A-P Autres

A-P01

Autres

**New Retro-2.1 derivatives: broad-spectrum inhibitors with improved activities against Shigatoxins (Enterohemorrhagic *E. coli*), plant toxins and poxviruses**

Lucie Caramelle<sup>1</sup> (lucie.caramelle@cea.fr), Robin Vinck<sup>2</sup>, Robert Thai<sup>1</sup>, Peggy Barbe<sup>1</sup>, Mathilde Keck<sup>1</sup>, Daniel Gillet<sup>1</sup>, Jean-Christophe Cintrat<sup>2</sup>, Julien Barbier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Service d'Ingénierie Moléculaire pour la Santé (SIMoS), Université Paris-Saclay, CEA, INRAE, DMTS, Gif-sur-Yvette, France

<sup>2</sup> Service de Chimie Biorganique et de Marquage (SCBM), Université Paris-Saclay, CEA, INRAE, DMTS, Gif-sur-Yvette, France

**Introduction and Objectives:**

By HTS we identified Retro-2, an inhibitor of the intracellular retrograde transport used by ricin, a plant toxin. Retro-2 also confers protection against Shigatoxins (Stx) produced by enterohemorrhagic *E. coli* bacteria responsible for hemolytic and uremic syndrome (HUS), which can cause renal failure and neurological sequelae. There is currently no specific treatment and antibiotics are not recommended since they can increase the release of the toxins. Retro-2 also protects against several viruses including poxviruses. Retro-2 acts by perturbing the cycling of syntaxin-5 between the endoplasmic reticulum and the Golgi / early endosome interface.[1,2] (S)-Retro-2.1 is an optimized derivative with a EC50s ~ 25-50 nM against toxins [3,4] and poxviruses [5]. Unfortunately, its poor solubility impaired its *in vivo* evaluation. New derivatives were synthesized in order to improve the drugability of Retro-2.1.

**Materials and Methods:**

These new compounds were evaluated in a cellular assay against toxins (Stx1, Stx2, ricin and abrin). Since these toxins are ribosome inactivating proteins, we measured the incorporation of a radioactive amino acid to evaluate the protective capacity of the compounds. *In vitro* assays were also conducted against Vaccinia poxvirus (VACV). The best candidates were administered in mice to study their pharmacokinetic and biodistribution. The plasma and organ samples were then extracted and the compound concentration quantified by LC-MSMS analysis.

**Results, Discussion and Conclusion:**

We found antitoxin and antiviral activities in the nanomolar or even sub-nanomolar range with excellent selectivity indexes. Pharmacokinetic and toxicology studies showed a relative bioavailability in the micromolar range, up to 100-1000-fold the EC50s of the targeted pathogens, and no *in vivo* toxicity. Based on the *in vitro* data and the pharmacokinetic studies, the evaluation of the Retro-2.1 derivatives in animal models (VACV, ricin, Stx) will be performed.

**Mots clés :** Shigatoxins - HUS - VACV - Retro-2 derived inhibitors - Pharmacokinetic.

**Références :**

1. Stechmann B, Bai SK, Gobbo E, Lopez R, Merer G, Pinchard S, et al. 2010. Inhibition of retrograde transport protects mice from lethal ricin challenge. *Cell*. 141:23142.
2. Forrester A, Rathjen SJ, Daniela Garcia-Castillo M, Bachert C, Couhert A, Tepshi L, et al. 2020. Functional dissection of the retrograde Shiga toxin trafficking inhibitor Retro-2. *Nat Chem Biol*. 16:32736.
3. Noel R, Gupta N, Pons V, Goudet A, Garcia-Castillo MD, Michau A, et al. N-Methyldihydroquinazolinone derivatives of Retro-2 with enhanced efficacy against Shigatoxin. 2013. *Journal of Medicinal Chemistry*. 56:340413.
4. Gupta N, Pons V, Noël R, Buisson DA, Michau A, Johannes L, et al. (S)-N-Methyldihydroquinazolinones are the active enantiomers of Retro-2 derived compounds against toxins. 2014. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 5-947.
5. Harrison K, Haga IR, Jowers TP, Jasim S, Cintrat JC, Gillet D, et al. 2016. Vaccinia virus uses retromer-independent cellular retrograde transport pathways to facilitate the wrapping of intracellular mature virions during virus morphogenesis. *J Virol*. 90:1012032.

## A-P Autres

A-P02

Autres

**Mycobacterial monooxygenases: key actors for future antituberculosis strategies**Dimitri Leonelli (dimitri.leonelli@ipbs.fr)

IPBS, Toulouse, France

**Introduction:**

Mycobacterium tuberculosis is the etiological agent of tuberculosis (TB), one of the deadliest infectious diseases. The alarming health context coupled with the emergence of resistant M. tuberculosis strains highlights the urgent need to expand the range of anti-TB antibiotics. A subset of anti-TB drugs in use are prodrugs that require bioactivation by a class of M. tuberculosis enzymes called Baeyer-Villiger monooxygenases (BVMOs), which remain understudied.

**Material, Method and Results:**

To examine the prevalence and the molecular function of BVMOs in mycobacteria, we applied a comprehensive bioinformatic analysis that identified six BVMOs in M. tuberculosis, including Rv3083 (MymA), Rv3854c (EthA), Rv0565c, and Rv0892, which were selected for further characterization. Homology modeling and substrate docking analysis, performed on this subset, suggested that Rv0892 is closer to the cyclohexanone BVMO, while Rv0565c and EthA are structurally and functionally similar to MymA, which is by far the most prominent type I BVMO enzyme. Thanks to an unprecedented purification and assay optimization, biochemical studies confirmed that all four BVMOs display BV-oxygenation activity. We also showed that MymA displays a distinctive substrate preference that we further investigated by kinetic parameter determination and that correlates with *in silico* modeling.

**Conclusion and Discussion:**

We provide insights into distribution of BVMOs and the structural basis of their substrate profiling. These features ground the molecular basis for structure-function comprehension of the specificity in these enzymes and expand the repertoire of BVMOs with selective and/or overlapping activity for application in the context of improving anti-TB therapy. We also raise questions about their role in physiology and infection.

*Mots clés* : Mycobacterium tubersulosos - Monooxygenase - Bioactivation - Enzyme activity - Molecular modeling.

## A-P Autres

A-P03

Autres

**La plateforme GeT : des applications en génomique et transcriptomique pour l'étude des micro-organismes**

Nathalie Marsaud (nmarsaud@insa-toulouse.fr), Etienne Rifa, Delphine Labourdette

*TBI INSA Toulouse, Plateforme GeT-Biopuces, Toulouse, France*

GeT (<https://get.genotoul.fr>) est une plateforme technologique de pointe localisée à Toulouse et certifiée ISO9001 : 2015-NFX50:900. Elle met à disposition de la communauté scientifique publique et privée les outils et l'expertise dans les domaines de la génomique et de la transcriptomique. Elle a pour missions :

- Le service en séquençage nouvelle génération (NGS) haut débit ainsi que l'analyse bioinformatique et statistique de données biologiques;
- Le conseil et la formation;
- La recherche et le développement afin de procurer aux utilisateurs des méthodologies et des outils performants adaptés à leurs besoins spécifiques.

Les principaux champs d'applications de la plateforme sont la génomique, l'épigénétique, la métagénomique, la transcriptomique, l'étude des microARNs et l'analyse sur cellule unique. Nous disposons de nombreux outils tels que les séquenceurs de nouvelle génération (courts et longs fragments), les biopuces à ADN, la PCR en gouttelettes (digital droplet PCR) et un système microfluidique pour isoler des cellules uniques.

Grâce au savoir-faire de notre équipe pluridisciplinaire, nous vous accompagnons tout au long de la réalisation de vos projets depuis leur conception jusqu'à la mise à disposition des données brutes ou traitées. Dans le domaine de la microbiologie, nous réalisons le séquençage d'amplicons (16S, 18S, 28S, ITS) jusqu'à l'analyse complète des données avec le package rANOMALY (AmplicoN wOrkflow for Microbial Community AnaLYsis) [1]; le reséquençage de petits génomes (bactéries, levures) ainsi que le séquençage ARN avec ribodéplétion.

De nombreux partenaires académiques (INRAE, CNRS, INSERM, IFREMER...) et privés nous font confiance pour collaborer sur des projets de recherche fondamentale ou appliquée dans des domaines variés tels que la microbiologie, les biotechnologies, l'agroalimentaire, la santé et l'environnement.

*Mots clés* : Plateforme de services - Génomique - Transcriptomique - Microorganismes.

## Références :

1. Theil S, Rifa E. 2021. rANOMALY: AmplicoN wOrkflow for Microbial community AnaLYsis [version 1; peer review: 2 approved]. F1000Research. 10:7.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P01

**Etude des effets anti-résistance et anti-virulence de molécules antimicrobiennes sur des bactéries pathogènes à Gram positif**

Benjamin Baëtz<sup>1</sup> (benjamin.baetz@unicaen.fr), Abdelhakim Boudrioua<sup>2</sup>, Solenn Desmadril<sup>1</sup>, Axel Hartke<sup>1</sup>, Yanyan Li<sup>3</sup>, Caroline Giraud<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CBSA, Université de Caen Normandie, Caen, France

<sup>2</sup> IMIT, University of Tübingen, Tübingen, Allemagne

<sup>3</sup> MCAM, CNRS-MNHN, Paris, France

**Introduction et objectifs :**

Les Entérocoques et Staphylocoques sont responsables de nombreuses infections associées aux soins. Ces organismes présentent des résistances à divers antibiotiques dont la vancomycine. Ces Entérocoques et Staphylocoques résistants à la vancomycine (VRE et VRSA respectivement) laissent les patients avec peu d'options thérapeutiques. Dans ce contexte, deux molécules ayant un effet anti-résistance à la vancomycine chez les VRE et VRSA sont étudiées. Notre objectif est l'étude de l'efficacité de ces molécules en tant que traitement d'infections à VRE et VRSA.

**Matériels et méthodes :**

La méthode de détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) par microdilution a été utilisée pour tester l'activité anti-résistance à la vancomycine des molécules.

Le modèle animal *Galleria mellonella* a été utilisé pour obtenir la preuve de concept de l'efficacité du traitement combinant nos molécules et la vancomycine pour traiter une infection à VRE, ainsi que démontrer l'effet anti-virulence des molécules.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les tests effectués *in vitro* par CMI montrent que les molécules permettent de supprimer la résistance à la vancomycine des VRE et VRSA. *In vivo*, dans le modèle *Galleria mellonella*, la combinaison de nos molécules avec la vancomycine permet de traiter une infection à VRE tandis que la vancomycine seule est inefficace. L'exposition des bactéries aux molécules conduit à la perte de leur virulence dans le même modèle animal. Nos résultats démontrent que ces molécules ont le potentiel de devenir des médicaments utilisés dans le traitement d'infections à VRE et VRSA.

**Mots clés :** Microorganismes - Antibiotiques - Résistance - Antimicrobiens - VRE.



## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P02

***In vitro* and *in vivo* efficacy of NITD-916 against *Mycobacterium fortuitum***

Françoise Banères-Roquet<sup>1</sup> (francoise.roquet-baneres@irim.cnrs.fr), Matthéo Alcaraz<sup>1</sup>, Claire Hamela<sup>1</sup>, Jan Abendroth<sup>2,3</sup>, Thomas E. Edwards<sup>2,3</sup>, Laurent Kremer<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> UMR 9004, IRIM CNRS - UM, Montpellier, France

<sup>2</sup> UCB Biosciences, Bainbridge Island, USA

<sup>3</sup> Seattle Structural Genomics Center for Infectious Disease, Seattle, USA

<sup>4</sup> IRIM, INSERM, Montpellier, France

**Introduction and Objectives:**

*Mycobacterium fortuitum* is a rapidly-growing nontuberculous mycobacterium, which can cause skin and pulmonary infections. It is usually susceptible to various antibiotic classes both *in vitro* and in clinical practice. However, this microorganism is regarded as an important nosocomial pathogen worldwide owing to its increasing antibiotic resistance. Herein, we propose to describe the potential of NITD-916, originally described as a direct inhibitor of InhA in *Mycobacterium tuberculosis*, against *M. fortuitum*. We report here the *in vitro* and *in vivo* activity of NITD-916 and its mode of action in *M. fortuitum*.

**Material and Methods:**

The *in vitro* activity of NITD-916 was determined by measuring the minimal inhibitory concentration (MIC) against wild-type *M. fortuitum* and clinical isolates in different media. The *in vivo* activity of NITD-916 was assessed in a zebrafish model of infection. To describe its mode of action, spontaneous resistant mutants were selected, followed by sequencing of the *inhA* gene from *M. fortuitum* (*inhA*<sub>MFO</sub>). The effect on the mycolic acid profile was addressed by exposing *M. fortuitum* cultures to increasing concentrations of NITD-916 and labeling with [<sup>14</sup>C] acetate prior to lipid extraction and separation by thin layer chromatography. Finally, a crystallographic structure of InhA<sub>MFO</sub> bound to NITD-916 and NAD was determined.

**Results, Discussion and Conclusion:**

*M. fortuitum* clinical strains are highly susceptible to NITD-916 *in vitro* (MIC=0.039 µg/ml) although the kill kinetic experiments point out to a bacteriostatic effect. The treatment of infected zebrafish embryos with NITD-916 was correlated with significant increase in embryo survival and reduction in the bacterial burden. Sequencing *inhA*<sub>MFO</sub> from two highly resistant mutants revealed single point mutations in InhA<sub>MFO</sub> at position 96. That InhA<sub>MFO</sub> is the primary target of the compound was supported by a dose-dependent inhibition of *de novo* synthesis of mycolic acids in *M. fortuitum*. The crystal structure of InhA<sub>MFO</sub> in complex with NITD-916 and NAD was determined, confirming that NITD-916 is a direct inhibitor of InhA<sub>MFO</sub>. Future studies are required to test the activity of the compound in infected macrophages and in pre-clinical settings. These results suggest that NITD-916 has a therapeutic potential for the treatment of *M. fortuitum* infections.

**Mots clés :** *Mycobacterium fortuitum* - Antibiotic resistance - Zebrafish - InhA - Mycolic acid.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P03

**Structural and Biochemical studies of Eis-like *N*-acetyltransferases from *Nocardia* and their role in aminoglycosides modification**

Mickael Blaise (mickael.blaise@irim.cnrs.fr), Juliette Dimon

*IRIM-CNRS, Montpellier, France*

*Nocardia nova* is an opportunistic human pathogen that can infect the lungs and other body parts such as the brain or the skin. Treatment of *Nocardia* infections involved multiple antibiotics given for a long period. Antibiotic resistance to several classes of antibiotics has been reported in *Nocardia*, however, it remains poorly explored. *Nocardia nova* SH22a genome possesses two genes coding for Eis-like proteins. Eis proteins have been well characterized in mycobacteria and have been shown to confer Enhanced Intracellular Survival to mycobacteria that infect macrophages. Additionally, Eis proteins can acetylate a large set of aminoglycosides on their primary amine, which triggers their inactivation and drug resistance. The role of Eis has not been explored in *Nocardia*. We report here the biochemical and structural characterization of two Eis-like proteins from *Nocardia nova*.

The two purified enzymes are active *N*-acetyltransferases however they strongly differ in their substrate specificity. Eis1 cannot modify aminoglycoside and its activity is restricted to small compounds such as histamine. Eis2 is on the contrary very active with several aminoglycosides. To assess the molecular basis of this difference, we solved the crystal structure of the two enzymes. Eis1 and Eis2 are large homohexamer of 250 kDa. The structural analysis indicates that the two structures are overall very similar. However, the Eis1 active site volume is much smaller as compared with the one of Eis2 due to the presence of an extended loop between strands 9 and 10. This steric hindrance impairs the binding of aminoglycosides in Eis1 and restricts the access of the active site to only small substrates. The large volume of the Eis2 active site allows on the contrary access to large substrates such as aminoglycosides.

To conclude, the 3D structure and the kinetic analysis of Eis1 and Eis2 from *Nocardia*, highlight the reasons for the different substrate specificity. Our work suggests that Eis2 might be involved in aminoglycosides resistance in *N. nova* but further work is needed to confirm the roles of Eis1 and Eis2 in this bacterium.

**Mots clés :** *Nocardia* - Aminoglycosides resistance - Eis - *N*-acetyltransferase.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P04

**PHAGEinLYON - PHAG-ONE : Développement d'un procédé de production pharmaceutique de phages thérapeutiques anti-*Staphylococcus aureus***

Mathieu Medina<sup>1,2</sup> (mathieu.medina@chu-lyon.fr), Camille Kolenda<sup>1,2,3</sup>, Leslie Blazère<sup>1,2</sup>, Émilie Helluin<sup>1,2</sup>, Mélanie Bonhomme<sup>1,2</sup>, Tiphaine Roussel-Gaillard<sup>1,4</sup>, Patricia Simoes-Martins<sup>1,2,3</sup>, Anne Tristan<sup>1,2,3</sup>, Fabrice Piro<sup>5</sup>, Tristan Ferry<sup>2,4,6</sup>, Frédéric Laurent<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Institut des agents infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> Equipe Pathogénie des Staphylocoques, Centre International de Recherche en Infectiologie, Lyon, France

<sup>3</sup> Centre National des Staphylocoques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>4</sup> CRIOAc Lyon, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>5</sup> FRIPHARM, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>6</sup> Service des maladies infectieuses et tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Introduction :**

Les bactériophages, virus naturels des bactéries, connaissent un regain d'intérêt considérable pour lutter contre l'émergence inexorable des bactéries multi-résistantes. Au travers du programme PHAGEinLYON, les HCL ont décidé de développer une plateforme publique de phagothérapie. Les premiers travaux engagés, dans le cadre du projet PHAG-ONE, ont permis la constitution d'une banque de 17 phages anti-*Staphylococcus aureus*, puis la sélection de 3 premiers phages à haut potentiel thérapeutique. Une étape essentielle du développement de la phagothérapie est la maîtrise de la bioproduction incluant i) la maîtrise des risques associés à l'utilisation d'une souche bactérienne pour la production des phages (contamination potentielle des produits thérapeutiques par des facteurs de virulence/résistance ou des phages lysogéniques) ; ii) l'obtention de rendements de production adapté à une utilisation clinique des phages. Nous présentons ici le développement de ces procédés en accord avec les exigences réglementaires.

**Méthodes :**

i) Une sélection de souches de production candidates a été réalisée, par une approche *in silico*, au sein de la collection du Centre de Référence de Staphylocoques en excluant celles dont le génome contenait des gènes codant pour des facteurs de virulence/résistance majeurs ou des prophages. ii) Les rendements de production avec ces souches candidates ont été évalués pour identifier les conditions optimales de production (type de milieu, inoculum, durée d'incubation) compatibles avec un schéma de production pharmaceutique.

**Résultats :**

i) L'approche *in silico* a permis de sélectionner 6 souches de *Staphylococcus aureus* au sein d'une collection >2000 entités. Parmi celles-ci, seulement 3 ont données des rendements appropriés à une production pharmaceutique. ii) L'optimisation des conditions expérimentales a permis d'identifier un milieu, habituellement utilisé pour la production industrielle de protéines recombinantes, permettant la production à titre élevé (>1.10<sup>11</sup> PFU/mL) des 3 phages anti-*Staphylococcus aureus* sélectionnés en seulement 4 h.

**Conclusion :**

Nous rapportons le développement d'un ensemble de procédés de production de phages thérapeutiques, incluant pour les prochaines étapes la mise au point de contrôles qualité spécifiques pour démontrer la maîtrise des procédés et l'innocuité des préparations.

**Mots clés :** Phage therapy - *Staphylococcus aureus* - Bioproduction - Bactériophages.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P05

**Antimicrobial resistance and geographical distribution of *Staphylococcus* isolated from fish and sea water in the English Channel and North Sea**

Thomas Brauge<sup>1</sup> (thomas.brauge@anses.fr), Sylvain Trigueros<sup>1</sup>, Erwan Bourdonnais<sup>1</sup>, Pierre Cresson<sup>2</sup>, Sabine Debuiche<sup>1</sup>, Sophie Granier<sup>3</sup>, Graziella Midelet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory for food safety, Anses, Boulogne-sur-Mer, France

<sup>2</sup> Channel/North Sea fisheries laboratory, Ifremer, Boulogne-sur-Mer, France

<sup>3</sup> Fougères Laboratory, Anses, Fougères, France

**Aims:**

*Staphylococcus* is a major food safety issue. The marine environment is a source of food for humans and is subject to numerous anthropogenic discharges in which *Staphylococcus* may be found as well as antibiotic residues and antibiotic resistance genes. This can lead to the appearance of antimicrobial resistant (AMR) *Staphylococcus* strains. The objective of this study was to evaluate the occurrence and geographical distribution of AMR *Staphylococcus* strains in areas subject to heterogeneous human impacts and various environmental conditions by sampling seawater and food fish from the English Channel and North Sea sectors.

**Methods:**

We isolated and identified *Staphylococcus* community associated with 460 whiting (*Merlangius merlangus*) and 46 sea water samples from 46 areas mapping the English Channel and North Sea sectors. AMR was determined by disk diffusion, following the CLSI standards (CLSI, 2015). In addition, we collected the environment data and the anthropogenic influences (i.e. integration of riverine inputs, potentially carrying ARBs) may drive the occurrence of AMR *Staphylococcus*

**Results:**

Twelve coagulase positive *Staphylococcus* strains were identified and 100% of these strains showed at least one antibiotic resistance. Two hundred and thirty-three coagulase-negative *Staphylococcus* strains were identified and 53% had at least one antibiotic resistance. Seven Multi-drug resistant strains (MDR) were found (i.e. remaining to at least 3 classes of antibiotics). In these 7 strains, we identified the AMR genes that confirmed the phenotypic resistances data. We demonstrated that rivers had local influence, especially on the English coast, on the occurrence of AMR *Staphylococcus*. Moreover, the measurement of several marine environmental factors showed that turbidity or the phosphate concentration was involved in the occurrence of AMR *Staphylococcus*.

**Conclusions:**

These results showed for the first time the occurrence of antibiotic-resistant *Staphylococcus* in captured fish and their associated marine environment (seawater). This study also showed the importance of taking into account multiple parameters in addition to bacterial occurrence to study AMR in the marine environment, and paves the way for further research before developing monitoring plans.

**Mots clés :** Antimicrobial resistance - fish - North Sea - *Staphylococcus* - Antibiotic.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P06

Antimicrobial activity of silver-containing surfaces on *Listeria monocytogenes* biofilm

Thomas Brauge (thomas.brauge@anses.fr), Guylaine Leleu, Anthony Colas, Sabine Debuiche, Graziella Midelet

Laboratory for food safety, Anses, Boulogne-sur-Mer, France

**Context:**

*Listeria monocytogenes* (Lm) is a foodborne pathogen that can persist on surfaces in food processing environments. The persistence of Lm could be due to its capacity to form biofilms. The complex, multicellular structure characteristic of biofilms could offer bacterial cells protection during cleaning and disinfection procedures. The objective of this study evaluated the antimicrobial activity of non-nanometric-sized silver ions encapsulated in smooth and hydrophobic surfaces on the formation of monospecies and mixed species Lm biofilm.

**Methods:**

Five surfaces containing non-nanometric-sized silver ions encapsulated or without silver ions were tested to prevent the mono species and mixed-species (with *Carnobacterium*) biofilms of Lm in conditions close to the seafood environment (culture at 8°C with the conditioning of the surfaces with salmon juice). After 24 hours of incubation, biofilms were observed by epifluorescence microscopy after live/dead staining. Quantification of viable cultivable (VC), viable (VC and viable but non-cultivable (VBNC)) and total (dead and viable) populations were performed by plate count agar, by qPCR coupled with propidium monoazide treatment and by qPCR, respectively.

**Results:**

Microscopic observations showed that biofilms grown on the surfaces containing silver ions with a density and architecture close to these carried out without silver ions. Quantification data confirmed that the VC, viable (VC and VBNC) and total (dead and viable) populations were in similar amounts on the surfaces containing or not silver ions.

**Conclusion:**

Under culture conditions tested, we didn't observed the effect of surfaces containing silver ions- to prevent the formation of monospecies and mixed Lm biofilms.

*Mots clés* : *Listeria monocytogenes* - Biofilm - Silver ions - Seafood - Food processing plant.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P07

Saturating the colistin resistance landscape of *Klebsiella pneumoniae*

Nicolas Cabanel (ncabanel@pasteur.fr), Guilhem Royer, Ninon Christol, Isabelle Rosinski-Chupin, Philippe Glaser

Ecologie et Evolution de la Résistance aux Antibiotiques, Institut Pasteur, Paris, France

**Context:**

Colistin is an old antibiotic, which was no longer used in humans because of its toxicity, but has become a last resort molecule against multi-drug resistant gram-negative bacilli. This cationic peptide has as “final” target the two bacterial membranes and as primary target the negative charges of the lipopolysaccharide (LPS). Resistance to colistin results mainly from the modification of the LPS phosphate groups by addition of phosphoethanolamine or aminoarabinose. LPS charge is regulated by four interconnected two-component systems: PhoPQ, PmrAB, CrrAB and QseBC. Colistin-resistant mutants in clinical isolates are altered in one of these systems and very frequently in the MgrB peptide which inhibits PhoP phosphorylation.

**Objective:**

We hypothesized that characterizing constitutively active colistin-resistant mutants would be a powerful approach to structure-function analysis of these four two-component systems and their interactions.

**Methods:**

Mutants were selected from three *Klebsiella pneumoniae* strains on LB Colistin 16 mg/ml and sequenced individually or in pools of ten. Mutations were identified using BRESEQ and an in-house script. Point mutations were positioned on the 3D structure of the proteins and MICs were determined in MH and LB media.

**Results:**

2071 mutants were analysed (320 individually and 1751 in pools) allowing to identify 160 different mutation events in *mgrB* (46 missenses), *phoPQ* (78 missenses), *crrAB* (32 missenses) and *qseBC* (4 missenses). *mgrB* was inactivated in c.a. 400 strains. 160 mutations were selected up to 20 times indicating that, under the experimental conditions used, we are approaching saturation. A majority of the mutations were also detected among 16000 publicly available genome sequences, likely leading to colistine resistance also. The structure and MIC analysis allows to define protein regions leading to constitutive activation of the LPS modification.

**Conclusion:**

The analysis of colistin resistance coupled with high throughput sequencing constitutes a powerful system for a fine structure function analysis of TCS regulations. It also allows to address theoretical aspects of mutagenesis such as Luria Delbruck fluctuation when several loci can be mutated or the phenotypic delay in the appearance of a resistance phenotype according to the mutated locus.

*Mots clés* : Colistin - Antibiotic resistance - Mutation - Two component system - Evolution.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P08

**Etude des mécanismes de résistance croisée à la colistine et au NOSO-502 chez les clusters XI et XII du complexe *Enterobacter cloacae***

Vincent Cattoir<sup>1</sup> (vincent.cattoir@chu-rennes.fr), Lucile Pantel<sup>2</sup>, François Guérin<sup>1</sup>, Marine Serri<sup>2</sup>, François Gravey<sup>3</sup>, Jessica Houard<sup>2</sup>, Kelly Laurent<sup>2</sup>, Emilie Racine<sup>2</sup>, Maxime Gualtieri<sup>2</sup>

<sup>1</sup> CHU de Rennes, Rennes, France

<sup>2</sup> Nosopharm, Nîmes, France

<sup>3</sup> CHU de Caen, Caen, France

**Objectif et introduction :**

NOSO-502 (dérivé des odilorhabdines) présente une activité antibactérienne contre les entérobactéries, y compris les souches productrices de carbapénémases et la plupart des souches résistantes à la colistine (COS). Parmi les clusters du complexe *Enterobacter cloacae* (CEC), plusieurs présentent une hétérorésistance naturelle (HR) à la COS mais rien n'est connu sur la sensibilité au NOSO-502. Le but de ce travail a donc été d'évaluer l'activité *in vitro* du NOSO-502 sur un panel d'isolats cliniques appartenant aux différents clusters du CEC, d'étudier les mécanismes de résistance associés et d'analyser *in silico* l'organisation des gènes impliqués dans la résistance.

**Matériels et méthodes :**

Une collection de 24 souches cliniques uniques représentatives des différents clusters du CEC (C-I à C-XII) et la souche de référence ATCC13047 (C-XI) ont été étudiées. Les CMI de NOSO-502 et de la COS ont été déterminées par microdilution. Pour l'analyse mécanistique, plusieurs mutants ont été obtenus à partir de la souche ATCC13047. La distance génomique entre 1066 génomes de CEC a été évaluée à l'aide de l'algorithme du triangle de Mash.

**Résultats :**

Parmi les 25 souches, les clusters C-I à C-X présentait des CMI du NOSO-502 comprises entre 1 et 2 mg/L. Seules les souches appartenant aux clusters XI et XII présentait une résistance à la fois à la COS (CMI = 128-256 mg/L) et au NOSO-502 (CMI de 128-256 et 8 mg/L, respectivement). L'analyse phénotypique des différents mutants a permis de montrer l'importance du système à 2 composants CrrAB impliqué dans la surexpression de la pompe d'efflux KexD responsable de la résistance au NOSO-502, et du transporteur CrrC dans l'HR à la COS. L'analyse *in silico* des 1066 génomes a montré une organisation hautement conservée des gènes *crrAB*, *crrC* et *kexD* dans les génomes des souches C-XI et C-XII.

**Conclusion :**

Le NOSO-502 a une excellente activité *in vitro* contre les souches cliniques appartenant au CEC. Seuls les isolats appartenant aux clusters XI et XII, rarement impliqués dans les infections humaines, présentent une sensibilité réduite au NOSO-502.

**Mots clés :** CEC - Odilorhabdines - Polymyxines - KexD.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P09

**Combining a Phage/Arbuscular Mycorrhizal Fungi-based protective formulation against the plant pathogen *Xanthomonas hortorum* pv. *vitians***

Fernando Clavijo-Coppens<sup>1</sup> (fernando.clavijo-coppens@bactolytix.com), Nicolas Taveau<sup>1</sup>, Denis Costechareyre<sup>1</sup>, Robin Duponnois<sup>2</sup>

<sup>1</sup> GREENPHAGE, Clapiers, France

<sup>2</sup> CIRAD - UMR Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LST&M), Montpellier, France

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is one of the most popular vegetables worldwide, and bacterial leaf spot (BLS) and headrot caused by *Xanthomonas hortorum* pv. *vitians* (*Xhv*) places a major constraint on lettuce production. Moreover, *Xhv* has become a preoccupying threat for lettuce producers over the last decades in the absence of efficient means to control the disease. Currently, copper sulphate-based treatments (Bordeaux mixture) can be used for *Xhv* early prevention. Unfortunately, the application of copper compounds and other agrochemicals has a strong environmental impact, and is often related to the appearance of bacterial resistance/tolerance.

The major challenges associated to control plant pathogenic bacteria stem from the fact that plant production is carried out in an extremely hostile environment, presenting biotic and abiotic factors that may impair phage persistence. In order to maximize phage effectiveness on crop productions, phage quality and stability, association with protective microorganisms has been proposed. The aim of this project is to design innovative root inoculum for lettuce plants, combining the bio-fertilizing properties of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and bio-protective of bacteriophages specific to the phytopathogenic bacterium *Xhv*.

In our studies, we isolated four bacteriophage active on *Xhv* and we selected *Xhv*-Phage4, the best virulent candidate to further characterization. We demonstrate that *Xhv*-Phage4 is stable at 20°C for at least 5 weeks on *in vitro* conditions. In addition, AMF/*Xhv*-Phage4 association does not inhibit phage stability and protects the phage against UV inactivation after 5 weeks of UV-exposure.

The implementation of a AMF/phage-based association on *in planta* conditions is ongoing. The reported AMF/phage association represent an attractive product for the biocontrol against plant pathogenic bacteria. Moreover, This product will be compatible with Organic and Conventional Agriculture

The present study is supported by Montpellier University of Excellence (MUSE) project.

**Mots clés :** Bacteriophage - Biocontrol-Formulation - Arbuscular Mycorrhizal Fungi - *Xanthomonas* - Bacterial Leaf Spot.



## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P10

***Staphylococcus aureus* under Gentamicin Stress: the dichotomy between Small Colony Variants Emergence and Biofilm Formation?**

Marius Colin (maris.colin@univ-reims.fr), Maëliiss Laurent, Charlène Coquisart, Fabien Lamret, Fany Reffuveille, Sophie Gangloff

EA 4691 Biomatériaux et Inflammation en Site Osseux (BIOS), Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

While around 1% of osteoarticular prosthesis implantations lead to prosthetic joint infection (PJI), the eradication of the infection and involves heavy and expensive therapies including 1- or 2-times replacement of the prosthesis and antibiotic therapy. Still, relapses occur in 10% to 50% of the cases. Persistence of bacteria in bone sites despite medical care are described arise as a concerning problem. *Staphylococcus aureus* is the most prevalent pathogen involved in PJI, and is able to form biofilm to persist at bone/prosthesis interface. On another side, relapsing infections are also linked to the presence of Small Colony Variants (SCVs), described as slow-growing colonies with increased tolerance toward antibiotics. The link between SCVs and biofilm formation has not been clearly identified yet. Thus, the aim of this study was to investigate on this relation by following both these mechanisms in *S. aureus*. Two *S. aureus* strains (CIP 53154 and ATCC 49230) were cultured in well plates in presence of a range of gentamicin concentrations in modified Tryptic Soy Broth. Biofilm biomass in wells was revealed by crystal violet staining. Bacteria from planktonic phase (PP) and biofilm phase (BP) were enumerated on agar. SCVs were discriminated from Wild Type (WT) by the area of the colony (at least ten-time smaller than WT from control without gentamicin). Both strains responded similarly to gentamicin, with Minimum Inhibitory Concentration at 32 µg/mL. Surviving bacteria were recovered and cultured from both PP and BP at 64 and 128 µg/mL. Biofilm biomass was observed in wells with 32 µg/mL and 64 µg/mL. Growing gentamicin concentrations induced a progressive predominance of BP and an increase of SCVs percentage in both phases. At above-MIC concentration, SCVs consistently represented 99-100% of total colonies in PP, but the proportion was highly variable in BP with a global decrease at 128 µg/mL. Bacteria derived from SCVs are currently tested for their abilities to tolerate gentamicin and to form biofilm, in comparison to WT.

This study highlights that biofilm and SCVs are conjointly triggered by gentamicin stress. The proportion of SCVs related bacteria in biofilm seems driven by factors that need to be unraveled.

**Mots clés :** *Staphylococcus aureus* - Small Colony Variant - Biofilm - Gentamicin - Persistent infections.

## Références :

1. Lamret, F., Colin, M., Mongaret, C., Gangloff, S. C., & Reffuveille, F. (2020). Antibiotic tolerance of *Staphylococcus aureus* biofilm in periprosthetic joint infections and antibiofilm strategies. *Antibiotics*, 9(9), 547.
2. Loss, G., Simões, P. M., Valour, F., Cortês, M. F., Gonzaga, L., Bergot, M., ... & Laurent, F. (2019). *Staphylococcus aureus* small colony variants (SCVs): news from a chronic infection. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 363.nic prosthetic joi.
3. Kahl, B. C., Becker, K., & Löffler, B. (2016). Clinical significance and pathogenesis of staphylococcal small colony variants in persistent infections. *Clinical microbiology reviews*, 29(2), 401-427.
4. Lamret, F., Varin-Simon, J., Velard, F., Terryn, C., Mongaret, C., Colin, M., ... & Reffuveille, F. (2021). *Staphylococcus aureus* strain-dependent biofilm formation in bone-like environment. *Frontiers in microbiology*, 2426.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P11

**Les éléments génétiques mobiles chez les *Staphylococcus aureus* d'origine animale, la clé pour ouvrir les portes de la multi-résistance**Rachel Contarin<sup>1,2</sup> (rachel.contarin@inrae.fr), Antoine Drapeau<sup>2</sup>, Marisa Haenni<sup>2</sup>, Emilie Dordet-Frisoni<sup>1</sup><sup>1</sup> INTHERES, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, Toulouse, France<sup>2</sup> Unité Antibiorésistance et Virulence Bactérienne, Agence Nationale de Sécurité Sanitaire (ANSES)-Université de Lyon, Lyon, France

*Staphylococcus aureus* est une bactérie commensale et un pathogène opportuniste majeur de l'Homme et de l'animal qui peut présenter de nombreuses résistances aux antibiotiques. Sa capacité à acquérir des gènes de résistances aux antibiotiques (GRA) est étroitement associée à la grande proportion d'éléments génétiques mobiles (EGM) présents dans son génome (entre 15 à 20%) et à son aptitude à échanger du matériel génétique avec son environnement. A ce jour, peu de données sur la diversité des EGM porteurs de GRA sont disponibles chez les *S. aureus* d'origine animale, et leur impact sur la dissémination de l'antibiorésistance est peu documenté.

Dans les bases de données NCBI, 1257 génomes de *S. aureus* d'origine animale (sur 1424 génomes extraits), remplissant les critères de qualité d'assemblage ont été analysés *in silico*. L'identification des GRA et des EGM a été réalisée par ResFinder [1] et MEFinder [2,3]. Après une analyse experte des données obtenues avec ces différents outils, une cartographie exhaustive des liens existants entre les différents EGM, GRA et hôtes a pu être établie.

L'analyse des génomes de *S. aureus* a permis d'identifier 45 GRA et 106 EGM différents. La diversité des GRA et des EGM n'est pas homogène en fonction des hôtes, avec au maximum 9 EGM par souche chez les *S. aureus* aviaires et 9 GRA par souche chez les *S. aureus* porcins. Malgré cette hétérogénéité, nous avons observé une corrélation positive entre le nombre de GRA et d'EGM, en particulier les plasmides et les transposons, présents dans les génomes.

L'analyse des associations entre EGM et GRA a montré que 35% des GRA sont associés à des EGM selon 113 combinaisons GRA/EGM différentes. Les GRA sont majoritairement présents sur des plasmides (62%) et des transposons (37%, 2% d'entre eux étant associés à des plasmides).

La diversité des EGM et la prédominance des associations GRA/plasmides confirment que les EGM ont un rôle clé dans la transmission de la multi-résistance chez les *S. aureus* d'origine animale. Il est donc essentiel de mieux caractériser les mécanismes de transmission de ces éléments pour comprendre et éventuellement maîtriser la dissémination de l'antibiorésistance chez ce pathogène majeur.

**Mots clés :** *Staphylococcus aureus* - Élément Génétique Mobile - Dissémination antibiorésistance - Analyse bio-informatique.

## Références :

1. Bortolaia, V., Kaas, R. S., Ruppe, E., Roberts, M. C., Schwarz, S., Cattoir, V., Philippon, A., Allesoe, R. L., Rebelo, A. R., Florensa, A. F., Fagelhauer, L., Chakraborty, T., Neumann, B., Werner, G., Bender, J. K., Stingl, K., Nguyen, M., Coppens, J., Xavier, B. B., Malhotra-Kumar, S., ... Aarestrup, F. M. (2020). ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 75(12), 3491–3500
2. Johansson, M., Bortolaia, V., Tansirichaiya, S., Aarestrup, F. M., Roberts, A. P., & Petersen, T. N. (2021). Detection of mobile genetic elements associated with antibiotic resistance in *Salmonella enterica* using a newly developed web tool: MobileElementFinder. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 76(1), 101–109
3. Carattoli, A., Zankari, E., García-Fernández, A., Voldby Larsen, M., Lund, O., Villa, L., Møller Aarestrup, F., & Hasman, H. (2014). In silico detection and typing of plasmids using PlasmidFinder and plasmid multilocus sequence typing. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(7), 3895–3903

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P12

**Exploration du potentiel d'une bactériocine de bactérie commensale : ingénierie d'un système cryptique**

Solenn Desmadril<sup>1</sup> (solenn.desmadril@unicaen.fr), Benjamin Baëtz<sup>1</sup>, Benoît Bernay<sup>2</sup>, Axel Hartke<sup>1</sup>, Yanyan Li<sup>3</sup>, Caroline Giraud<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CBSA, Université de Caen Normandie, Caen, France

<sup>2</sup> SFR ICORE - Plateforme Proteogen, Université de Caen Normandie, Caen, France

<sup>3</sup> MCAM, CNRS-MNHN, Paris, France

**Introduction et objectifs :**

L'augmentation alarmante du nombre de bactéries résistantes aux antibiotiques a fait de la découverte de nouvelles molécules antimicrobiennes un enjeu majeur de la recherche.

Un cluster de biosynthèse d'une potentielle bactériocine a été identifié par genome mining chez des souches commensales d'*Enterococcus faecalis*. L'organisation de ce cluster semble indiquer une toxicité du peptide mature pour *E. faecalis* puisqu'on trouve un système d'immunité et une maturation du peptide couplée à son export. Ce peptide pourrait donc être utilisé comme potentielle molécule antimicrobienne contre les entérocoques résistants à la vancomycine (VRE) en alternative aux antibiotiques actuels.

Cependant, l'opéron n'est pas exprimé en conditions de laboratoire et est contrôlé par un système à deux composants (TCS) dont l'inducteur est inconnu. Cela constitue un verrou technologique majeur à surmonter.

**Matériel et méthodes :**

Des approches de biologie moléculaire ont été mises en place afin d'obtenir une expression la plus proche possible d'une expression physiologique en présence de signal.

La première stratégie est d'activer artificiellement le système à deux composants contrôlant l'expression du cluster au moyen d'une mutation mimant l'activation du régulateur. La deuxième stratégie est de remplacer le promoteur régulé par le TCS par un promoteur constitutif.

L'efficacité de ces deux stratégies a été évaluée par des approches de RT-qPCRs, ainsi que par des analyses protéomiques par spectroscopie de masse.

Enfin, un des rôles du peptide a été étudié en observant son impact sur la virulence de la souche productrice dans le modèle animal *Galleria mellonella*.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les analyses par RT-qPCRs ont montré une augmentation de l'expression des gènes chez les souches modifiées, prouvant l'efficacité des deux stratégies mises en place. Cela a été confirmé par la détection des protéines cytoplasmiques codées par l'opéron lors de l'analyse protéomique. De plus, ces souches ont également permis de mettre en évidence un rôle du peptide dans la virulence de *E. faecalis* chez *Galleria mellonella*, ce qui renforce l'hypothèse que ce peptide procure un avantage compétitif à la bactérie productrice et son potentiel en tant que molécule antimicrobienne.

**Mots clés :** Microorganismes - Agent antimicrobien - Bactérie Commensale - Résistance - Ingénierie moléculaire.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P13

Impacts of abiotic conditions on the biocontrol of beneficial microorganisms against *Fusarium graminearum*

Cheikh Ahmeth Tidiane Dieye<sup>1</sup> (cheikhatdieye@gmail.com), Caroline Strub<sup>1</sup>, Angélique Fontana<sup>1</sup>, Sabine Galindo<sup>1</sup>, Noël Durand<sup>2</sup>, Charlie Poss<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UMR Qualisud, Univ Montpellier, Univ Avignon, CIRAD, Institut Agro, IRD, Montpellier, France

<sup>2</sup> CIRAD, UMR Qualisud, Montpellier, France. Qualisud, Univ Montpellier, Montpellier, France

Mycotoxins are toxic secondary metabolites synthesized by molds that contaminate many cereals, which are the primary source of consumer exposure. *Fusarium graminearum* is one of the main plant pathogens responsible for Fusarium head blight (FHB). It is known to produce deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZEN) belonging to the trichothecene class. Three commercial biological control agents (BCA): *Streptomyces griseoviridis*, *Trichoderma asperellum* and *Pythium oligandrum* have shown potential to inhibit growth and mycotoxigenesis of *F. graminearum* in direct *in vitro* tests. However, it should be noted that BCA, are often considered inefficient under certain environmental conditions. It could be caused by evolving climatic conditions favorable to the pathogens adaptation. Also, the predominance of *F. graminearum* is determined to a wider extent by climatic factors, in particular temperature and humidity, and can therefore change radically in different geographical areas. This makes it necessary to understand the impact of abiotic factors on the behavior of *F. graminearum* but also on the mechanisms of action of BCA against this pathogen. BCA are confronted with *F. graminearum* under different conditions mimicking different climates as well as climate change scenarios (Relative humidity, Temperature...). Pathogen and BCA were studied alone or confronted to see, the impact of abiotic conditions on their growth and on *F. graminearum* mycotoxinogenesis. Also their effect on the inhibition capacities of BCA against *F. graminearum*. The first results confirm the interest of our experimental design to study the impact of environmental conditions on the behavior of *F. graminearum* and BCA. Indeed, increasing temperature at 60% RH stimulate ZEN production and inhibit DON production, but it also favors all the BCA growth. Increasing RH at 25°C has no effect on the growth of *F. graminearum* but stimulates the production of DON. *Pythium oligandrum* inhibits 100% of DON production in all conditions which could be reveal that it uses several mechanisms at the same time. The mechanisms of interactions are being studied using several approaches: research of different enzymatic activities (chitinase, glucanase...), targeted metabolomics... Biomarkers will be identified to improve our knowledge on the mechanisms of action of BCA to make them more efficient and sustainable.

**Mots clés :** *F. graminearum* - BCA - Biocontrol - Mycotoxins - Climate change.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P14

**Impact de l'usage des huiles essentielles sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans les poumons des patients atteints de mucoviscidose**Eline Dubois<sup>1</sup> (eline.dubois@univ-fcomte.fr), Patrick Plésiat<sup>1</sup>, Anne Doléans-Jordheim<sup>2</sup>, Catherine Llanes<sup>1</sup><sup>1</sup> UMR 6249 Chrono-Environnement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Besançon, France<sup>2</sup> UMR CNRS 5557 Ecologie Microbienne, Université Lyon 1, Villeurbanne, France**Introduction et objectifs :**

Aujourd'hui, l'utilisation d'huiles essentielles (HEs) à visée anti-infectieuse est une pratique répandue. Près de 30% des patients atteints de mucoviscidose (CF, *cystic fibrosis*) et dont les poumons sont colonisés de façon chronique par la bactérie pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa*, ont recours à ces traitements alternatifs en complément des antibiotiques. Certains de ces composés naturels ont pourtant une action antagoniste à celle des antibiotiques. En effet, ils activent chez la souche de référence *P. aeruginosa* PA14 la production de pompes à efflux qui rejettent les antibiotiques dans le milieu extracellulaire. Pour évaluer leur effet dans un contexte clinique, nous avons mesuré l'activité de ces composés sur la résistance aux antibiotiques de souches CF et leur impact sur des co-cultures avec *Staphylococcus aureus*, un autre pathogène régulièrement isolé dans le poumon CF.

**Matériels et méthodes :**

Les souches de *P. aeruginosa* et de *S. aureus* ont été isolées de patients CF des CHU de Besançon et de Lyon à différents stades de la maladie (primo-colonisation, colonisation chronique et post-greffe). Des antibiogrammes ont permis de comparer la sensibilité aux antibiotiques avec et sans extraits d'HEs. Des co-cultures calibrées *P. aeruginosa* / *S. aureus* ont été suivies au cours du temps avec et sans composés extraits d'HEs ; les ensemencements ont été effectués sur milieux sélectifs *Pseudomonas Isolation Agar* et Chapman de façon à dénombrer les deux espèces.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nos premiers résultats montrent que les extraits d'HEs majoritairement consommées par les patients ont des effets très différents sur la résistance aux antibiotiques des souches de *P. aeruginosa* CF : certains (carvacrol, cinnamaldéhyde, terpinen-4-ol) induisent de la résistance par efflux chez des souches sensibles, alors que d'autres rendent hypersensibles des souches résistantes, probablement en raison d'altérations membranaires. Les expériences de co-cultures montrent que les HEs perturbent les équilibres microbiens entre *P. aeruginosa* et *S. aureus* en faveur de *P. aeruginosa*. Nous travaillons actuellement pour déterminer si la plus grande adaptation des souches isolées tardivement au cours de la maladie est un facteur pouvant expliquer ces différences.

**Mots clés :** *Pseudomonas aeruginosa* - Mucoviscidose - Huiles essentielles - Résistance aux antibiotiques.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P15

**A carbapenem-resistant *Citrobacter farmeri* outbreak in an intensive care hematology department due to a persistent environmental reservoir in a university hospital, France, 2019-2022**

Marie Regad<sup>1</sup> (m.regad@chru-nancy.fr), Anais Colas<sup>1</sup>, Julie Lizon<sup>1</sup>, Alain Lozniewski<sup>2</sup>, Pierre Feugier<sup>3</sup>, Arnaud Florentin<sup>1</sup>, présenté par Vincent Faivre<sup>1</sup>

<sup>1</sup> EOH, CHRU Nancy, Nancy, France

<sup>2</sup> Laboratoire de microbiologie, CHRU Nancy, Nancy, France

<sup>3</sup> Hématologie, CHRU Nancy, Nancy, France

The hematology intensive care unit faced a prolonged outbreak of carbapenemase-producing *Citrobacter farmeri*, a microorganism that had never been previously identified in our institution. The purpose of this work is to share the experience of a multidrug resistant organism's management outbreak due to a persistent environmental contamination. Six cases were colonized and one presented a clinical infection that led to the patient's death.

The two first cases were discovered in April 2019 (weekly rectal screenings). No secondary cases were detected. The only point patients had in common was that they had been in the same room four months apart. Patients who stayed in the room between the two cases were screened: four negative and one patient positive identified in May 2019. Between August 2019 and February 2022, four new cases (three colonized and one infected) were discovered, all admitted in the same room. Several environmental investigations have been carried out: in September 2019, September 2021 and February 2022. *C. farmeri* OXA-48 was identified in surfaces samples: shower and sink's siphons, toilet and vertical sink and shower drain. Molecular analysis showed that all the positive isolates (environmental and rectal swabs between 2019, 2021 and 2022) belonged to the same clone. We also performed a case-control study to identify risk factors associated with *C. farmeri* OXA-48 acquisition in the room.

Despite the environmental disinfection measures between each cases : intensive cleaning programme (descaling and bleaching), hygienic siphons and toilet replacement ; the strain persisted for months in the drain's system; which resulted strains' transmission to naive patients.

**Mots clés :** Outbreak management - Multidrug resistant organism - Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae - Environment contamination.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P16

**Contribution de la céphalosporinase ADC à la résistance au céfidérol ou aux carbapénèmes chez *Acinetobacter baumannii***

Susie Gaillot<sup>1</sup> (susie.gaillot@edu.univ-fcomte.fr), Salomé Kiener<sup>1</sup>, Maxime Bour<sup>2</sup>, Patrick Plésiat<sup>1</sup>, Katy Jeannot<sup>1,2</sup>, Anaïs Potron<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> UMR 6249, équipe de Bactériologie, Université de Franche-Comté, Besançon, France

<sup>2</sup> CNR Résistance aux antibiotiques, CHU de Besançon, Besançon, France

Agent pathogène opportuniste, *Acinetobacter baumannii* est connu pour sa capacité à accumuler de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques. Néanmoins, ses mécanismes de résistance intrinsèques tels que la céphalosporinase ADC (*Acinetobacter Derived-Cephalosporinase*) ont fait l'objet de peu de travaux. Au cours de cette étude, nous avons évalué la contribution de la surproduction de variants de l'enzyme ADC sur la sensibilité aux beta-lactamines incluant le céfidérol.

Onze souches cliniques, dont le profil de résistance aux antibiotiques était compatible avec la surproduction d'un variant d'ADC (ceftazidime > 256 mg/L), ont été sélectionnées. Les 11 gènes *bla*ADC sélectionnés ont été amplifiés et clonés dans le vecteur pABEC en aval du promoteur de la séquence d'insertion IS*Aba*1. Les plasmides recombinants ont été transformés dans la souche de référence *A. baumannii* CIP 70.10 délétée du gène *bla*ADC. Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de la ticarcilline, du céfépime, du céfotaxime, de la ceftazidime, de la pipéracilline/tazobactam, du méropénème, de l'imipénème et du céfidérol ont été déterminées par la méthode de microdilution en milieu liquide dans un milieu de Mueller Hinton (MH), à l'exception de celles du céfidérol qui ont été mesurées dans un milieu de MH déplété en fer selon les recommandations de l'EUCAST 2022.

La surproduction des 11 variants de ADC chez la souche CIP70.10 a conduit à une augmentation significative des CMI de la ticarcilline, du céfépime, du céfotaxime, de la ceftazidime et de l'association pipéracilline/tazobactam. Par ailleurs, la surproduction de trois variants d'ADC, qui partagent une substitution commune dans la boucle oméga, possédaient un haut niveau de résistance au céfépime (CMI égale à 512 µg/ml). De façon intéressante, une diminution de 8-fois de la sensibilité au méropénème a été observée pour deux de ces variants, suggérant une possible activité carbapénémase d'ADC. Enfin, comme cela a été suggéré chez *P. aeruginosa*, la sensibilité au céfidérol était diminuée de 4 fois chez trois souches recombinantes portant plusieurs substitutions dans la boucle oméga. Ces résultats soulignent l'importance des mécanismes de résistance intrinsèques dans la diminution de la sensibilité aux antibiotiques y compris les carbapénèmes et le céfidérol, aujourd'hui utilisés comme antibiotiques de derniers recours.

**Mots clés :** *Acinetobacter baumannii* - ADC - Résistance - Carbapénèmes - Céfidérol.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P17

**La pompe à efflux AcrAB confère une multirésistance intrinsèque aux antimicrobiens et une auto-protection contre les stilbènes chez *Photorhabdus laumondii***

Alain Givaudan<sup>1</sup> (alain.givaudan@umontpellier.fr), Linda Hadchity<sup>2,3</sup>, Anne Lanois<sup>1</sup>, Jessica Houard<sup>4</sup>, Maxime Gualtieri<sup>4</sup>, Ziad Abi Khattar<sup>3</sup>

<sup>1</sup> DGIMI UMR1333 UM-INRAe, INRAe, Montpellier, France

<sup>2</sup> DGIMI UMR1333 UM-INRAe, Université Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> Géoresources, Géosciences et Environnement (L2GE), Université Libanaise (UL), Fanar, Liban

<sup>4</sup> Nosopharm, Nosopharm, Nimes, France

**Introduction et objectif :**

*Photorhabdus laumondii*, de par son cycle de vie, représente un excellent modèle d'étude des interactions hôte-pathogène. En effet, cette bactérie entretient une relation mutualiste avec des nématodes entomopathogènes tout en étant pathogène pour les larves d'insectes. Ces interactions amènent *Photorhabdus* à synthétiser entre autres, divers métabolites secondaires dont certains sont des antimicrobiens comme les stilbènes et les pigments d'anthraquinone de la famille des polykétides. Comment *Photorhabdus* se protège contre ses propres métabolites demeure une question ouverte. Dans cette étude, nous avons caractérisé les trois pompes de type « Resistance-Nodulation-Division » (RND) MdtABC, AcrAB et AcrAB-like codées par le génome de *P. laumondii* TT01. Les pompes de type RND sont la cause majeure de la multirésistance des bactéries à Gram-négatif.

**Matériels, méthodes et résultats :**

Des mutants de délétion des gènes codant ces pompes ont été construits chez *P. laumondii* TT01. Des analyses phénotypiques, transcriptionnelles et chromatographiques ont été réalisées pour caractériser les souches mutantes. Nous avons ainsi montré qu'AcrAB est la principale pompe RND qui confère une multirésistance chez *P. laumondii*, car seuls les mutants  $\Delta acrA$  et  $\Delta mdtA\Delta acrA$  ont montré une sensibilité accrue à différentes substances antimicrobiennes. De plus, le fait que les gènes *acrAB* soit exprimés *in vitro*, *in vivo* et dans le cadavre des insectes, suggère que cette pompe pourrait être impliquée dans la résistance de *P. laumondii* aux différents stress rencontrés dans ce microhabitat.

La souche sauvage (WT) présente une activité antimicrobienne contre son propre mutant  $\Delta acrA$ . Nous avons démontré que cette observation est liée aux dérivés du stilbène dont ceux naturellement produit par *Photorhabdus*. En effet, le mutant  $\Delta acrA$  est beaucoup plus sensible que la « WT » à ces composés et en parallèle produit beaucoup moins de stilbènes dans son surnageant. De plus, nous avons démontré que la production d'anthraquinones par  $\Delta acrA$  a été significativement réduite, ce qui explique la faible pigmentation de ses colonies par rapport à celles de la « WT » typiquement teintées en jaune.

**Conclusion :**

Ces résultats suggèrent qu'AcrAB confère une auto-protection par efflux aux stilbènes et contribue à la pigmentation par les anthraquinones chez *P. laumondii* TT01.

**Mots clés :** AcrAB - *Photorhabdus laumondii* - Stilbènes - Auto-protection - Multidrug-resistance.

**Références :**

1. Hadchity, L., Lanois, A., Kiwan, P., Nassar, F., Givaudan, A., Khattar, Z.A. Environmental Microbiology Reports. 2021. Volume 13, Pages 637-648.



## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P18

**Complete genome sequence of ciprofloxacin-resistant *Salmonella* Kentucky ST198 strains from chicken carcass in Tunisia**

Sonia Ktari<sup>1</sup> (sonia\_ktari2002@yahoo.fr), Boutheina Ksibi<sup>1</sup>, Mohamed salah Abbassi<sup>2</sup>, Simon Le Hello<sup>3</sup>, Adnene Hammami<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Research Laboratory Microorganisms and Human Disease, University of Sfax, Medical School of Sfax, Sfax, Tunisie

<sup>2</sup> Univeristy of Tunis El Manar, Tunisian Institute of Veterinary Research, Tunis, Tunisie

<sup>3</sup> Group de Recherche sur l'Adaptation Microbienne (GRAM 2.0), Normandie Univ, UNIC, Caen, France

<sup>4</sup> Research Laboratory Microorganisms and Human Disease, Habib Bourguiba University Hospital, Medical School of Sfax, Sfax, Tunisie

**Background and Aim:**

*Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 has been emerged worldwide. It is a causative agent of salmonellosis that most often associated with consumption of contaminated poultry products. We report the complete genome sequence of two *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 strains isolated from chicken carcass.

**Materials and Methods:**

Two *Salmonella* Kentucky ST198 isolates from chicken carcass were recovered in 2009 and 2013. WGS was performed using Illumina nextseq500. The Illumina paired-end reads were mapped to the *Salmonella* Kentucky (GenBank, CP028357). Genes encoding antimicrobial resistance, virulence factors, and cgMLST were investigated *in silico* using ResFinder, pMLST Finder 2.0, SPIFinder 2.0, and cgMLST Finder 1.0 tools, available at the Center for Genomic Epidemiology server.

**Results, Discussion, and Conclusion:**

Genome assemblies consisted of several contigs with a total length of about 4.8 Mbp, and an average GC content of ~52%. These isolates were assigned to the same cgMLST pattern (cgST 114690). A total of 53 SNPs were identified. Pairwise SNP differences between these two strains is 2 and with *Salmonella* Kentucky reference strain CP028357 is 25/27 SNPs. WGS analysis revealed that isolates carried the *bla*<sub>TEM-1B</sub> and *tetA* genes associated with resistance to ampicillin and tetracycline, respectively. The antimicrobial resistance gene results showed that ciprofloxacin resistance in the two strains is associated with double mutations in GyrA (Ser83Phe and Asp87Asn) and two ParC substitutions (Ser 80Ile and Thr57Ser). Both strains contained replicon belonging to the Inc11 group as well as to the sequence type 25 (ST25) according to the pMLST analysis. Interestingly, the two strains lacked the *Salmonella* genomic island; however, both of them carried the same seven *Salmonella* pathogenicity islands (SPI-1–5, 9 and centisome 63 [C63PI]).

These genome sequences provide useful data on the genomic features associated with virulence and antimicrobial resistance in *S. Kentucky* ST198. Poultry remain an important vehicle for human infection by antimicrobial resistant *Salmonella* isolates. Continued surveillance and appropriate control measures should be implemented to limit the spread of this strain.

**Mots clés :** Salmonella Kentucky - ST198 - Chicken - Ciprofloxacin-resistant - Genomics.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P19

**Administration d'oxytétracycline et sélection de résistance dans les différents segments digestifs : détermination des concentrations minimales sélectives et impact sur le microbiote et le résistome chez le porc**

Pedro Henrique Imazaki (pedro.imazaki@envt.fr), Bertille Voisin, Clémentine De Smet, Nathalie Arpaillange, Alain Bousquet-Mélou, Aude Ferran, Delphine Bibbal

INTHERES, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, Toulouse, France

**Introduction et objectifs :**

Après administration par voie orale, une fraction de l'antibiotique présent dans le tube digestif est liée au contenu digestif. Les concentrations actives exercent néanmoins une pression de sélection sur le microbiote favorisant la sélection de résistances. Le premier objectif de cette étude était de déterminer la concentration minimale sélective (CMS) de l'oxytétracycline (OTC), la CMS étant la plus faible concentration d'antibiotique conférant un avantage compétitif à une souche résistante vis-à-vis d'une souche isogénique sensible. Le deuxième objectif a été de caractériser l'impact de l'administration de l'OTC sur le microbiote et le résistome des différents segments digestifs du porc.

**Matériels et méthodes :**

Des co-cultures d'une souche d'*Escherichia coli* sensible à l'OTC et d'une souche isogénique résistante ont été réalisées en présence de différentes concentrations d'OTC dans du bouillon Muller-Hinton (BMH) et dans des contenus intestinaux stérilisés (CIS) du jéjunum, du cæcum et du rectum. Ces souches ont été dénombrées à différents temps, permettant de calculer le coefficient de sélection à chaque concentration d'OTC et, par extrapolation, la CMS [1]. Ultérieurement, une dose thérapeutique d'OTC (20 mg/kg p.v.) a été administrée par voie orale à huit porcelets. Les contenus de six segments digestifs, du duodénum au rectum, ont été récoltés 6 ( $n = 4$ ) et 24 heures ( $n = 4$ ) après traitement. Le groupe témoin était constitué de quatre animaux non traités. Des gènes de résistance aux tétracyclines ont été quantifiés par qPCR. La diversité microbienne a été évaluée par séquençage de la région V3-V4 du gène codant l'ARNr 16S.

**Résultats, discussion et conclusion :**

La CMS a été mesurée à 0,025 µg/mL dans le BMH, et en augmentation à 0,26, 0,72 et 2,4 µg/mL dans le jéjunum, le cæcum et le rectum. Le long du tractus digestif, la composition taxonomique du microbiote change et l'abondance des gènes de résistance augmente, mais le traitement antibiotique n'a pas eu d'impact sur le microbiote. Par la suite, l'OTC sera quantifiée par UPLC-UV pour déterminer les concentrations totales dans les différents segments digestifs. Les concentrations actives seront ensuite estimées à l'aide de courbes de bactéricidie réalisées dans du BMH et dans les CIS.

**Mots clés :** Oxytétracycline - Résistome - Porc - Microbiote.

**Références :**

1. Gullberg E, Cao S, Berg OG, Ilbäck C, Sandegren L, Hughes D, Andersson DI. 2011. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. PLOS Pathog. 7:e1002158.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P20

**Sensibilité des bacilles gram négatifs multi-résistants au céfidérocol**

Maryam Abid<sup>1</sup> (maryamabid@hotmail.fr), Nadège Lepine<sup>1</sup>, Marie-Frédérique Lartigue<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Unité de bactériologie et hygiène hospitalière, CHRU Tours - Site Trousseau, Chambray-lès-Tours, France

<sup>2</sup> INRAE, ISP, F-37000, Université Tours, Tours, France

**Objectif :**

Le céfidérocol est une nouvelle céphalosporine conjuguée à un sidérophore. Ainsi, il peut se lier au fer libre extracellulaire permettant un transport actif de l'antibiotique. De plus, ce sidérophore protège la molécule de l'activité hydrolytique de la plupart des  $\beta$ -lactamases. Grâce à ce nouveau mécanisme d'action, le céfidérocol pourrait être une alternative en cas d'impasse thérapeutique pour les bacilles gram négatifs multi-résistants.

Le but de cette étude est de déterminer la sensibilité des entérobactéries produisant des carbapénèmases, de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Stenotrophomonas maltophilia* multi-résistants au céfidérocol.

**Méthode :**

La sensibilité au céfidérocol a été étudiée à l'aide de disque chargé à 30 microgrammes et interprétée d'après les diamètres critiques du CASFM 2021. Vingt-cinq souches ont été testées : 10 souches de *P. aeruginosa* multi-résistants (résistant à la ceftazidime et à l'imipénème), huit souches d'entérobactéries productrices de carbapénémase (5 OXA-48 et 3 NDM) et sept souches de *S. maltophilia* résistant à la Ceftazidime ou à l'association Ticarcilline-acide clavulanique.

**Résultats :**

Vingt-et-une souches sur 25 (84%) étaient sensibles au céfidérocol :

- 80% des *P. aeruginosa*,
- 75% des entérobactéries productrices de carbapénèmases (une souche OXA-48 et une souche NDM présentaient une résistance au Céfidérocol)
- 100% des *S. maltophilia*

**Conclusion :**

Quatre-vingt-quatre pour cent des souches sélectionnées étaient sensibles au céfidérocol. Cette molécule pourrait donc être utilisée comme antibiotique de dernier recours dans le traitement des patients atteints d'infections à bactéries à Gram négatif multi-résistantes. Toutefois, cette étude a été réalisée sur un faible nombre de souches. Des tests complémentaires seront nécessaires pour confirmer ces résultats.

**Mots clés :** Céfidérocol - Multi-résistant - Carbapénémase.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P21

## Occurrence of indicator genes of antimicrobial resistance contamination in the North Sea and English Channel seawaters

Graziella Midelet<sup>1</sup> (graziella.midelet@anses.fr), Thomas Brauge<sup>1</sup>, Darina Colcanap<sup>1</sup>, Cédric Le Bris<sup>2</sup>, Erwan Bourdonnais<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Anses, Boulogne-sur-Mer, France

<sup>2</sup> ULCO, Boulogne-sur-Mer, France

Antimicrobial resistance is a major problem in public health, but also in animal and environmental health. The environment, and particularly water environment, is known as a natural reservoir of antimicrobial resistance genes (ARGs), and a route of exposure and transmission of these resistances to humans. Marine environment can be strongly subject to anthropogenic influences particularly near the coasts (wastewater treatment plant and river effluents) and in areas with important fishing activities and maritime traffic. Recently, indicators of environmental contamination by ARGs and mobile genetic elements have been proposed. In this study, we investigated the abundance and geographical distribution of four indicator genes (*tetA*, *blaTEM*, *sul1* and *int11*) in the English Channel and North Sea areas, and the interactions with environmental variables. Seawater samples were collected during an oceanographic campaign, filtered and bacterial DNA was extracted. The *tetA*, *blaTEM*, *sul1* and *int11* indicator genes were quantified by qPCR to assess the absolute abundance and normalized with the bacterial *tuf* gene to calculate the relative abundance. Possible correlations between the abundance of the genes and the environmental variables were determined. The *blaTEM* and *tetA* genes were quantified in 0% and 2.8% of samples, respectively. The *sul1* and *int11* genes were detected in 42% and 31% of samples, respectively, with an apparent co-occurrence in 19% of the samples confirmed by correlation analysis. The absolute abundance of these genes was correlated with the microbial population, with results similar to the relative abundance. We showed that the *sul1* and *int11* genes were positively correlated with dissolved oxygen and turbidity, while the microbial population was correlated with pH, temperature and salinity in addition to dissolved oxygen and turbidity. The three *tetA*, *sul1* and *int11* genes were quantified in the same sample with high abundances, and this sample was collected in the West Netherlands coast area. For the first time, we have shown the impact of anthropogenic inputs (rivers, man-made offshore structures, maritime activities) and environmental variables on the occurrence of three indicators of environmental contamination by antimicrobial resistance in the North Sea and English Channel seawaters.

**Mots clés :** Antimicrobial resistance - Water environment - Genes - qPCR.

## Références :

1. Bourdonnais, E. et al., 2022, Occurrence of Indicator Genes of Antimicrobial Resistance Contamination in the English Channel and North Sea Sectors and Interactions With Environmental Variables, *Frontiers in microbiology*, 13:883081.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P22

**Evidence of the transmission of resistance of enterobacteria to betalactamines between mothers and children in Brazzaville**

Rachel Moyen<sup>1</sup> (rmoyen@yahoo.fr), Saphia Jemylah Empilo Ndjawa Galekoua<sup>1</sup>, Jean Fabrice Yala<sup>2</sup>,  
Indra Roenate Bokatola Pea<sup>1</sup>, Tarcisse Baloki Ngoulou<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Biologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

<sup>2</sup> *Bacteriology Laboratory, Interdisciplinary Medical Research Center of Francevil, Faculté des Sciences, Université des Sciences et Techniques de MASUKU, Gabon, Franceville, Gabon*

Beta-lactams have always been used in many cases as first-line antibiotics in human medicine. The emergence of beta-lactamase-producing strains of Enterobacteriaceae is nowadays a public health problem. In order to demonstrate the transplacental transmission of enterobacteria resistance to beta-lactams between mothers and their children. Seventy-two (72) stool samples were collected from mothers and two-day-old newborns at the Talangaï referral hospital. Isolation of enterobacteria was done on selective media. Identification of beta-lactamase producing strains was performed by biochemical characteristics using API 20E strips. The resistance profile to carbapenems, monobactam and cephalosporins was performed by antibiogram. A total of 50 strains were purified and identified, of which 30 (60%) were isolated from the mother-newborn couple and 20 (40%) from the newborns. Among these strains, we identified in the mother-newborn group: 10 (33%) *Enterobacter* sp, 10 (33%) *Escherichia coli*, 6 (20%) *Klebsiella oxytoca*; 2 (7%) *Shigella* sp and 2 (7%) *Salmonella* sp. High resistance to carbapenems and cephalosporins was observed with *Shigella* sp. The other strains of enterobacteria isolated from newborns only, among which were identified: 7 (35%) *Escherichia coli*; 5 (25%) *Klebsiella oxytoca*; 5 (25%) *Enterobacter* sp, 3 (15%) *Shigella* sp. newborns without their mothers showed a variable resistance profile to the antibiotics tested. Three resistance phenotypes were observed in the mother-newborn group including: FEP PRL CL, FEP AMP MA CR ATM IMP ETP and FEP AMP CAZ MA CL ETP. The resistance phenotypes observed in the mothers were identical to those found in their respective offspring. These results show that each newborn is born with a rate of resistance acquired at birth, which testifies to a transplacental transmission between mother and child, consequence of the emergence of the resistance of enterobacteria to betalactamines in the Congolese population.

**Mots clés :** Bacteria - Transmission - Neonatal - Antibiotics - Resistance.

## Références :

1. Bonfanti P, Bellu R., Luigi P., Ilaria C., Cond M., (2017) Mother-to-child transmission of carbapenemase-producing KPC *Klebsiella pneumoniae* at birth, *The Pediatric Infectious Disease Journal*: - Volume 36 - Issue 2 - p 228-229.
2. Cecile O. (2015) Evolution of antibiotic resistance in enterobacteria isolated at Douala General Hospital (Cameroon). *The Pan African Medical Journal*, ;20 :227. doi:10.11604/pamj.2015.20.227.4770.
3. Gonsu Kanga H, Nzengang R, Toukam M, Sando Z, Shiro S. (2014): Resistance phenotypes of *Escherichia coli* strains responsible for community-acquired urinary tract infections in the city of Yaoundé, Cameroon. *Afr J Pathol Microbiol*. 2014 Jan;3:1-4.
4. Kone J, Bellahcen B, Awab A, El Moussaoui R, Alilou M, El Hijri A, Azzouzi A. (2016): Extended-spectrum beta-lactamase-secreting enterobacteria in urology at Ibn Sina Hospital in Rabat. *Rev Malienne d'Infectiologie Microbiol*. 2016 Aug;7:2-7.
5. Perlinot H.; (2018). Epidemiology and mother-to-child transmission of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteria (E-BLSE) in Madagascar; Université Paris-Saclay; 158p.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P23

Retour au progéniteur :  $bla_{\text{OXA-204}}$  et  $bla_{\text{NDM-1}}$  chez des *Shewanella* spp. en Tunisie

Sana Ncir<sup>1,2</sup> (sanancir@gmail.com), Agnese Lupo<sup>1</sup>, Antoine Drapeau<sup>1</sup>, Pierre Châtre<sup>1</sup>, Meriem Souguir<sup>1,2</sup>, Sana Azaiez<sup>2</sup>, Jean-Yves Madec<sup>1</sup>, Wejdene Mansour<sup>2</sup>, Marisa Haenni<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unité Antibiorésistance et Virulence Bactériennes, Université de Lyon – ANSES laboratoire de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Biophysique métabolique et Pharmacologie Appliquée (LR12ES02), Faculté de Médecine Ibn Al Jazzar Sousse, Sousse, Tunisie

**Introduction et objectifs :**

Les bactéries environnementales sont des progéniteurs des gènes conférant une résistance aux carbapénèmes. Le passage de ces gènes aux entérobactéries pathogènes constitue un problème majeur de santé publique. Bien que principalement présentes en milieu hospitalier, les carbapénémases sont aussi rapportées sporadiquement chez les animaux et dans l'environnement. Dans le cadre d'une étude visant à déterminer le degré de contamination de l'environnement hydrique tunisien par des bactéries multi-résistantes, nous avons isolé deux souches de *Shewanella* spp. résistantes aux carbapénèmes, qui ont été caractérisées finement sur le plan moléculaire.

**Matériels et méthodes :**

Des échantillons d'eau, collectés dans trois gouvernorats du Sahel tunisien entre novembre 2018 et janvier 2019, ont été inoculés sur des géloses MacConkey additionnées respectivement de 4 µg/ml de céfotaxime et d'imipénème. Après incubation 24 h à 37 °C, les deux colonies ayant poussé ont été repiquées et identifiées par galeries API 20E et API20NE. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les deux isolats ont été caractérisés par séquençage short-read (Illumina) et long-read (MinION).

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les deux souches de *Shewanella* spp. résistantes aux carbapénèmes appartenaient aux espèces *S. xiamenensis* et *S. bicestrii*, et portaient respectivement les gènes  $bla_{\text{OXA-204}}$  et  $bla_{\text{NDM-1}}$ . Ces deux gènes étaient portés par des plasmides rarement décrits dans la littérature, mais par contre localisés sur des transposons typiquement associés aux entérobactéries. Les bactéries environnementales sont des progéniteurs des carbapénémases, *Shewanella* spp étant le progéniteur des OXA-48-like. Mais l'environnement génétique observé ici suggère fortement la ré-acquisition de ces carbapénémases après passage par une autre espèce bactérienne. Cette étude montre que les gènes  $bla_{\text{OXA-204}}$  et  $bla_{\text{NDM-1}}$  très répandus en milieu hospitalier en Tunisie et également détectables dans les effluents, peuvent être véhiculés par des bactéries environnementales.

**Mots clés :** Carbapénémases - *Shewanella* - Tunisia - NDM-1 - OXA-204.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P24

**First description of Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamases and OXA-48 carbapenemase in *Enterobacteriaceae* isolates in Brazzaville, Congo**

Esther Nina Ontsira Ngoyi<sup>1</sup> (esther\_muller2003@yahoo.fr), Landry Mpelle<sup>2</sup>, Etienne Nguimbi<sup>2</sup>, Christian Aimé Kayath<sup>2</sup>, Jean-Marc Rolain<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Teaching Hospital University, Health Sciences Faculty, Marien NGOUABI University, Brazzaville, Congo-Brazzaville

<sup>2</sup> Faculty of Sciences and Technology, Marien NGOUABI University, Brazzaville, Congo-Brazzaville

<sup>3</sup> Unit research unit on infectious and tropical emerging diseases (URMITE), IHU Me, Marseille, France

**Introduction and Objective:**

To characterize genotypically ESBL and OXA-48 carbapenemases producing *Enterobacteriaceae* especially *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* and *Citrobacter* species in infection processes at CHUB.

**Materials and Methods:**

The study was carried out for 7 months in 2018. Clinical samples (urine, pus and blood cultures) were collected from inpatients and outpatients at the Brazzaville University Hospital. Strains were identified by API20E and confirmed by MALDI-TOF in research unit on infectious and tropical emerging diseases, Aix Marseille University.

Antibiotics susceptibility testing was performed on isolated strains by diffusion method on MH agar plates. ESBL and OXA-48 phenotypes were identified according to the CA-SFM synergy technique and by a decrease in inhibition diameter around the Ertapenem disk and confirmed by PCR and sequencing. MLST *K. pneumoniae* genotyping of OXA-48 strains was performed.

**Results, Discussion and Conclusion:**

Thirty-four no duplicate Enterobacteria strains were isolated from thirty-four patients, of which 12/34 (35.29%) were from outpatients and 22/34 (64.71%) from internal patients.

PCR revealed that 30 (88.24%) produced ESBLs, of which 2 strains harbors both ESBL and OXA-48 enzymes. *blaSHV* gene was the most common ESBL gene detected with 20/30 (66.67%), *blaCTX-M* was detected in 14 isolates (60.87%), *blaTEM* 15 (50%), *blaOXA-48* 2/30 (6.67%), *blaCTX-M-9* 1 (3.33%). 70% of the isolates (n=24) were isolated from urine samples.

Sequencing of the amplification products revealed that the *blaCTX-M1* strains were all CTX-M15; 13 variant enzymes were detected for *blaSHV*. Four types for TEM. Both strains OXA-48 were OXA-181 non-plasmid-borne and CTX-M-9 was CTX-M-27. These strains were resistant to gentamycin and fluoroquinolone. MLST *K. pneumoniae* OXA-48 showed two different standard sequences known in the ST464 and ST15 literature.

We report here for the first time in Congo Brazzaville, the presence of  $\beta$ -lactamase genes including *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX-M* and *blaOXA-48* genes at disturbing frequencies within *Enterobacteriaceae* strains at the Brazzaville University Hospital.

**Mots clés :** Enterobacteriaceae - Resistance - ESBL - Carbapénémase.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P25

**Impact de l'antiseptie cutanée sur la prévalence des gènes de résistance croisée antibiotique - antiseptique chez les *Staphylococcaceae***

Matthieu Boisson (maxime.pichon@univ-poitiers.fr), Christophe Burucoa, Gaël Rambault, Lila Couteau, Olivier Mimoz, [Maxime Pichon](#)

U1070 INSERM PHAR2, Université de Poitiers, Poitiers, France

**Introduction :**

Les dispositifs intravasculaires (DIV) sont la source de nombreuses infections (4 à 8% des bactériémies nosocomiales) limitées par la désinfection cutanée par antiseptiques tels que l'éthanol (OH), la chlorhexidine-alcoolique (CHG), la povidone-iodée-alcoolique (PVI) ou l'hypochlorite de sodium (DAK).

**Objectif :**

Evaluer chez *Staphylococcus* sp. isolés de DIV colonisés/infectés la présence de gènes de résistance croisée antibiotiques-antiseptiques en fonction de l'antiseptie utilisée.

**Méthodes :**

Pour cette étude ancillaire des études CLEAN, 154 souches isolées chez des patients consultant ou hospitalisés au CHU de Poitiers et dont l'antibiogramme a été réalisé ont été sélectionnées. La présence de gènes de résistance croisée précédemment décrits (*qacA/B*, *lmrS*, *norA*, *mepA*, *sepA*, *smr*) a été déterminée par PCR puis comparée statistiquement à l'aide du test de Fischer ou de Student selon la variable considérée.

**Résultats :**

Les gènes les plus fréquemment observés étaient *norA* (49%), *mepA* (30%), *qacA/B* (48%) et *lmrS* (34%). Le nombre de gènes de résistance était significativement plus élevé chez *S. aureus* en comparaison aux autres staphylocoques (3,44 vs.1,90 ;  $p<0,05$ ) avec une différence portant sur les gènes *mepA* et *lmrS* et l'association *qacA/B+sepA* (56% vs.29% ; 94% vs.27% ; 44% vs.14% ;  $p<0,05$ ). Si aucune différence significative n'a été observée en fonction de la concentration bactérienne d'isolement (seuil de  $10^3$  CFU/ml), les souches isolées après antiseptie par CHG présentaient significativement moins de gènes de résistance comparées à celles sélectionnées par les autres antiseptiques (un gène en moins sur les six testés ;  $p<0,05$ ) mais présentaient significativement plus de résistance à l'oxacilline, aux aminosides, aux quinolones et au cotrimoxazole ( $p<0,05$ ). *mepA* était significativement plus prévalent en cas de sélection par la PVI en comparaison au DAK(+/-OH) (57% vs. 29%) à l'inverse de *lmrS* (27% vs. 49% ;  $p<0,05$ ).

**Discussion :**

A l'inverse de la résistance phénotypique aux antibiotiques, les résultats suggèrent que, chez les *Staphylococcaceae*, la CHG sélectionne moins de souches avec des gènes de résistance croisée que les autres antiseptiques. Des études de plus grand effectif sont nécessaires pour évaluer cet impact sur d'autres souches d'intérêt clinique, à Gram positif mais aussi à Gram négatif comme les entérobactéries ou les *pseudomonaceae*.

**Mots clés :** Antiseptique - Gene Bacterien - Résistance Croisée - Antibiotique - Biologie moléculaire.



**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P26

**Impact d'une pré-exposition aux antiseptiques sur la résistance aux antibiotiques des bactéries responsables d'infections de voies veineuses périphériques**

Valentin Theneau<sup>1</sup> (maxime.pichon@univ-poitiers.fr), Noemie Prebonnaud<sup>1</sup>, Sandrine Marchand<sup>1</sup>, Julien Buyck<sup>1</sup>, Maxime Pichon<sup>2</sup>

<sup>1</sup> U1070 INSERM PHAR2, Université de Poitiers, Poitiers, France

<sup>2</sup> Ph, Uni, Poitiers, France

**Introduction :**

Les cathéters veineux, dispositifs médicaux implantés les plus utilisés en routine hospitalière, peuvent être colonisés/infectés par le microbiote cutané. Pour prévenir ces complications, l'utilisation des antiseptiques est recommandée (malgré une variabilité dans l'efficacité préventive et l'impact sur le microbiote). Certaines études suggèrent un lien entre exposition aux antiseptiques et émergence de l'antibiorésistance, restant à déterminer. Cette étude a pour objectif de déterminer l'efficacité et l'impact de ces antiseptiques (Chlorhexidine -CHG, Hypochlorite sodique -DAK, Polyvidone iodée -PVI et Éthanol -OH) sur des souches bactériennes de référence (*Escherichia coli*, EC-ATCC25922-, *Pseudomonas aeruginosa*, PAO1-ATCC15692-, *Staphylococcus aureus* Sensible à la Méricilline, SASM-ATCC29213- et résistant à la Méricilline, SARM-ATCC1026-).

**Méthodes :**

Les CMI/CMB aux différents antiseptiques de souches bactériennes a été déterminée avant réalisation de courbes de bactéricidies séquentielles (sTKC) permettant d'évaluer l'impact d'exposition successives. Au moyen de géloses contenant des antiseptiques, les bactéries à sensibilité diminuée ont pu être mise en évidence. Pour les souches exposées aux antiseptiques (concentration subinhibitrices) ou les souches de sensibilité diminuée, les antibiogrammes (microdilution ou diffusion) ont été réalisés et interprétés selon les recommandations du CA-SFM.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les sTKC ont montré une diminution de sensibilité aux antiseptiques lors du deuxième passage pour les couples EC-CHG, PAO1-CHG, SASM- PVI, EC-OH. Des bactéries de sensibilité diminuée ont pu être observées pour tous les couples antiseptiques - bactéries : i/avec CHG, en proportion majeure pour PAO1, et en proportion minoritaire pour les SAMS, SARM et EC et, ii/avec OH, DAK et PVI, en proportion majeure pour toutes les bactéries (portion croissante suivant les passages pour SARM et PVI). Les antibiogrammes réalisés ont montré une modification de la sensibilité aux bêtalactamines (dont carbapénèmes) pour le couple PAO1-CHG et EC-DAK tandis qu'aucune différence n'a pu être observée quel que soit l'antiseptique d'exposition pour les SASM/SARM. L'ensemble des données obtenues supporte l'émergence de résistance aux antiseptiques mais aussi de résistance croisée aux antibiotiques en cas d'exposition sub-inhibitrice aux antiseptiques. Ces données, bien qu'obtenues sur des souches de références, et devant être prochainement confirmées sur souches d'isolement clinique, soutiennent l'idée d'un besoin de bon usage, rigoureux et consensuel, des antiseptiques cliniques.

**Mots clés :** Bactéries - Antiseptiques - Antibiotiques - Résistance croisée - Courbes de Bactéricide.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P27

## Phage therapy: The enemy of my enemy is my friend

Damien Piel<sup>1</sup> (damien.piel@pherecydes-pharma.com), Hakim Samai<sup>1</sup>, Guillaume L'Hostis<sup>1</sup>, Sandrine Le Guellec<sup>2,3,4</sup>, Joeffrey Pardessus<sup>2,3,4</sup>, Nathalie Heuzé-Vourc'h<sup>2,4</sup>, Laurent Vecellio<sup>2,4,5</sup>, Cindy Fevre<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pherecydes Pharma, Romainville, France

<sup>2</sup> Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, U1100, INSERM, Tours, France

<sup>3</sup> DTF Aerodrug, Tours, France

<sup>4</sup> Université de Tours, Tours, France

<sup>5</sup> DTF Aerodrug,, Tours, France

**Introduction and Objectives:**

*Pseudomonas aeruginosa* infection is particularly associated with progressive and ultimately chronic recurrent respiratory infections in chronic obstructive pulmonary disease, bronchiectasis, chronic destroyed lung disease, and cystic fibrosis. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* is an important and growing issue in the care of patients with lung infections, and a major cause of morbidity and mortality. The increase in numbers of therapeutic failures using conventional medicine has led to a necessity to find alternative treatment. As natural predators of bacteria, bacteriophages (or phages) are thought to be a promising solution. Their specificity is one of the main advantages of their use against multi-resistant bacteria. The objective of this study is to characterize four anti-*Pseudomonas aeruginosa* phages.

**Methods:**

Unlike antibiotics, no guidelines exist for the use of bacteriophage in human therapy. To move phage therapy forward in the antimicrobial therapeutic arsenal, we propose to follow the guidelines from the EUCAST and CLSI for antimicrobial susceptibility testing and to get as close as possible to the well-known antibiotic disk diffusion assay on agar plate and broth microdilution assay in liquid medium. Here we characterize the phage susceptibility profile of strains belonging to an international *Pseudomonas aeruginosa* reference panel. To do this, four phages were selected and tested *in vitro* on both solid (plaque spot assay of serial dilutions) and liquid media (broth microdilution assay in liquid medium). We then investigated the transduction and cytotoxic potential of these phages. Finally, we studied the viability of the phages after nebulization.

**Results, Discussion and Conclusion:**

The overall results show that 82,9% of strains could be threaded with at least one phage. More importantly, among these strains, 73% could be threaded with a cocktail containing at least 2 phages. The fact that most of the strains are sensitive to more than one phage let suggest that the phage combination will reduce the emergence of phage resistant strains. The absence of transduction and cytotoxic potential but also the high viability after nebulization emphasize the efficacy of four promising anti-*Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages.

**Mots clés :** Phage therapy - Multi-drug resistant bacteria - *Pseudomonas aeruginosa*.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P28

**Développement d'un modèle murin de plaies chroniques et soins péri-opératoires associés**

Axel Cauty<sup>1</sup> (axel.cauty@inrae.fr), Nathalie Kasal-Hoc<sup>1</sup>, Corinne Beaugé<sup>1</sup>, Laetitia Mérat<sup>1</sup>, Christelle Rossignol<sup>2,3</sup>, Mickaël Riou<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Plateforme d'Infectiologie expérimentale (PFIE), INRAE, Nouzilly, France

<sup>2</sup> Infectiologie et Santé Publique (IMI), INRAE, Nouzilly, France

<sup>3</sup> Infectiologie et Santé Publique (IMI), Université de Tours, Nouzilly, France

**Introduction et objectifs :**

Les plaies chroniques constituent un problème de santé publique important, impactant à la fois les systèmes de soins et les patients victimes d'infections nosocomiales. Ces dernières années, l'apparition de résistances aux antibiotiques empêche une lutte efficace contre ces bactéries qui infectent ces plaies, empêchant par la même occasion une cicatrisation déjà altérée par certaines maladies (diabète, immunodépression). L'intérêt premier d'un modèle de plaie chronique est de pouvoir tester d'éventuels traitements alternatifs comme les plasmas froids pour lutter contre les bactéries résistantes aux antibiotiques et améliorer la cicatrisation, tout en raffinant cette technique chirurgicale pour le bien-être animal.

**Matériel et méthodes :**

Les expérimentations ont été réalisées sur 30 souris mâles sur fond génétique C57Bl/6. Elles ont été tondues et dépilées au niveau de la zone dorsale d'intérêt. Deux plaies dorsales ont été générées par biopsie à l'aide d'un emporte-pièce de 4,5 mm. Des attelles stériles en silicone ont été fixées autour des plaies pour ralentir la cicatrisation. De plus, un pansement a été déposé sur les plaies, pour les protéger de l'environnement pendant 5 jours. Des injections de buprénorphine et de méloxicam ont été réalisées en période pré et post-opératoire pour limiter la douleur et l'inflammation. Un suivi zootechnique (poids, température, comportement) a également été réalisé. Enfin, l'évolution des plaies a été scorée et la cicatrisation analysée par histologie (coloration de Trichrome de Masson Goldner).

**Résultats et conclusion :**

La désinfection pré et post-opératoire, l'asepsie per-opératoire, le pansement et le statut sanitaire SOPF des animaux ont contribué à garder les plaies propres et saines pendant 5 jours. La cicatrisation a visiblement été ralentie par les attelles, confirmé en histologie. Cependant, une perte de poids a été constatée à J2 post-opératoire, avant un retour à la normale, similaire à ce que l'on observe chez un patient. Cette chute était parfois accompagnée d'une hypothermie.

En conclusion, la chirurgie et les soins associés ont été optimisés et validés suite aux pré-expérimentations. Cela va permettre de développer un modèle murin de plaie chronique infectée par *Staphylococcus aureus*, mimant une plaie chronique de patients hospitalisés en vue d'utiliser de nouvelles thérapeutiques alternatives aux antibiotiques.

**Mots clés :** Modèle murin - Chirurgie - Plaie chronique - Cicatrisation - rRésistance aux antibiotiques.

**Références :**

1. Référence : Galiano RD, Michaels J 5th, Dobryansky M, Levine JP, Gurtner GC. Quantitative and reproducible murine model of excisional wound healing. *Wound Repair Regen.* 2004 ; 12(4):485-92.

## AA-P Agents antimicrobiens et résistance

AA-P29

Évaluation *in vitro* d'un peptide antimicrobien à activité anti-aspergillaire

Camille Rochard<sup>1</sup> (juliette.guitard@aphp.fr), Jeanne Bigot<sup>1,2</sup>, Viviane Balloy<sup>1</sup>, Philippe Bulet<sup>3</sup>, Loïc Guillot<sup>1</sup>, Christophe Hennequin<sup>1,2</sup>, Juliette Guitard<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> UMRS\_938, Sorbonne Université, INSERM, CRSA, Paris, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie Mycologie, Sorbonne Université, APHP, Hôpital St Antoine, Paris, France

<sup>3</sup> Plateforme BioPark d'Archamps, St Julien en Genevois, France

**Introduction et objectifs :**

L'arsenal antifongique est très limité au regard des antibactériens ou antiviraux. Par ailleurs, une émergence de la résistance d'*Aspergillus fumigatus* aux dérivés azolés a été observée au cours de la dernière décennie. Celle-ci s'observe particulièrement chez les patients souffrant de forme chronique d'aspergillose, qui s'accompagne en règle de la formation d'un biofilm, fréquemment mixte bactérien et fongique. Les peptides antimicrobiens apparaissent comme une approche thérapeutique prometteuse et pourraient constituer une alternative ou un complément aux traitements antifongiques conventionnels.

L'objectif de cette étude était de caractériser l'effet anti-aspergillaire d'ETD151, analogue d'une héliomicine de lépidoptère, dont l'activité antifongique a été montrée vis-à-vis du phytopathogène fongique *Botrytis cinerea*.

**Matériels et méthodes :**

La souche de référence *A. fumigatus* Af293 a été utilisée pour cette étude. L'activité métabolique des spores mises au contact du peptide a été étudiée au moyen d'un test cinétique à la résazurine. La mesure de l'activité antifongique a été réalisée par spectrométrie (DO 600 nM). L'impact du peptide sur la morphologie des filaments a été observé au microscope. En préambule à une étude transcriptomique, l'expression du gène *AspF3* (péroxirédoxine) a été analysée par qPCR (2- $\Delta\Delta$ CT) sur le champignon organisé en biofilm à différents temps précoces post-traitement (0, 30 min, 1, 3, 6 heures).

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'activité métabolique d'*A. fumigatus* est réduite à partir de 9 heures post-traitement par ETD151. La croissance du champignon est également diminuée en présence du peptide avec une concentration minimale inhibitrice 50 évaluée à 6,25  $\mu$ M à 48 heures. Cette activité antifongique s'accompagne, aux concentrations sub-inhibitrices, d'une modification morphologique des hyphes qui deviennent hyper-ramifiés et tortueux. L'expression d'*AspF3* est réduite d'environ 50% dès 30 min après le contact des filaments mycéliens.

Ces résultats prometteurs doivent être confirmés sur un large panel de souches d'*A. fumigatus* sensibles et résistantes aux dérivés azolés. L'analyse transcriptomique devrait permettre de mieux comprendre l'impact du peptide sur le champignon.

**Mots clés :** Peptide anti-microbien - *Aspergillus fumigatus* - Traitement.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P30

**Sulbactam-Durlobactam MIC determination: comparative evaluation of the new ETEST® SUD\* to the CLSI 2021 broth microdilution**

Marion Saultier (marion.saultier@biomerieux.com), Véronique Sauvonnet, Elodie Escoffier, Christine Franceschi, Diane Halimi, Roland Martelin, Laetitia Pellet, Gilles Zambardi

bioMérieux, La Balme-les-Grottes, France

**Background:**

Sulbactam-durlobactam (SUD), a combination of one active  $\beta$ -lactam antibiotic (sulbactam) with a new  $\beta$ -lactamase inhibitor (durlobactam by Entasis Therapeutics), is dedicated to the treatment of serious infections caused by *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus complex* ABC, including multidrug-resistant strains. An ETEST® SUD (MIC range 0.004/4-64/4  $\mu\text{g/mL}$ ) has been developed and calibrated versus the broth microdilution reference method (BMD) as described by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). This test is intended to determine the MIC of sulbactam-durlobactam for species of the ABC.

**Objective:**

The aim of this study was to perform a comparative study of ETEST SUD with the CLSI BMD method on a panel of 263 isolates.

**Methods:**

The panel consisted of 204 *A. baumannii*, 29 *A. pittii*, 30 *A. nosocomialis*, including 24 SUD-resistant strains, and one CLSI QC strain. BMD was performed using the 2021 CLSI guidelines. ETEST SUD was evaluated using the standard ETEST procedure for *Acinetobacter* spp. (inoculum 0.5 McFarland, Mueller Hinton medium, incubation at 35°C for 20-24h). For each method, the MIC was read at complete inhibition of visible growth. To determine category agreement (CA) and error rates, the sulbactam-durlobactam provisional breakpoint of 4  $\mu\text{g/mL}$  was applied.

**Results:**

QC strain MICs were in the expected range with reproducible results. The essential agreement [EA,  $\pm 1$  dilution] was 97.7% without any tendency to over- or underestimate the MIC when compared to BMD. The CA was 98.5%. Two Very Major Errors, both within the EA, and two Major Errors, one within the EA, were observed.

**Conclusion:**

In this study, the ETEST SUD was found to be equivalent to the CLSI reference method. MIC end points were easy to read. With a 15-dilution range and simplicity of use, ETEST SUD could represent a valuable tool for MIC determination and could be an alternative to BMD.

\* RUO. The performance characteristics of this product have not been established yet.

**Mots clés :** Antibiogramme - Réactifs - Durlobactam - Sulbactam.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P31

**Identification d'une nouvelle cible pharmacologique pour le traitement de la vibriose**

Véronique Sinou (veronique.sinou@univ-amu.fr), Florent Rouvier, Nicole Taraglio, Jean-Michel Brunel, Jean-Michel Bolla

MCT, UMR\_MD1, INSERM U1261, Aix-Marseille Université, Marseille, France

Les vibrioses causées par des bactéries du genre *Vibrio* sont les maladies bactériennes les plus répandues en aquaculture marine. L'espèce *Vibrio harveyi* représente un problème majeur en raison de sa capacité à s'adapter et à survivre dans des environnements très diversifiés, et à adhérer aux parois des installations aquacoles pour former des biofilms. Ces biofilms sont des refuges permanents ou temporaires pour les pathogènes, leur offrant une résistance accrue aux agents antimicrobiens et aux désinfectants. Les antibiotiques restent à ce jour la seule option de traitement une fois qu'un foyer de maladie s'est déclaré. Or, les résidus des antibiotiques contaminent à la fois l'environnement et les poissons destinés à la consommation humaine. Leur utilisation massive a également favorisé l'émergence de nombreux phénomènes de résistance, rendant ces traitements inefficaces et contribuant à la constitution d'un pool commun de bactéries multi-résistantes.

Cette étude avait pour objectif la recherche de nouvelles approches thérapeutiques pour lutter contre *Vibrio harveyi*. Un criblage phénotypique effectué sur des isolats de *Vibrio harveyi* collectés sur les parois des bassins ou sur des poissons moribonds a permis d'identifier une série d'analogues synthétiques des polyamines (composés MB) capables d'inhiber la croissance bactérienne. Cette inhibition diminue avec l'augmentation de la longueur de chaîne carbonée des composés MB. La plus forte inhibition a été constatée avec les composés MB18 et MB21 caractérisés par une chaîne à 3C et 2C, respectivement. Des tests de compétition ont montré que l'inhibition de la croissance bactérienne en présence de MB18 peut être levée par l'ajout de polyamines endogènes substrats de l'enzyme carboxynorspermidine synthase (CANS DH). L'évaluation de l'activité anti-biofilm de MB18 a montré que ce composé inhibe la formation du biofilm mais est sans effet sur le biofilm mature.

Nos résultats suggèrent que les composés MB sont des inhibiteurs compétitifs de la CANS DH, enzyme impliquée dans une voie alternative de biosynthèse des polyamines présente principalement chez les *Vibrio* et essentielle à la formation des biofilms. Afin de confirmer cette hypothèse, la production d'une CANS DH recombinante est en cours, ce qui permettra de réaliser des essais d'interaction *in vitro* avec les molécules candidates et de valider la cible

**Mots clés :** Vibriose - polyamines - Biofilm - Aquaculture - *Vibrio harveyi*.

**AA-P Agents antimicrobiens et résistance**

AA-P32

**Prévalence élevée d'*Escherchia coli* multi-résistants chez les étourneaux en Tunisie**

Meriem Souguir<sup>1,2</sup> (meriemsouguir@hotmail.com), Pierre Châtre<sup>1</sup>, Antoine Drapeau<sup>1</sup>, Sana Azaiez<sup>2</sup>, Sana Ncir<sup>1,2</sup>, Jean-Yves Madec<sup>1</sup>, Marisa Haenni<sup>1</sup>, Wejdene Mansour<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unité Antibiorésistance et virulence bactériennes, Université de Claude Bernard Lyon 1- ANSES, Lyon, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Biophysique métabolique et Pharmacologie Appliquée (LR12ES02), Faculté de médecine Ibn Al Jazzar Sousse, Sousse, Tunisie

**Introduction et objectifs :**

La résistance aux antibiotiques est un problème d'importance majeure pour la santé humaine, la santé animale et pour l'environnement. La faune sauvage, et plus particulièrement les oiseaux migrant sur de longues distances, pourraient participer à la dissémination intercontinentale des bactéries résistantes et être en partie responsables de la diffusion mondiale de la résistance bactérienne. Dans ce contexte, nous avons choisi d'étudier les étourneaux (*Sturnus Vulgaris*) en Tunisie, d'une part en raison de leur passage en nombre sur leur route migratoire reliant l'Europe à l'Afrique et d'autre part en raison de leur contact étroit avec l'homme. Cette étude visait à caractériser les souches multirésistantes isolées à partir du microbiote intestinal de ces oiseaux sauvages.

**Matériel et méthodes :**

Un total de 225 échantillons du contenu intestinal des étourneaux a été prélevé entre 2020 et 2022. Les bactéries résistantes ont été sélectionnés sur milieux additionnés de céfotaxime et d'imipénème (4mg/L). La caractérisation de ces isolats est en cours par détermination des phénotypes de résistance (antibiogramme), recherche des gènes de résistance par PCR, étude de la clonalité des souches par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) et séquençage total du génome par les méthodes de séquençage short-read (Illumina) et long-read (MinION).

**Résultats, discussion et conclusion :**

Une étude préliminaire menée sur 25 étourneaux ayant révélé la présence de trois *E. coli* producteurs de BLSE de type CTX-M-1 (12.0%), nous avons mené une étude plus large sur un échantillonnage de 200 étourneaux. Au total, 45 oiseaux (22.5%) étaient porteurs de *E. coli* producteurs de BLSE. La caractérisation phénotypique et génotypique de ces isolats est en cours. Les résultats préliminaires de cette étude montrent que les étourneaux sont des réservoirs des bactéries et de gènes de résistance d'intérêt clinique majeur, qui peuvent disséminer les résistances de type BLSE tout au long de leur trajet migratoire. La contamination humaine pourrait également se faire par voie alimentaire étant donné que ces oiseaux sont un met prisé en Tunisie. Des études visant à déterminer le risque de contamination pour l'homme devront être menées pour comprendre le rôle des étourneaux dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques.

**Mots clés :** Résistance aux antibiotiques - Étourneaux - *Escherichia coli* - Gènes de résistance.

**B-P Bactériologie**

B-P01

Bactériologie

**Efficacité et mode d'action d'un inhibiteur direct de la protéine InhA de *Mycobacterium abscessus***

Matthéo Alcaraz<sup>1</sup> (mattheo.alcaraz@irim.cnrs.fr), Françoise Roquet-Banères<sup>1</sup>, Stephen Adonai Leon-Icaza<sup>2</sup>, Jan Abendroth<sup>3</sup>, Yves-Marie Boudehen<sup>1</sup>, Céline Cougoule<sup>2</sup>, Thomas Edwards<sup>3</sup>, Laurent Kremer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR 9004/CNRS, IRIM, Montpellier, France

<sup>2</sup> IPBS, Toulouse, France

<sup>3</sup> Seattle Structural Genomics Center for Infectious Disease, Seattle, États-Unis

**Introduction et objectifs :**

*Mycobacterium abscessus* est un pathogène opportuniste émergent causant des infections pulmonaires sévères, notamment chez les patients atteints de mucoviscidose. De par sa résistance intrinsèque à la plupart des antibiotiques, il apparaît urgent de développer des traitements plus efficaces. L'isoniazide, un antituberculeux ciblant la protéine InhA impliquée dans la synthèse des acides mycoliques, est inopérant chez *M. abscessus*, vraisemblablement de par l'absence d'activation par KatG. Ainsi, nous évaluons l'activité thérapeutique potentielle de NITD-916, un inhibiteur direct d'InhA, contre *M. abscessus*.

**Matériel et méthodes :**

L'activité de NITD-916 est déterminée *in vitro* par la mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) vis-à-vis d'un panel d'isolats cliniques. L'efficacité du composé a également été étudiée dans des macrophages infectés par *M. abscessus* et dans des organoïdes pulmonaires dérivés de patients atteints de mucoviscidose. L'analyse lipidique par chromatographie en couche mince a été réalisée pour démontrer l'altération de la synthèse des acides mycoliques par NITD-916. Le séquençage du gène *inhAMAB* de mutants résistants spontanés à NITD-916 a été réalisé pour tenter de décrire son mode d'action. Une étude structurale par cristallographie du complexe InhAMAB liée au NITD-916 et au NAD a été réalisée pour démontrer la liaison directe de l'inhibiteur à sa cible.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'ensemble des souches cliniques testées a montré une haute sensibilité au composé (CMI = 1.56 µg/ml). L'exposition au NITD-916 entraîne une réduction importante des bactéries intramacrophagiques ainsi que du nombre et de la taille des cordes mycobactériennes. La microinjection du composé dans des organoïdes infectés par *M. abscessus* s'accompagne d'une baisse significative de la charge bactérienne. D'un point de vue mécanistique, NITD-916 inhibe la synthèse *de novo* des acides mycoliques. Des mutants hautement résistants au composé présentent des mutations ponctuelles dans *inhAMAB* (G96S ou G96V). La structure cristallographique montre que NITD-916 se lie directement à *InhAMAB* qu'une mutation du résidu Gly96 empêcherait la fixation de l'inhibiteur, induisant la résistance. Ces données démontrent qu'*inhAMAB* est une cible attractive à exploiter. Elles ouvrent la voie à des futurs travaux d'optimisation de NITD-916 ainsi qu'à des études pré-cliniques dans la lutte contre *M. abscessus*.

**Mots clés :** NITD-916 - *Mycobacterium abscessus* - inhA - Acides mycoliques - Macrophages - Organoides.



**B-P Bactériologie**

B-P02

Bactériologie

**Detection of the viable but non-culturable state (VBNC) of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* after biocide stress by Raman microspectroscopy**

Sylvain Trigueros<sup>1,2</sup> (sylvain.trigueros@anses.fr), Tommy Dedole<sup>2</sup>, Thomas Brauge<sup>1</sup>, Sabine Debuiche<sup>1</sup>, Véronique Rebuffel<sup>2</sup>, Sophie Morales<sup>2</sup>, Pierre Marcoux<sup>2</sup>, Graziella Midelet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory for Food Safety, B3PA, ANSES, Boulogne-sur-Mer, France

<sup>2</sup> LETI, Minatec-Campus, CEA, Grenoble, France

*Listeria innocua* is a Gram-positive ubiquitous and non-pathogenic bacteria. *L. innocua* is frequently found in the food-processing environments with other species, such as *Listeria monocytogenes*. *L. monocytogenes* is an important foodborne pathogen and the etiological agent of human listeriosis, a rare but frequently fatal disease. *L. monocytogenes* represents a major concern for food safety, as it can also persist in the industrial environment and (re)contaminate food, which has already been shown in several epidemics. The bacterial persistence may be due to their resistance to cleaning and disinfection procedures, and could induce a viable but non-culturable (VBNC) state in bacteria. Bacteria in the VBNC state have very low metabolic activity and do not divide. These VBNC bacteria are not detected on the surface with the cultural media analyses. These bacteria retain the ability to recover and become culturable under favourable conditions. Raman microspectroscopy coupled with deuterium isotope probing (Raman-DIP) permit to label the metabolism and appears to be an innovative technique for the study of bacterial metabolism. In this study, we evaluated the capacities of the Raman-DIP to discriminate bacteria in different states of *L. innocua* and *L. monocytogenes* viability (Viable culturable, VBNC and dead) after biocide treatment. We treated the bacteria with biocides used in the seafood sector and we detected their impact on bacterial viability by qPCR, PMA-qPCR and plate count agar (total, viable and VC population respectively) and by Raman-DIP microspectroscopy. We were able to select different concentrations of biocide for which the whole population was in VC, VBNC or dead state. For the dead bacteria, it was not possible to measure them by Raman-DIP. For viable bacteria, the Raman-DIP results showed that the VC population metabolised the isotope and showed measurable labelling, with a high C-D peak, which was not the case for the VBNC state, where no labelling was observed with a low C-D peak on the bacteria. We were able to discriminate each viability status of *L. innocua* and *Listeria monocytogenes* after a biocide stress, and we will therefore be able to use this technique to measure the viability status after application of other stresses.

**Mots clés :** Listeria - VBNC - Raman-DIP - Metabolism.

## B-P Bactériologie

B-P03

Bactériologie

**Diversité de production de sidérophores au sein du genre *Achromobacter***

Emilie Brivet<sup>1</sup> (emilie.brivet@etu.umontpellier.fr), Pauline Sorlin<sup>1</sup>, Fabien Aujoulat<sup>1</sup>, Chloé Dupont<sup>2</sup>, Raphaël Chiron<sup>3</sup>, Estelle Jumas-Bilak<sup>2</sup>, Quentin Menetrey<sup>1</sup>, Hélène Marchandin<sup>4</sup>

<sup>1</sup> HydroSciences Montpellier, CNRS, IRD, Univ. Montpellier, Montpellier, France, Montpellier, France

<sup>2</sup> HydroSciences Montpellier, Univ. Montpellier, CNRS, IRD, Laboratoire d'Écologie, Montpellier, France

<sup>3</sup> HydroSciences Montpellier, CNRS, IRD, Univ. Montpellier, CRCM, Montpellier, France

<sup>4</sup> Service de Microbiologie, HydroSciences Montpellier, CNRS, IRD, Univ. Montpellier, Montpellier, France

**Introduction et objectif :**

Les bactéries du genre *Achromobacter* sont des bactéries saprophytes considérées comme des pathogènes opportunistes de l'immunodéprimé et des pathogènes émergents au cours de la mucoviscidose (CF) [1,2]. Leurs facteurs de virulence demeurent toutefois très peu étudiés.

Les sidérophores étant des facteurs de virulence majeurs chez les bactéries, l'objectif de notre étude était de caractériser leur production par une population d'*Achromobacter* et d'en étudier la variabilité selon l'origine clinique (patients atteints de CF ou non atteints, NCF) ou environnementale de la souche et selon l'espèce.

**Matériels et méthodes :**

Un total de 195 souches d'*Achromobacter* a été inclus comprenant 110 souches de 70 patients CF, 50 souches de patients NCF (sang, liquide de lavage broncho-alvéolaire, ...) et 35 souches d'origines environnementales diverses. Les espèces d'*Achromobacter* ont été identifiées par séquençage du gène *nrdA* [3]. Le dosage des sidérophores a été réalisé par la méthode en milieu liquide utilisant le CAS (Chrome Azuroil-Sulphonate) [4,5]. Les résultats obtenus pour les différentes espèces et selon le contexte clinique ont été comparés par le test de Mann Whitney.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Une production de sidérophores est observée pour 88,5% des souches. Cette production est significativement plus importante pour les souches cliniques que pour les souches environnementales. Ces résultats sont à corrélés à la diversité de production de sidérophores observée pour les différentes espèces et à l'hétérogénéité des espèces composant les différents groupes étudiés, *Achromobacter xylosoxidans* étant majoritaire dans le groupe clinique (74%) comparativement au groupe de souches environnementales (27%). Au sein des souches cliniques, les souches CF produisent significativement plus de sidérophores que les souches NCF, ce qui pourrait représenter une caractéristique adaptative supplémentaire de ces pathogènes à la niche pulmonaire CF [1].

La production de sidérophores par *Achromobacter* est étudiée ici pour la première fois montrant que ceux-ci représentent des facteurs de virulence importants de ce genre bactérien. Notre étude montre une hétérogénéité de production de sidérophores selon l'espèce, l'origine des souches et le type d'infection qui devra être explorée plus avant afin de caractériser le(s) type(s) de sidérophores produits, ainsi que leur rôle dans les interactions intermicrobiennes et hôte-pathogène.

**Mots clés :** Sidérophores - *Achromobacter* - Mucoviscidose - Virulence.

**Références :**

- 1 - Menetrey Q, Sorlin P, Jumas-Bilak E, Chiron R, Dupont C, Marchandin H. 2021. *Achromobacter xylosoxidans* and *Stenotrophomonas maltophilia*: emerging pathogens well-armed for life in the cystic fibrosis patients' lung. *Genes*. 12:610.
- 2 - Sandri, A, Haagenen JAJ, Veschetti L, Johansen HK, Molin S, Malerba G, et al. 2021. Adaptive interactions of *Achromobacter* spp. with *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis chronic lung co-infection. *Pathogens*. 10:978.
- 3 - Spilker T, Vandamme P, Lipuma JJ. 2013. Identification and distribution of *Achromobacter* species in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 12:298-301.
- 4 - Schwyn B, Neilands JB. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal Biochem*. 160:47-56.
- 5 - Payne SM. 1994. Detection, isolation, and characterization of siderophores. p.329-44. In Clark VL, Bavoil PM (ed). *Methods in Enzymology, Bacterial Pathogenesis Part A: Identification and Regulation of Virulence Factors*, 1st ed, vol235. Academic Press, USA.

**B-P Bactériologie**

B-P04

Bactériologie

**Implication de l'ARN régulateur Ern0160 dans la régulation de la virulence de *Enterococcus faecium***Loren Dejoies<sup>1</sup> (lorendejoies@hotmail.com), Valérie Bordeau<sup>1</sup>, Svetlana Chabelskaya<sup>1</sup>, Vincent Cattoir<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Inserm U1230, Université Rennes 1, Rennes, France<sup>2</sup> Bactériologie - Hygiène Hospitalière, CHU de Rennes, Rennes, France**Introduction et objectifs :**

Malgré l'intérêt croissant de la communauté scientifique pour l'étude des réseaux de régulation médiés par les ARN régulateurs bactériens (sARN), peu de données concernent *Enterococcus faecium*. En 2017, les 9 tout premiers sARN de *E. faecium* ont été décrits chez Aus0004. Depuis, l'Ern0160 est le sARN le plus étudié et a été rapporté comme étant impliqué dans la réponse au stress antibiotique, antiseptique ainsi que dans la colonisation intestinale sur modèle murin. Ce travail avait pour objectifs de caractériser plus précisément les fonctions de Ern0160 et d'identifier ses cibles directes et indirectes.

**Matériels et méthodes :**

L'analyse *in silico* par CopraRNA et TargetRNA2 a permis la prédiction de cibles dont l'interaction directe ARN-ARN avec Ern 0160 a été testée par gel retard (Ern0160 radiomarqué). L'impact de Ern0160 sur l'expression des cibles a été vérifiée par qRT-PCR quantitative absolue en comparant les souches native/délétée et complémentées avec/sans Ern0160. Le cas échant, la régulation a été étudiée par un système à double plasmide avec le gène rapporteur *gfp*.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les cibles à fonction clé ont été sélectionnées : synthèse de paroi (*ddcP*), protéine 'ABC transporter' (*ABC722*) et peptidase à domaine LysM nommée M23Efm. L'Ern0160 était responsable de l'induction de *ddcP* et de la répression de *ABC722* et de *M23Efm*. L'interaction directe avec Ern0160 a été trouvée uniquement pour M23Efm, au sein de la séquence codante du gène cible. La délétion d'une partie de cette séquence entraînait la perte de l'interaction. L'absence de retard sur gel avec *ddcP* et *ABC722* n'excluait pas une régulation indirecte de Ern0160. La mise au point du système rapporteur à double plasmide avec Ern0160 et M23Efm est encore en cours en raison d'une probable toxicité de la peptidase en système hétérologue chez *Escherichia coli*.

La peptidase M23Efm a récemment été décrite par une autre équipe comme facteur de virulence sur modèle murin d'infection systémique et d'infection urinaire. Nous avons mis en évidence la toute première cible directe d'un sARN de *E. faecium*. L'Ern0160 régule négativement l'expression d'un gène de virulence. L'impact de cette régulation reste à évaluer *in vivo* sur modèle animal (*Galleria*, souris).

**Mots clés :** Virulence - ARN régulateur - Ern0160 - *Enterococcus faecium* - Peptidase M23.

**B-P Bactériologie**

B-P05

Bactériologie

**Characterization of the prophage-triggered production of membrane vesicles by the Gram-positive bacterium *Lacticaseibacillus casei* BL23**

David da Silva Barreira (david.da-silva-barreira@u-bourgogne.fr), Pierre Lapaquette, Jean Guzzo, Aurélie Rieu

UMR PAM, Université de Bourgogne, Dijon, France

**Introduction and objectives:**

Bacterial cells release membrane vesicles (MVs) which are nanostructures delimited by a lipid bilayer. The size and composition of those vesicles depend on the species, the environment and mechanism by which they are produced. In most cases, MVs range from 20 to 400 nm and can carry a variety of macromolecules such as proteins, nucleic acids, virulence factors, quorum sensing molecules as well as other cellular components. The study of MVs has gained considerable interest over the last 10 years due to the diversity of functions ensured by these structures. This diversity places MVs at the crossroads of major research topics in current microbiology, such as antibiotic resistance, horizontal gene transfer, inter- and intra-species communication, biofilm development, bacteriophage resistance, vaccination or pathogenesis.

MV research has mainly focused on Gram-negative bacteria and despite the increasing interest in Gram-positive MVs, the mechanisms by which they are released remain to be unveiled.

In this work, we established a link between the presence of a prophage and the release of MVs by the Gram-positive bacterium *Lacticaseibacillus casei* BL23.

**Results, Discussion and Conclusion:**

By comparing a mutant harboring a defective prophage to the parental strain, we were able to quantify the contribution of *L. casei*BL23 prophages in MV production. We also demonstrated that prophages influence the membrane integrity of the bacteria, thus contributing to the formation of MVs. Interestingly, prophages are only responsible for the production of a subset of the MVs released by the bacteria, suggesting the existence of additional mechanisms involved in MV production in this strain. Overall, our results suggest a key role of prophages and provide new insight into MV production by Gram-positive bacteria. Finally, the study of MV biogenesis is of great interest as prophage-induced MVs could potentially influence bacterial behavior and stress resistance.

**Mots clés :** *Lacticaseibacillus casei* - Gram-positive bacterium - Membrane vesicles - Membrane vesicle biogenesis - Prophages.

**B-P Bactériologie**

B-P06

Bactériologie

**Rôle du laboratoire de microbiologie dans la prise en charge des bactériémies : étude de 48 cas à la clinique Pasteur de Toulouse**

Julia Depape (julia.depape@free.fr), Jean-Louis Galinier, Aude Jacquez, Aurélie Bouige

Laboratoire INOVIE Biolab Avenir Clinique Pasteur, Toulouse, France

**Introduction et objectifs :**

Les bactériémies sont des infections fréquentes en milieu hospitalier. Il s'agit d'un véritable enjeu de santé publique. Un diagnostic rapide des micro-organismes impliqués et une mise en place rapide d'une antibiothérapie font partie des facteurs améliorant le pronostic de ces infections [1]. Le rôle du laboratoire de microbiologie est primordial dans ce contexte, en communiquant aux équipes soignantes les résultats de l'examen direct après coloration de Gram et l'identification bactérienne. Le but de ce travail est d'étudier l'impact de ces communications concernant les hémocultures de 48 patients bactériémiques hospitalisés à la clinique Pasteur à Toulouse entre novembre 2021 et mars 2022.

**Matériels et méthodes :**

Le laboratoire contacte l'équipe soignante des patients pour lesquels une hémoculture est positive afin de communiquer le résultat de l'examen direct après coloration de Gram et dans un second temps dans la majorité des cas pour communiquer l'identification du germe. Les patients pour lesquels un seul flacon d'hémoculture était positif et où un staphylocoque coagulase négative été mis en évidence ont été exclus du recueil. Les données microbiologiques et la date et l'heure des appels ont été recueillis rétrospectivement, tout comme le motif d'hospitalisation et les différents traitements antibiotiques utilisés pour chaque patient.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'appel du laboratoire concernant le résultat du gram des hémocultures semble bien permettre une mise en place rapide du traitement antibiotique. Le délai entre l'appel du gram et la mise en place d'un traitement chez les patients hors antibiotiques en probabiliste était seulement de 03h47 en moyenne (médiane de 02h27). Pour les patients sous antibiothérapie inefficace, l'appel du gram est aussi très utile, il a permis une modification du traitement en très peu de temps avec une moyenne de délai de 04h05 et une médiane de 01h13 après appel du gram. Dans notre étude, l'appel du gram a eu impact positif sur 65% des patients pour lesquels il n'y avait pas de traitement antibiotique probabiliste ou s'il était inadapté. Ceci montre bien l'intérêt des communications entre le laboratoire de microbiologie et les équipes soignantes dans la prise en charge des patients bactériémiques.

**Mots clés :** Antibiothérapie - Laboratoire de microbiologie - Hémocultures - Bactériémie.

**Références :**

1. Lamy, B., Sundqvist, M., Idelevich, E. A., & ESCMID Study Group for Bloodstream Infections, Endocarditis and Sepsis (ESGBIES). (2020). Bloodstream infections—Standard and progress in pathogen diagnostics. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(2), 142150. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.11.017>

**B-P Bactériologie**

B-P07

Bactériologie

**Optimisation et application d'une méthode d'évaluation de la résistance *in vitro* aux antibiotiques adapté au genre *Taylorella***

Sofia Kozak (sofia.kozak.ext@anses.fr), Corinne Sevin, Fabien Duquesne, José-Carlos Valle-Casuso, Sandrine Petry

Unité PhEED, Laboratoire de Santé Animale site de Normandie, Anses, Goustranville, France

**Introduction et objectifs :**

Le genre *Taylorella* regroupe deux espèces de coccobacilles à Gram négatif et microaérophiles : (i) *Taylorella equigenitalis* (TE), agent de la métrite contagieuse équine (MCE), une maladie vénérienne réglementée en France, en Europe et à l'international qui atteint toutes les races équines. La MCE représente une menace économique pour la filière équine car elle peut fortement perturber la reproduction des équidés (avortements, infertilité transitoire...) et sa circulation est favorisée par la persistance de la bactérie dans l'appareil génital de l'animal, son portage asymptomatique chez l'étalon et l'émergence des échecs thérapeutiques. A l'inverse, (ii) *Taylorella asinigenitalis* (TA) est principalement retrouvée chez les ânes et est considérée comme « non pathogène » et donc peu étudiée. Néanmoins, l'émergence d'un premier foyer naturel d'endométrites sévères à TA en 2019 (Emirats Arabes Unis) suggère une virulence potentiellement négligée [1]. Alors que des antibiorésistances ont déjà été montrées chez le genre *Taylorella* [2], l'objectif est d'évaluer la résistance à un panel plus large d'antibiotiques afin de proposer un traitement plus approprié et limiter la sélection de souches résistantes.

**Matériels et méthodes :**

La résistance à 22 antibiotiques (10 familles) validés par des vétérinaires est évaluée chez 19 TE et 67 TA. La méthode de diffusion en milieu gélosé classiquement utilisée pour la réalisation d'antibiogrammes (NF U47-107) a été adaptée au genre *Taylorella*. En l'absence de recommandations pour ce genre bactérien, l'interprétation est réalisée selon les diamètres d'inhibition critiques des espèces les plus proches génétiquement : *Pasteurellaceae* (CASFM vétérinaire 2021) et *Haemophilus* spp. (CASFM 2013).

**Résultats, discussion et conclusion :**

Des résistances à 9 antibiotiques de 6 familles différentes ont été observées ( $\beta$ -lactamines, macrolides, aminosides, fluoroquinolones, antituberculeux et carbapénèmes) et 5 TE et 4 TA se sont révélées multirésistantes. Des résistances à l'ampicilline et à la streptomycine sont communes aux deux espèces et d'autres semblent spécifiques à une espèce : rifampicine et fluoroquinolones chez TE et érythromycine et doripénème chez TA. Cette étude *in vitro* permet de proposer un protocole de réalisation d'antibiogramme adapté au genre *Taylorella* dérogeant à minima de la Norme et de cibler des molécules à tester *ex vivo*.

**Mots clés :** Antibiorésistance - Bactérie - Santé animale - Équidés - Maladies équines.

**Références :**

1. Wilsher S, Omar H, Ismer A, Allen T, Wernery U, Joseph M et al. 2021. A new strain of *Taylorella asinigenitalis* shows differing pathogenicity in mares and Jenny donkeys. *Equine Vet J.* 53:990-995.
2. Breuil MF, Duquesne F, Laugier C, Petry S. 2011. Phenotypic and 16S ribosomal RNA gene diversity of *Taylorella asinigenitalis* strains isolated between 1995 and 2008. *Vet Microbiol.* 148:260-266.

**B-P Bactériologie**

B-P08

Bactériologie

**Les pyélonéphrites aiguës chez le diabétique**

Houda Lahrichi (lahrichihouda11@gmail.com), Latifa Marih, Mustapha Sodqi, Ahd Ouladlarsen, Hanane Badi, Abdelfattah Chakib, Kamal Marhoum Elfilali

*Maladies infectieuses, CHU Ibn Rochd Casablanca, Casablanca, Maroc*

**Introduction :**

Les diabétiques déséquilibrés sont plus exposés aux infections surtout urinaires. Les pyélonéphrites aiguës (PNA) sont potentiellement graves sur ce terrain et doivent être traitées par une antibiothérapie efficace sur le germe responsable. Le but de notre travail est de décrire les caractéristiques épidémiocliniques, bactériologiques, thérapeutiques et évolutives des PNA chez le diabétique.

**Matériels et méthodes :**

Notre travail est une étude rétrospective à visée descriptive portant sur 50 patients diabétiques hospitalisés pour PNA au service des maladies infectieuses au CHU Ibn Rochd de Casablanca entre Janvier 2019 et Décembre 2021.

**Résultats :**

Cinquante patients diabétiques ont été hospitalisés pour PNA. On note une prédominance féminine, il s'agit de 38 femmes (76%) et 12 hommes (24%), avec un âge moyen de 56 ans (27- 86ans). La majorité des patients étaient diabétiques type 2 (47 cas), 2 femmes avaient un diabète gestationnel et une patiente avait un diabète type 1. L'ancienneté du diabète était en moyenne de 7 ans (20jours-30ans). Vingt-six patients étaient sous insuline (52%), 22 étaient sous antidiabétiques oraux (ADO) et 2 femmes étaient sous régime seul. Le germe le plus souvent en cause était l'Escherichia Coli (58%) suivi de Klebsiella Pneumoniae chez 9 patients (18%) puis de Pseudomonas Aeruginosa dans 4% des cas. Un Candida albicans était isolé chez un seul patient et 10% des urocultures étaient négatives. La fréquence de la résistance des bactéries aux antibiotiques usuels a nettement augmenté au fil des années spécifiquement prescrits étaient les Carbapénèmes dans 48% des cas, les C3G dans 46% des cas, et les Fluoroquinolones chez 2 patients. L'évolution des pyélonéphrites aiguës était marquée par la survenue de complications : 2 cas de pyélonéphrites emphysémateuses, 6 cas d'abcès du rein (12%), 2 abcès du psoas (4%) et un cas de pyonéphrose. La majorité des malades a été déclarée guéri (94%). La réinfection était notée chez 17 patients (34%), 3 malades décédés suite à un sepsis grave.

**Conclusion :**

Ces résultats soulignent l'intérêt chez tout diabétique, d'entreprendre des mesures préventives et d'avoir des chiffres glycémiques équilibrés afin d'éviter la survenue de PNA qui est pourvoyeuse d'une morbi-mortalité importante.

*Mots clés :* Pyélonéphrite aiguë - Bactéries - Antibiothérapie - Diabète.

**B-P Bactériologie**

B-P09

Bactériologie

**Surveillance épidémiologique des infections à Campylobacters, Aliarcobacters et bactéries apparentées : bilan 2017-2021 du CNR des Campylobacters et des Hélicobacters**

Philippe Lehours<sup>1,2</sup> (philippe.lehours@u-bordeaux.fr), Astrid Ducournau<sup>1</sup>, Marine Bouhier<sup>1</sup>, Lucie Bruhl<sup>1</sup>, Marine Jauvain<sup>1,2</sup>, Emilie Bessède<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> CNR Campylobacters et Hélicobacters, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

<sup>2</sup> INSERM U1312, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

**Introduction et objectifs :**

Le résumé ci-dessous résume les principales caractéristiques épidémiologiques des infections à Campylobacters en France sur la période 2017-2021.

**Matériels et méthodes :**

Le CNR travaille avec un réseau de laboratoires privés. Ces laboratoires font parvenir au CNRCH leurs souches accompagnées d'une fiche de renseignements cliniques et microbiologiques. A réception, le CNRCH confirme l'identification et étudie in vitro la sensibilité aux antibiotiques.

**Résultats :**

Les trois principales espèces répertoriées sont *C. jejuni* (83,8%), *C. coli* (13,1%), *C. fetus*(1,1%). *Aliarcobacter butzleri* arrive en 4ème position (1,1%). *C. jejuni* et *C. coli* sont majoritairement isolés de selles : 98,8% et 99% respectivement. Les infections invasives à *C. jejuni* ne concernent que 1 % des isolats de *C. jejuni* versus 57% des *C. fetus*.

L'étude de la répartition mensuelle des souches isolées confirme la saisonnalité estivale habituelle et très marquée des infections à Campylobacters en particulier pour *C. jejuni* et *C. coli*.

Le sex-ratio H/F était 1,26 en moyenne. Les infections à Campylobacters touchent toutes les tranches d'âge avec 29,03% de cas pédiatriques (<15 ans).

Les hospitalisations ne représentaient que 17,63% des cas et les consultations 64,44%. 53,2% des cas étaient des cas isolés. Les cas groupés sont essentiellement familiaux.

L'origine alimentaire supposée de la contamination est dans 2,67% et provenait dans 40% de consommation de viandes (poulet en majorité).

La résistance à l'ampicilline reste stable pour *C. jejuni* (33,4%) et dépasse *C. coli* (28%). *C. fetus* reste sensible (3,1% de résistance). La résistance à la ciprofloxacine pour *C. jejuni* (58,7%) est inférieure à *C. coli* (62,7%). La résistance de *C. fetus* à la ciprofloxacine est de 21,1%. La résistance à l'érythromycine reste à un niveau inférieur à 1% pour *C. jejuni*, *C. coli* étant plus résistant (7,6%).

La résistance à la tétracycline reste à un niveau très élevé notamment pour *C. coli* (77,8%) et *C. jejuni* (46,3%). La résistance à la gentamicine reste anecdotique pour Campylobacter.

**Conclusion :**

Les infections à Campylobacters en France restent des cas isolés majoritairement liés à la consommation de volaille. Le profil de résistance aux fluoroquinolones et tétracycline restent à un niveau important.

**Mots clés :** Campylobacter - Epidémiologie - Résistance.



**B-P Bactériologie**

B-P10

Bactériologie

**Dissémination d'un clone de *Staphylococcus epidermidis* résistant au linézolide**Nadège Lépine<sup>1</sup> (nadege.lepine@etu.univ-tours.fr), Marie-Frédérique Lartigue<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Service de bactériologie-virologie-hygiène hospitalière, CHU Trousseau, Tours, France<sup>2</sup> UMR1282 Université-INRAE, Equipe «Bactéries et risque materno-foetal», Tours, France**Introduction et objectif :**

Les staphylocoques à coagulase négative, y compris *Staphylococcus epidermidis*, sont des pathogènes opportunistes fréquemment impliqués en médecine humaine, notamment dans le cadre d'infections liées aux soins chez les patients immunodéprimés.

En raison de la forte prévalence des souches méticillino-résistantes, les oxazolidinones font partie des traitements antibiotiques couramment utilisés, induisant l'émergence de souches de *S. epidermidis* résistantes au linézolide (SERL), observée en Europe depuis 2014.

Le but de l'étude était de caractériser phénotypiquement et génotypiquement 18 isolats de SERL retrouvés dans des prélèvements à visée diagnostique au CHRU de Tours entre 2017 et 2021, en particulier dans les services de réanimation chirurgicale et de chirurgie orthopédique.

**Méthodes :**

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par méthode de diffusion en milieu gélosé et les CMI par microdilution ou Etest conformément aux recommandations du CA-SFM EUCAST 2020.

Pour déterminer l'existence d'une clonalité, les 18 isolats ont été génotypés par trois méthodes différentes : électrophorèse en champ pulsé (PFGE), Multi-Locus Sequence Typing et spectrophotométrie Infra-Rouge avec transformation de Fourier (IR-biotyper).

**Résultats et conclusion :**

Tous les isolats présentaient une multi-résistance aux antibiotiques, incluant une résistance à la méticilline.

Le PFGE montre que sur les 18 isolats, 17 appartiennent au même clone. Les résultats du typage par IR-biotyper sont concordants avec ceux du PFGE. Le clone appartient au ST-2. Ces résultats permettent de conclure à la dissémination d'un clone épidémique.

Par ailleurs, 3 des 17 patients infectés par le clone épidémique avaient présenté antérieurement une infection à *S. epidermidis* méti-R qui avait été traitée par linézolide. Or ces trois souches n'appartiennent pas au ST-2.

Ces résultats montrent la dissémination d'un clone épidémique de SERL au sein du CHU de Tours entre 2017 et 2021. D'autre part, les infections à SERL seraient dues à l'acquisition du clone épidémique et non à la sélection de mutants résistants sous pression antibiotique.

**Mots clés :** Staphylococcus epidermidis - Résistance - Linézolide - Clone épidémique.

**B-P Bactériologie**

B-P11

Bactériologie

**A new member of the Pasteurellaceae family**

Sylvain Meyer<sup>1,2</sup> (sylvain.meyer@unilim.fr), Valentin Tilloy<sup>3</sup>, Sylvaine Durand-Fontanier<sup>4</sup>, Fabien Garnier<sup>1,2</sup>, Christian Martin<sup>1</sup>, Marie-Cécile Ploy<sup>1,2</sup>, Olivier Barraud<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Limoges, Limoges, France

<sup>2</sup> UMR INSERM 1092 RESINFIT, Université de Limoges, Limoges, France

<sup>3</sup> CNR Herpèsvirus, UF de Bioinformatique, CHU de Limoges, Limoges, France

<sup>4</sup> Service de Chirurgie Digestive, Générale et Endocrinologie, CHU de Limoges, Limoges, France

**Background:**

The Pasteurellaceae family has for long been only composed of the three genera *Pasteurella*, *Haemophilus* and *Actinobacillus* [1]. Over the last ten years, thirty-two genera have been characterized [2][3]. Here we describe a new strain belonging to the Pasteurellaceae family and potentially recognized as a new genus. We characterized its phenotype and phylogeny.

**Case report:**

Strain LIM206 was isolated from aerobic and anaerobic blood cultures of an immunocompromised patient hospitalized at the digestive surgery department of CHU Limoges, France. The patient was a 74-years-old woman diagnosed in 2015 with an adenocarcinoma of the intestines and several metastases in the lungs and liver. After multiple chemotherapies and surgeries, her general status worsened in 2021, and she developed occlusive syndrome, nausea, and fever. Blood cultures were sampled, and an empiric antibiotic therapy by piperacillin-tazobactam was introduced. The patient did not recover from this sepsis of digestive origin.

**Bacterial characteristics:**

Blood culture bottles became positive in 16 hours showing a short Gram-negative rod that grew on chocolate and blood agar plates. Identification by Vitek<sup>®</sup>MS MALDI-TOF mass spectrometry and Vitek<sup>®</sup>2 NH card (bioMérieux) did not show any result. Sequencing of the whole 16S rRNA gene was performed, and a comparison to the EZBioCloud database showed a 94.78% proximity to *Pasteurella oralis*, suggesting this strain belongs to a new genus. LIM206 is susceptible to amoxicillin ± clavulanic acid, nalidixic acid, tetracycline and cotrimoxazole and does not produce a β-lactamase.

Whole-genome sequencing (WGS) was then performed on an Ion GeneStudio S5 platform. The genome is 2.7 Mb in size with a 45.3 GC%. In agreement with antibiotic-susceptibility testing, no resistance gene was detected. Whole-genome phylogenetic analysis based on single nucleotide polymorphisms detection against reference strain *Haemophilus influenzae* ATCC10211 enabled to classify LIM206 on a separate branch, phylogenetically close to *Lonepinella koalarum*, confirming LIM206 belongs to a new genus.

**Conclusion:**

We describe a new genus of the Pasteurellaceae family phylogenetically close to *Pasteurella oralis* based on 16S analysis and *Lonepinella koalarum* when considering WGS. Additional analyzes are ongoing.

**Mots clés :** Pasteurellaceae - New genus - Phylogenetic analysis - WGS - Blood culture.

**Références :**

1. Christensen H, Bisgaard M. Classification of genera of Pasteurellaceae using conserved predicted protein sequences. Int J Syst Evol Microbiol. 2018 Aug;68(8):2692-2696.
2. Adhikary S, Nicklas W, Bisgaard M, Boot R, Kuhnert P, Waberschek T, et al. Rodentibacter gen. nov. including Rodentibacter pneumotropicus comb. nov., Rodentibacter heylii sp. nov., Rodentibacter myodis sp. nov., Rodentibacter ratti sp. nov., Rodentibacter heidelbergensis sp. nov., Rodentibacter trehalosifermentans sp. nov., Rodentibacter rarus sp. nov., Rodentibacter mrazii and two genomospecies. Int J Syst Evol Microbiol. 2017 Jun;67(6):1793-1806.
3. Kuhnert P, Scholten E, Haefner S, Mayor D, Frey J. Basfia succiniciproducens gen. nov., sp. nov., a new member of the family Pasteurellaceae isolated from bovine rumen. Int J Syst Evol Microbiol. 2010 Jan;60(Pt 1):44-50.

## B-P Bactériologie

B-P12

Bactériologie

**Role of *Klebsiella pneumoniae* Type VI secretion system (T6SS) in long-term gastrointestinal colonization**

Sylvie Miquel<sup>1</sup> (sylvie.miquel@uca.fr), Thomas Merciecca<sup>1</sup>, Stéphanie Bornes<sup>2</sup>, Laurence Nakusi<sup>1</sup>, Sébastien Theil<sup>2</sup>, Olaya Rendueles<sup>3</sup>, Christiane Forestier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CNRS/LMGE, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

<sup>2</sup> INRAE/VetAgro Sup/UMRF, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

<sup>3</sup> Université de Paris/CNRS/UMR3525/Microbial Evolutionary Genomics, Institut Pasteur, Paris, France

**Background:**

*Klebsiella pneumoniae* is an opportunistic pathogen responsible for hospital-acquired infections consecutively to intestinal microbiota colonization. Competitive interactions within complex microbial communities remain poorly understood. Type VI secretion systems (T6SS) are known to be involved in bacterial warfare; they act as molecular syringes injecting toxic effectors into adjacent prokaryotic and/or eukaryotic cells through direct contact. Such a system has been recently described in hypervirulent *K. pneumoniae*(hvKp) strains but is poorly described in classical clinical strains (cKp).

**Materials:**

An *in silico* approach was used to investigate the prevalence of genes encoding T6SS and their effector among *Klebsiella* genus (KL428 database: NCBI databank -April 2019-). The cKp CH1157 strain was used as reference to investigate the toxic effect of the T6SS-1 phospholipase (Tle1) *in vitro* using site-directed *E. coli* toxicity assays. Finally, colonization assays were performed in streptomycin pre-treated mice to assess the role of T6SS-1 in intestinal tract colonization kinetic and its impact on intestinal microbiota through 16S rRNA high-throughput sequencing.

**Results and Conclusions:**

The presence of one to three T6SS related clusters was detected in *Klebsiella* genus, independently of the origin of the strains (environment, hospital-acquired infections, community-acquired infections, carriage). Over-representation of T6SS clusters and of the *tle1* effector gene was found in the *K. pneumoniae* species and Tle1 expression in *E. coli* periplasm affected cell membrane permeability. T6SS-1 isogenic mutants, deficient for different core genes (*tssB* or *clpV*), colonized the mice gastrointestinal tract less efficiently than their parental strain and comparative analysis of faecal 16S sequences indicated that T6SS-1 impaired the murine microbiota richness and its resilience capacity. *Oscillospiraceae* family members could be specific competitors for the long-term gut establishment of *K. pneumoniae*.

**Mots clés :** *K. pneumoniae* - T6SS - Intestinal microbiota.

**B-P Bactériologie**

B-P13

Bactériologie

**Establishment of high-content screens for key *Acinetobacter baumannii* virulence phenotypes**

Doriane Mongellaz (doriane.mongellaz@ibcp.fr), Charline Debruyne, Suzana P. Salcedo

MMSB UMR5086, CNRS - Université de Lyon, Lyon, France

*Acinetobacter baumannii* is one of the most problematic Gram-negative nosocomial pathogens, due to its widespread drug resistance. For these reasons, it has recently been included by the World Health Organization in the list of critical priority pathogens for further studies and the development of novel therapeutic approaches. The specific pathogenicity determinants of *A. baumannii* remain poorly characterized, but there is a consensus that the pathogenicity of this species depends on a combination of mechanisms including high environmental persistence, resistance to desiccation, adhesion to biotic (host cells) and abiotic (biofilm) surfaces and rapid acquisition of resistance when confronted to new antimicrobials, all of this facilitated by high genomic plasticity. A recent study from our team has demonstrated that a significant proportion of clinical isolates have the ability to invade host cells and establish an intracellular replication niche. It is now essential to analyse the prevalence of this phenotype in current clinical isolates.

To achieve this we have set up a high-content screening microscopy-based approach to enable the comparison of several key *A. baumannii* phenotypes amongst clinical strains: adhesion to abiotic surfaces, biofilm formation, adhesion to epithelial cells and endothelial cells and intracellular multiplication. The methodology, image analysis pipeline and initial results will be presented.

**Mots clés :** *Acinetobacter baumannii* - Clinical strains - Adhesion - Biofilm.

**B-P Bactériologie**

B-P14

Bactériologie

**Uncovering the mechanisms that increased *in vivo* persistence of tuberculosis bacilli through experimental evolution**Grégoire Mongin (gregoire.mongin@ipbs.fr), Aideen Allen, Wladimir Malaga, Christophe Guilhot

UMR5089, Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale (IPBS), Toulouse, France

Persistence and efficient transmission in humans are the hallmark of *Mycobacterium tuberculosis*, the most frequent tuberculosis bacilli (TB). These features determine the TB pandemics. Pathogenomic evidence suggests that *M. tuberculosis* evolved from an environmental ancestor similar to *Mycobacterium canettii*, a rare human pathogen, which displays reduced transmission in humans and reduced capacity to persist in the mouse model. However, the genetic and phenotypic adaptations responsible for the higher epidemic capacity of *M. tuberculosis* vs *M. canettii* remains poorly characterised. I will present my ongoing PhD project that is based on previous work accomplished by the team. Eight *M. canettii* populations from two distinct genetic backgrounds were evolved experimentally by infecting mice to select mutants with enhanced persistence *in vivo* when compared to parental strains. Genome sequencing of 140 *M. canettii* mutants, isolated at various steps during the process, revealed parallel and convergent evolution of the different populations. Mutations fixed in these populations identified a limited number of targeted pathways corresponding to cAMP metabolism and import/utilization of nutrients. Most of the tested mutants were more resistant than their parental strains to several stress encountered *in vivo*, such as nitric oxide, an important effector of immunity against *M. tuberculosis* infection. Interestingly, preliminary results suggests that a portion of these mutants also display increased tolerance toward common antimycobacterial drugs. Hence, the aim of my project is to continue the phenotypical characterization of those mutants and most importantly, to understand how the mutations endow *M. canettii* with an increased capacity to withstand different stresses from the host, or the environment. Those results will help us find out how as the ancestor of *M. tuberculosis* was able to adapt to those stresses, which eventually led to his emergence and spread across the human population to become the pathogen we know today.

**Mots clés** : Tuberculosis Bacilli - Persistence - Evolution - Antibiotics.**Références :**

1. Allen et al, 2021, Nature Microbiology, Parallel *in vivo* experimental evolution reveals that increased stress resistance was key for the emergence of persistent tuberculosis bacilli, 1082–1093.

**B-P Bactériologie**

B-P15

Bactériologie

**Caractérisation des bactéries isolées des sols de la zone des tourbières de la Likouala (République du Congo)**

Cyr Jonas Morabandza<sup>1</sup> (cymoras@yahoo.fr), Elgie Viennechie Gatse<sup>2,3</sup>, Isaac Samuel Onyankouang<sup>2</sup>, Etienne Nguimbi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo-Brazzaville

<sup>2</sup> Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, FST-UMNG, Brazzaville, Congo-Brazzaville

<sup>3</sup> Laboratoire de Microbiologie, infectiologie et Immunologie, ENS-UMNG, Brazzaville, Congo-Brazzaville

Les tourbières sont des écosystèmes humides, naturels singuliers accumulant la tourbe. Elles couvrent 3 % des surfaces continentales et jouent un rôle important dans le stockage du carbone et la régulation du climat. L'objet de ce travail était de caractériser les bactéries des sols de la zone de la tourbière de la Likouala. 3 échantillons ont été prélevés par carottage ; le dénombrement effectué sur PCA, Mossel, celui des bactéries hydrocarbonoclastes sur milieu enrichi au pétrole et à l'huile. La production enzymatique a été évaluée par la mesure des diamètres des halos ; la production de biosurfactant par celle de l'indice d'émulsification. L'amplification de l'ARN16S par PCR et le séquençage de l'ARN16S par ARTIC Oxford Nanopore Technology. Les résultats ont montré une charge de  $9,50 \cdot 10^4$  UFC/g de bactéries aérobies contre  $3,08 \cdot 10^4$  UFC/g de bactéries anaérobies sur le milieu PCA ;  $5,81 \cdot 10^4$  UFC/g de bactéries aérobies contre  $4,83 \cdot 10^3$  UFC/g de bactéries anaérobies sur Mossel. La charge des hydrocarbonoclastes était de  $2,12 \cdot 10^8$  sur l'huile contre  $8,15 \cdot 10^7$  sur le pétrole. Les diamètres de production enzymatique de 1 à 3,2 cm pour la protéase ; 1,4 à 5,8 cm pour la cellulase et 1,2 à 2,7 cm pour l'amylase. L'indice d'émulsification de biosurfactant varie de 0 à 80% avec un temps de production enzymatique et des biosurfactants de 24 à 72 heures en fonction du type d'isolat. L'amplification par PCR et le séquençage du gène codant l'ARNr 16S ont permis d'identifier cinq (05) espèces de bactéries du genre *Bacillus* avec des similitudes de 99 à 100 % : *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus subtilis* et trois (03) isolats dont l'espèce n'a pas pu être déterminé à cause du faible taux de similarité : *Bacillus spet Enterobacter sp.*

**Mots clés :** Tourbière - Bactérie - Hydrocarbonoclastes - PCR - Séquençage.

**B-P Bactériologie**

B-P16

Bactériologie

**Profil de résistance des uropathogènes aux antibiotiques au service des maladies infectieuses du CHU Ibn Rochd de Casablanca**

Inas Ouggane (iouggane@gmail.com), Sanaa Jebbar, Mustafa Sodqi, Latifa Marih, Ahd Oulad lahsen, Kamal Marhoum El Filali

CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc

**Introduction:**

Les infections urinaires multirésistantes posent un problème de prise en charge diagnostique et thérapeutique. L'objectif de notre étude était de déterminer les facteurs prédisposant à la survenue d'infections urinaires multirésistantes et leur niveau de résistance aux antibiotiques, ainsi que d'évaluer leur profil épidémiologique, clinique, évolutif et thérapeutique.

**Matériels et méthodes:**

Etude rétrospective descriptive dans laquelle ont été inclus 117 patients hospitalisés pour une infection urinaire multirésistante au service des maladies infectieuses du CHU Ibn Rochd de Casablanca sur une période allant de septembre 2019 à Avril 2022.

**Résultats:**

L'âge moyen de nos patients était de 54 ans[15-88] avec une nette prédominance féminine (55F/38H), un sex-ratio de 1,44.

Parmi les facteurs prédisposant aux infections urinaires multirésistantes, nous avons retenu : l'âge  $\geq 60$  ans chez 45% des patients, le diabète chez 43% des patients, la prise d'antibiothérapie à large spectre dans les derniers 6 mois chez 41% des patients, le sondage urinaire chez 29% des patients, la vessie neurologique chez 27% des patients, la lithiase rénale et l'IRCT respectivement chez 16% des cas, le traitement par immunosuppresseurs chez 14% des cas et l'HBP et les tumeurs urogénitales respectivement chez 10% des cas.

L'examen cytot bactériologique des urines a retrouvé un *Escherichia Coli* dans 40% des cas, un *Klebsiella pneumoniae* dans 26% des cas et un *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* et *Raoultella terrigena* respectivement dans 9% des cas.

Le taux de résistance à l'amoxicilline et l'association amoxicilline - acide clavulanique était de 100%, de 96,77% à la ciprofloxacine, de 84,9% aux céphalosporines de troisième génération, de 45,16% à la gentamicine et de 19,13% à l'imipénème.

Le traitement reposait sur l'imipénème chez 70% de nos patients, les céphalosporines de troisième génération chez 15% des cas et la gentamicine et la colistine respectivement dans 10% des cas.

L'évolution était favorable chez 85% des patients et vers des complications et un choc septique chez 6% des patients. Le taux de décès était de 9%.

**Conclusion:**

Les facteurs de risque favorisant les infections urinaires multirésistantes multiples d'où la nécessité d'une surveillance microbiologique étroite et rigoureuse des patients à risque.

**Mots clés :** Résistance - Infection urinaire - EcBU - Facteurs de risque - Surveillance.

**B-P Bactériologie**

B-P17

Bactériologie

**Diabète et infections : à propos de 158 cas**

Inas Ouggane (iouggane@gmail.com), Ahd Oulad lahse, Sanaa Jebbar, Latifa Marih, Mustafa Sodqi, Kamal Marhoum El filali

CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc

**Introduction :**

Le diabète est la première pandémie de maladies non contagieuses au monde. Il est considéré comme un terrain d'immunodépression qui favorise la survenue d'infections. Le but de notre travail est de déterminer les aspects épidémiologiques, cliniques, thérapeutiques et évolutifs des infections chez les patients diabétiques.

**Matériels et méthodes :**

Étude rétrospective descriptive dans laquelle ont été inclus 158 patients diabétiques, colligés au service des maladies infectieuses du CHU Ibn Rochd de Casablanca, sur une période de 2 ans allant de Janvier 2019 à Mai 2022.

**Résultats :**

L'âge moyen des patients était de 61 ans (16-87), avec une nette prédominance féminine (89 F/69 H).

89% des patients étaient diabétiques type 2 et 4% avaient un diabète de découverte fortuite. L'ancienneté moyenne du diabète était de 10 ans.

39% des patients recevaient des antidiabétiques oraux, 48% de l'insuline et 7% leur association.

30% des patients avaient des complications dégénératives.

35% des patients avaient des antécédents d'infections avec notion de prise d'antibiotiques récente.

Le motif d'hospitalisation le plus fréquent était l'infection urinaire dans 57% des cas et la méningite dans 14% des cas.

L'infection était à germe non identifié dans 35% des cas, à Escherichia Coli dans 28%, à Klebsiella Pneumoniae dans 10% des cas et à Staphylocoque dans 8% des cas. Les germes étaient multirésistants dans 33% des cas.

La moyenne de glycémie à l'admission était de 2,1g/L (0,78-5,8) et d'HbA1c de 10,8% (6-15,9).

Le traitement reposait sur des céphalosporines de troisième génération dans 60% des cas, des aminosides dans 29% des cas, des carbapénèmes dans 27% des cas, des fluoroquinolones dans 17% des cas et un traitement antituberculeux dans 8% des cas. La durée moyenne du traitement était de 39 jours (5-390).

L'évolution était favorable dans 84% des cas et défavorable dans 16% des cas, avec un taux de décès de 13% par choc septique ou par décompensation diabétique.

**Conclusion :**

Il est important de traiter rapidement les infections chez les diabétiques, qui sont non seulement plus fréquentes mais aussi plus graves avec un risque de complications qui peut majorer le pronostic vital et fonctionnel.

**Mots clés :** Diabète - Infection - Équilibre glycémique - Antibiotiques - Complications.



**B-P Bactériologie**

B-P18

Bactériologie

**The IbeA protein from Adherent-Invasive *Escherichia coli* is a flavoprotein displaying structural homology with FAD-dependent oxidoreductases**

Théo Paris<sup>1</sup> (theo.paris@umontpellier.fr), Agneta Kiss<sup>2</sup>, Luca Signor<sup>2</sup>, Georges Lutfalla<sup>1</sup>, Elisabetta Boeri-Erba<sup>2</sup>, Mickael Blaise<sup>3</sup>, Laure Yatime<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LPHI, Univ. Montpellier, CNRS, INSERM, Montpellier, France

<sup>2</sup> Univ. Grenoble Alpes, CEA, CNRS, IBS, Grenoble, France

<sup>3</sup> IRIM, Univ. Montpellier, CNRS, Montpellier, France

**Introduction and Objectives:**

Adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) is an intestinal pathogenic *E. coli* that strongly contributes to the high inflammatory burden characterizing Crohn's disease (CD) pathology. Virulence factors from this pathogen are considered as promising drug targets for the development of novel CD treatments. This includes the IbeA protein, specific to pathogenic *E. coli*, which was recently shown to play an important role in host cell invasion, intramacrophagic survival and replication. How these properties are achieved remains however largely unknown. Our objective is to unravel the structure-function relationships of IbeA from AIEC, in order to precise its biological function and validate it as a relevant drug target for anti-inflammatory strategies in CD.

**Methods:**

Using a recombinant IbeA protein, we performed native mass spectrometry and direct infusion ESI-MS analyses to determine the oligomeric state of the protein and identify the co-factor that bound to the protein during heterologous expression in bacteria. We further investigated the binding of this co-factor to IbeA, using size exclusion chromatography and tryptophan fluorescence measurements. Finally, we performed an *in silico* docking of the co-factor in a 3D-model of IbeA generated with AlphaFold, and we conducted mutational analyses to validate this binding model.

**Results:**

We here describe an efficient protocol to produce and purify a soluble form of IbeA from the cytosol of *E. coli*, yielding a highly pure recombinant protein suitable for biochemical and structural studies. We identified the co-factor captured by IbeA during bacterial expression as FAD (*flavin-adenine dinucleotide*). We further showed that IbeA associates into homodimers that can incorporate one FAD molecule in each protomer and we measured the binding affinity of IbeA for FAD based on tryptophan fluorescence quenching. 3D-modeling of the IbeA structure with AlphaFold revealed a clear structural homology with FAD-dependent oxidoreductases. Based on this 3D-model and *in silico* docking, we identified the putative binding pocket for the FAD molecule. Mutational studies are currently ongoing to validate the proposed IbeA:FAD interface.

**Conclusions:**

IbeA is an homodimeric flavoprotein homologous to FAD-dependant oxidoreductase.

*Mots clés* : IbeA - Flavoprotein - FAD-oxidoreductase - AIEC - Protein-ligand interactions.

**B-P Bactériologie**

B-P19

Bactériologie

**Efficient random transposon insertion in the *Mycoplasma hominis* genome**Jennifer Guiraud<sup>1,2</sup> (jennifer.guiraud@u-bordeaux.fr), Chloé Le Roy<sup>1</sup>, Cécile Bébéar<sup>1,2</sup>, Sabine Pereyre<sup>1,2</sup><sup>1</sup> UMR 5234 Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité, Université de Bordeaux, Bordeaux, France<sup>2</sup> Laboratoire de Bactériologie. CNR des IST bactériennes, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France**Introduction and Objectives:**

*Mycoplasma hominis* is an opportunistic human pathogen responsible for genital, neonatal and extragenital infections. The first reproducible polyethylene glycol-mediated transformation protocol developed for random transposon insertion in the *M. hominis* M132 reference strain using the pMT85 plasmid was published by our laboratory in 2019. However, the transformation efficiency (TE) of only 10<sup>-9</sup> transformants/UFC/μg plasmid was too low to generate a large mutant library to further study the mechanisms of *M. hominis* infections. In this study, we aimed to improve the TE in *M. hominis* by the construction of plasmids better adapted to this species.

**Material and Methods:**

Using the Gibson assembly method, the streptococcus-derived *tet(M)* gene of the original pMT85 plasmid was replaced by that of a *M. hominis* clinical isolate. In addition, the spiralin gene promoter was substituted by three different promoters driving the *tet(M)* gene expression: the *M. hominis* arginine deiminase promoter, the *M. hominis tufA*, and the previously developed 68-bp SynMyco mycoplasma-derived synthetic promoter. Transformation experiments were performed at least in triplicate with each construction using the *M. hominis* M132 reference strain. Single-primer PCRs followed by Sanger sequencing were performed to identify transposon insertion sites.

**Results, Discussion and Conclusion:**

No transformants were obtained using the arginine deiminase promoter and the TE was not improved using the *tufA* promoter. However, using the SynMyco promoter, the TE increased 100-fold, at 1.7 10<sup>-7</sup> transformants/UFC/μg plasmid. A total of 531 transformants were obtained in three experiments and the insertion site of 152 transformants could be determined. Although a few hot spots of insertion were observed, the *tet(M)* gene was randomly inserted in the *M. hominis* genome. Notably, in 11 transformants, the *tet(M)* gene was inserted in the recently reported *M. hominis* Integrative and conjugative element (ICE), which will be an asset to demonstrate the functionality of this ICE using mating experiments.

In conclusion, the development of an optimized transformation plasmid is a significant advance to generate a random transposon insertion library in the *M. hominis* species. Further experiments are needed to confirm the increased TE with this new plasmid using other *M. hominis* strains.

**Mots clés :** *Mycoplasma hominis* - Bacterial transformation - Tetracycline resistance marker.

## B-P Bactériologie

B-P20

Bactériologie

**Comparison of bacterial phenotype after biofilm lifecycle and evaluation of polymicrobial biofilm organization and antibiotics effect in a chronic wound environment**

Cassandra Pouget<sup>1</sup> (cassandra.pouget@gmail.com), Catherine Dunyach-Remy<sup>2</sup>, Alix Pantel<sup>2</sup>, Albert Sotto<sup>3</sup>, Jean-Philippe Lavigne<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Service de Microbiologie, CHU Nîmes, Nîmes, France

<sup>2</sup> Service de Microbiologie et d'Hygiène Hospitalière, CHU Nîmes, Nîmes, France

<sup>3</sup> Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Nîmes, Nîmes, France

Biofilm on the skin surface of chronic wounds (CW) is an important step which makes wound healing difficult to resolve. The polymicrobial nature inside this pathogenic biofilm is key for understanding the infection. Few models exist to study bacterial interactions inside CW. The aim of our study was to evaluate a technique of biofilm formation under flow condition (Bioflux™ 200) using an *in vitro* chronic wound-like medium (CWM) mimicking CW environment. We determined the biofilm organization and antibiotics effect on pre-formed and debrided biofilms.

Two clinical *S. aureus* and *P. aeruginosa* strains co-isolated from diabetic foot infections were collected. Strains were incubated in the Bioflux™ during 24h-72h in mono and co-culture (ratio1:1, bacteria added simultaneously) in the CWM vs a control medium. Quantification of biofilm formation and bacterial distribution were evaluated by confocal microscopy. After 72h, different antibiotics (Imipenem, ceftazidime, vancomycin, oxacillin, linezolid, daptomycin, dalbavancin; 10xMIC) were evaluated after a flow increase mimicking a wound debridement. Bacterial growth, early adhesion (Biofilm Ring Test®) and qRT-PCR on biofilm-encoding genes (*spaA*, *fnbpA*, *agrA*, *hla* for *S. aureus*; *lasI*, *rhII*, *pel*, *psl* for *P. aeruginosa*) were evaluated before (planktonic initial) and after (sessile and planktonic released from the biofilm) incubation in biofilm.

Our study showed that all species constituted a faster biofilm in the CWM. Biofilm organization is a non-random structure where bacteria are organized. Antibiotics on debrided biofilm indicated that imipenem and vancomycin were not able to reduce biofilm biomass contrary to linezolid, dalbavancin and ceftazidime. The genes expressions of biofilm markers (*lasI*, *rhII* and *fnbpA*, *spaA*) were overexpressed in sessile bacteria compared to bacteria released from the biofilm. Gene expression of a virulence factor (*hla* for *S. aureus*) was decreased in sessile cells. Biofilm-released bacteria presented a reduce growth plateau (difference: 2 log UFC/mL) but were able to adhere faster compared to initial cells.

Our data confirmed the impact of CW environment on biofilm formation and the limitation of antibiotics. They indicated that *P. aeruginosa* and *S. aureus* were non-randomly organized inside polymicrobial biofilm. The Bioflux™ is valuable to investigate bacterial cooperation, polymicrobial biofilm and evaluate new therapeutic targets against biofilm.

**Mots clés :** Chronic wound - Polymicrobial Biofilm - Bioflux TM 200 - Antibiotics - Live-imaging.

## B-P Bactériologie

B-P21

Bactériologie

**Involvement of the pleiotropic regulator CcpA in the physiology and stress response of the pathogen *Streptococcus agalactiae***

Anne-Emmanuelle Roux<sup>1</sup> (anne-emmanuelle.roux@etu.univ-tours.fr), Mathilde Bastat<sup>1</sup>, Isabelle Rosinski-Chupin<sup>2</sup>, Vanessa Rong<sup>1</sup>, Sébastien Holbert<sup>3</sup>, Laurent Mereghetti<sup>1,4</sup>, Emilie Camiade<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ISP, Université de Tours, INRAe, Tours, France

<sup>2</sup> CNRS UMR3525, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>3</sup> ISP, Université de Tours, INRAe, Nouzilly, France

<sup>4</sup> CHRU Tours, Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Tours, France

*Streptococcus agalactiae* is a leading cause of infections in neonates. This opportunistic pathogen colonizes the vagina where it has to cope with acid pH and hydrogen peroxide produced by lactobacilli. Thus, in the host, this bacterium has the necessity to set up numerous adaptation mechanisms of which the pleiotropic regulators are part. Notably, several studies have shown links between regulation of carbon metabolism and mechanisms of adaptation and virulence. This is the case of the transcriptional regulator CcpA (catabolite control protein A) that has previously been demonstrated as a major regulator involved in carbon catabolite repression in Gram-positive bacteria. This pleiotropic regulator regulates genes involved in carbon metabolism but also in other numerous mechanisms. By a transcriptomic analysis, we highlighted here that CcpA regulates 13.5% of the genome. We confirmed by electrophoretic mobility shift assays (EMSAs) that the DNA binding sites called *cis*-acting catabolite responsive element (*cre*) determined for other streptococci was effective in *S. agalactiae*. We reported here that CcpA is of capital importance for survival in acid and oxidative stresses, and is implicated in macrophages survival by regulating several genes putatively or already described as involved in stress response. Among them, we focused our study on *SAK\_1689* that codes for a putative UspA protein. We first demonstrated that *SAK\_1689*, highly repressed by CcpA, is overexpressed in oxidative stress. We showed that the overexpression in the  $\Delta$ *ccpA* mutant under oxidative stress was harmful for the bacterium.

**Mots clés :** *Streptococcus agalactiae* - Catabolite repression - Stress response - CcpA.

**BM-P Biotechnologies microbiennes**

BM-P01

**Propagating microbial communities: better have more than one trick up one's sleeve**

Alexis Dijamentiuk (alexis.dijamentiuk@univ-lorraine.fr), Cécile Mangavel, Anne-Marie Revol-Junelles, Frédéric Borges

*LIBio, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*

**Introduction and Objectives:**

Microbial communities harbor important biotechnological potential relevant to health, bioremediation, bioprotection and food fermentations. From the prospective of these applications emerges the need to develop new tools and techniques to propagate complex mixtures of microorganisms. In particular, these tools must be able to propagate community structure and functionality. In this context, we investigated microbial community propagation by using different tools.

**Material and Methods:**

Two cultivation techniques have been compared for the propagation of bacterial communities, namely broth culture (classical culture) and emulsified broth culture (W/O emulsion). These techniques differ by the degree of interaction establishing between bacteria during cultivation. Indeed, while bacteria share a same growth space in classical setups, they are confined into nurturing droplets and spatially segregated by the oil continuous phase in W/O emulsion. After validating the concept of emulsified culture with a bacterial model demonstrating strong bacteriocin-mediated antagonism in classical culture, increasingly complex microbial communities (mock community, communities from feces, soil, barley grain and raw milk) were propagated using both cultivation techniques, in a single step or by serial passages. We monitored the structures and diversity of propagated communities in classical culture and W/O emulsion using 16S rRNA metabarcoding.

**Results, Discussion and Conclusion:**

Emulsified mixed cultures effectively alleviated the effects of competition with a binary model of antagonistic bacteria. Cultivation of complex communities in classical setup and W/O emulsion yielded communities with substantial differences in structure and diversity. Propagation of communities by serial passages showed that while the use of W/O emulsion could produce novel community structures, only the use of classical culture lead to community stabilization.

In a broader perspective, this work highlights the interest of using different culture tools for the valorization of microbial communities and innovation in the field of community engineering.

*Mots clés* : Mixed cultures - Microbial communities - Competition - Cultivation methods.

**BM-P Biotechnologies microbiennes**

BM-P02

**Enrichissement de populations microbiennes électroactives sur des électrodes en carbone pour la valorisation bioélectrochimique des effluents de fermentation sombre en bio-H<sub>2</sub>**

Silvia De los Santos Meran (silvia.delossantosmeran@toulouse-inp.fr), Benjamin Erable, Luc Etcheverry

Laboratoire de Génie Chimique (LGC), Toulouse INP-ENSIACET, Toulouse, France

**Introduction et objectifs :**

L'hydrogène vert est un vecteur énergétique clé pour un avenir plus durable, tourné vers le remplacement des combustibles fossiles. Les déchets agro-industriels constituent dans ce sens une ressource importante valorisable en bio-H<sub>2</sub> par fermentation sombre (FS). Les effluents de FS, chargés en acides gras volatils (AGVs), acétate et butyrate majoritairement, peuvent être raffinés en bio-H<sub>2</sub> par électrolyse microbienne. Dans ce contexte, l'objectif de nos travaux de recherche est centré sur la sélection et l'adaptation de microorganismes électroactifs capables d'oxyder spécifiquement en continu les effluents de FS.

**Matériels et méthodes :**

Nos expériences ont été menées d'abord dans des cellules d'électrolyse microbienne conduites en batch à partir d'effluents synthétiques de FS supplémenté en acétate, ou bien avec un mélange butyrate – acétate. Les inocula microbiens proviennent de boues activées (BA) de STEP. Les performances des microorganismes électroactifs enrichis à partir des BA sur la surface des électrodes ont été évaluées en termes de génération du courant électrique, d'abattement des substrats, et de rendement faradique. La colonisation de la surface des électrodes a été observée au MEB et au microscope à épifluorescence.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les premières générations de biofilms électroactifs enrichis sur les électrodes de carbone à partir de BA et d'acétate, ont présenté de faibles activités bioélectrocatalytiques et peu de reproductibilité. Pour améliorer la reproductibilité, la méthode d'enrichissement des biofilms secondaires a été mise en place. Cette méthode utilise un biofilm électroactif comme inoculum pour former un biofilm de seconde génération. Grâce à cette méthode, l'activité bioélectrocatalytique, le rendement faradique et la reproductibilité des biofilms secondaires ont été améliorés en comparaison de ceux des biofilms primaires.

Concernant l'adaptation de la communauté microbienne à l'oxydation des AGVs, les premiers cycles de formation de biofilms électroactifs primaires, avec un mélange de substrats (acétate + butyrate) ont donné des densités de courant de 1,5 A.m<sup>-2</sup>. Par ailleurs, en utilisant seulement le butyrate comme substrat, l'activité bioélectrocatalytique a seulement atteint 0,6 A.m<sup>-2</sup>. La comparaison des communautés microbiennes à partir des différents substrats devraient nous permettre de trancher, si oui ou non, l'acétate et le butyrate entraînent la sélection de populations différentes.

*Mots clés :* Microorganismes électroactifs - Electrolyse microbienne - Colonisation - Bio-H<sub>2</sub>.

**BM-P Biotechnologies microbiennes**

BM-P03

**Optimisation of actinomycetal biosynthesis of silver nanoparticles and evaluation of their antibacterial activity and synergetic effect with commercial antibiotics**

Meroua Safa Mechouche<sup>1</sup> (mechouche.safa@yahoo.com), Messaad Chems El Houda<sup>2</sup>, Fateh Merouane<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Biotechnologies, Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie, Ville Universitaire Ali Mendjeli, Constantine, Algérie

<sup>2</sup> Département SNV, Faculté des sciences, Université Mohames Boudiaf, M'sila, M'sila, Algérie

Metallic nanoparticles are a promising technology for the design of antimicrobial agents against drug-resistant pathogens. The biosynthesis of silver nanoparticles (AgNPs) paved the way to protect the environment by decreasing the use of toxic chemicals and eliminating biological risks in the biomedical applications. It was also used to overcome the emergence of antibiotics resistance. Thus, the objective of this study was: to optimize the biosynthesis of AgNPs from actinomycetal strains, and to evaluate their activities against human pathogenic bacteria.

In this study, 17 different actinomycetal strains isolated from hydrocarbon-contaminated soils were evaluated for their ability to produce NPs. After a selection process, S12 and S16 were the main strains capable of synthesizing AgNPs extracellularly, and they were determined using molecular identification based on the sequencing of the 16S rDNA gene as: *Streptomyces thermocarboxydus* and *Streptomyces tuiurus* respectively.

the optimization of the biosynthesis conditions have shown that a temperature of 30 °C, pH of 7, a metal salt concentration of 1 mM, and a period of 72 h in the dark are the most suitable parameters for the biosynthesis of the AgNPs.

The biosynthesized AgNPs that were analyzed by UV-visible spectroscopy, resulted in a specific peak at a wavelength of ( $\lambda = 400$  nm). The DRX analyses showed characteristic peaks of the AgNPs at (1 1 1), (2 0 0), (2 2 2), and (3 1 1), which validated the presence and crystalline nature of the biosynthesized NPs. Zetasizer analysis showed an average size and zeta potential of 35nm (-31.1 mV), and 64nm (-32.3mV) for the two strains S12 and S16 respectively, while the SEM-EDS analysis confirmed the spherical shape of AgNPs and the presence of Ag atoms in the elemental composition.

The biosynthesized AgNPs indicated adequate antibacterial activity against 5 out of the 6 strains tested in this study, using minimum inhibitory concentration (MIC) that ranged from 217.18  $\mu\text{g/mL}$  to 1137.5  $\mu\text{g/mL}$ . The AgNPs were combined with commercial antibiotics and the synergistic effect of the combination was also assessed against *MRSA* which resulted in increased antibacterial activity of AgNPs in the presence of the strain S16.

**Mots clés :** Biosynthesis - AgNPs - Antibacterial activity - Nanoparticle-antibiotic combination - MRSA.

**BM-P Biotechnologies microbiennes**

BM-P04

**Identification et caractérisation de souches de *Bacillus* sp. isolées au Maroc**

Bahia Rached<sup>1,2</sup> (rached@cnrst.ma), Taha Chouati<sup>1,3</sup>, Serigne Inssa Ngom<sup>4</sup>, Mohammed Ajdig<sup>1,5</sup>, El Mostafa El Fahime<sup>1</sup>, Christel Béra-Maillet<sup>4</sup>, Mohamed Amar<sup>1</sup>, Fouad Mellouki<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Analyses Biologiques et Collections Coordonnées Marocaines de Microorganismes, Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, Maroc*

<sup>2</sup> *Laboratoire de Chimie-Physique et Biotechnologie des Biomolécules et des Matériaux, Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia, Mohammedia, Maroc*

<sup>3</sup> *Biologie médicale, Pathologie humaine et Expérimentale et Environnement, Faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat, Rabat, Maroc*

<sup>4</sup> *Micalis Institute, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France*

<sup>5</sup> *Microbiology and Molecular Biology Team, Center of Plant and Microbial Biotechno, Faculté des Sciences de Rabat, Rabat, Maroc*

**Introduction et objectifs :**

Au Maroc, des microorganismes appartenant au genre *Bacillus* ont été isolés de différents écosystèmes qualifiés d'extrêmes, tels que le désert du Sahara, les sources chaudes et les marais salants. Plus de 360 isolats ont ainsi été regroupés dans les Collections Coordonnées Marocaines de Microorganismes (CCMM). Afin de valoriser les ressources microbiennes génétiques du Maroc, il est important de bien caractériser ces souches et leurs fonctions potentielles. L'objectif de notre étude a consisté à cribler une vingtaine de souches de *Bacillus* sp. environ isolées de ces écosystèmes extrêmes pour différentes activités enzymatiques, et à étudier leurs propriétés extrémophiles.

**Matériels et méthodes :**

19 souches de *Bacillus* sp, dont l'espèce n'est pas connue, ont été caractérisés pour la production d'enzymes d'intérêt biotechnologique, telles que les amylases, les cellulases, les protéases et les lipases grâce à leur mise en culture avec des substrats spécifiques. L'affiliation taxonomique des souches a été précisée grâce au séquençage du gène *rpoB*, des house-keeping-genes et au Multi-Locus-Sequence-Typing (MLST). En outre, leur croissance à de hautes températures, jusqu'à 65°C, ainsi qu'à de fortes salinités, jusqu'à 15% de NaCl, ont été étudiés. Le métabolisme des souches a été investigué à l'aide de galeries API 50CH.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'examen des souches à l'état frais a montré que toutes sont immobiles à l'exception d'une souche. Parmi les isolats étudiés, 68% sont catalase positif et 95% sont oxydase positif. Cinq souches poussent à des températures allant jusqu'à 65°C, et sont donc thermophiles, et quatre souches tolèrent des concentrations en NaCl allant jusqu'à 15%, et sont donc halotolérantes. Concernant la production d'enzymes d'intérêt biotechnologique, toutes les souches étudiées possèdent au moins l'une des activités enzymatiques recherchées et cinq présentent les activités amylase, cellulase, protéase et lipase. Le typage MLST et l'identification par le séquençage du gène *rpoB* ont montré que les dix-neuf isolats appartiennent aux espèces *Bacillus licheniformis* et *Bacillus paralicheniformis*.

En conclusion, ce travail a mis en évidence des souches de *Bacillus* extrémophiles d'intérêt pour les Biotechnologies dont la caractérisation des systèmes enzymatiques devra être approfondie.

**Mots clés :** Bacillus - Thermophiles - Halotolérance - Enzymes - MLST.



**BM-P Biotechnologies microbiennes**

BM-P05

**Développement d'assemblages supramoléculaires photoactifs à structure bis-imidazolium macro-N-bis-hétérocyclique : nouveaux outils de photothérapie pour le contrôle des maladies infectieuses**

Hannah Kunstek<sup>1</sup> (mihayl.varbanov@univ-lorraine.fr), Hiba Hussein<sup>2</sup>, Bertrand Fournier<sup>3, 4</sup>, Mihayl Varbanov<sup>2</sup>, Florence Dumarçay-Charbonnier<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Graz University of Technology, Graz, Austria

<sup>2</sup> Université de Lorraine, CNRS - L2CM, Nancy, France

<sup>3</sup> Institut Galien Paris-Saclay, CNRS UMR 8612, Université Paris-Saclay, Châtenay-Malabry, France

<sup>4</sup> Laboratoire Structures, Propriétés et Mod, CNRS UMR 8580, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France

<sup>5</sup> Laboratoire de Virologie, Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU) de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy, France

**Contexte :**

Le développement de systèmes moléculaires photoactifs, avec application en photothérapie, ouvre la voie au traitement de nombreuses pathologies, y compris celles d'origine infectieuse – bactérienne ou virale, par la lumière. Nos travaux récents, concernant la préparation de ligands potentiels de macro-N-bis-hétérocycles bis-imidazolium NHC (carbène N-hétérocyclique) en coordination avec des métaux de transition (Ag(I)), ont montré des propriétés photophysiques et biologiques intéressantes de ces molécules.

**Objectifs :**

L'objectif de ce travail est le développement de photosensibilisateurs originaux à base de ligands carbènes N-macro-bis-hétérocycliques originaux et des complexes cationiques métalliques de composés isolés. L'accent de la caractérisation biologique des composés est mis sur l'évaluation des propriétés anti-infectieuses des molécules, en présence ou non d'irradiation activatrice.

**Méthodes :**

Nous avons évalué les propriétés antibactériennes et antivirales des composés, ainsi que l'évaluation de leur impact sur les cellules hôtes. Les propriétés photo-physiques (émission de fluorescence, production d' $^1O_2$ , propriétés photoacoustiques), les propriétés physico-chimiques et les relations structure-activité ont également été analysées.

**Résultats :**

Nous avons synthétisé de nouveaux macrocycles homoleptiques bis-hétérocycliques bis-imidazolium hydrosolubles avec des unités bipyridine ou bithiazole (L1-L6), ainsi que des intermédiaires et dérivés intéressantes, pour une application directe en photothérapie anti-infectieuse (aiPT). Les composés ont montré une bioactivité prometteuse, particulièrement intéressante dans le cas des complexes avec des métaux de transition. Ces observations concernent notamment la production d'oxygène singulet ( $^1O_2$ ), dont le rendement peut atteindre 84% pour certains des macrocycles obtenus, ainsi que les activités antibactériennes évaluées sur des bactéries pathogènes Gram-positives et Gram-négatives.

## BM-P Biotechnologies microbiennes

BM-P06

## Quel rôle jouent les antibiotiques dans la physiologie de la bactérie productrice ?

Marie-Joelle Virolle (marie-joelle.virolle@i2bc.paris-saclay.fr)

Département de Microbiologie - Groupe «Métabolisme Energétique des Streptom, Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC), Gif-sur-Yvette, France

Les bactéries appartenant à l'ordre des Actinomycètes et plus particulièrement au genre *Streptomyces* produisent environ 2/3 des antibiotiques d'usage courant. Les antibiotiques sont souvent considérés comme des armes conférant un avantage sélectif à leurs producteurs dans leur niche écologique. Cependant, la production de ces molécules ayant lieu dans des conditions environnementales spécifiques, et notamment en condition de limitation nutritionnelle en phosphate, elle est corrélée à un état métabolique particulier. Ceci suggère que ces molécules bio-actives pourraient jouer un rôle important dans la physiologie de la bactérie productrice dans ce contexte particulier. Des données expérimentales récentes de notre groupe ainsi qu'une analyse approfondie de la littérature scientifique nous ont conduit à proposer que, dans des conditions de limitation en phosphate (de modérée à sévère), qui sont connues pour générer un stress énergétique, est déclenchée une activation de métabolisme oxydatif de la bactérie qui vise à rétablir sa balance énergétique mais génère concomitamment du stress oxydant. C'est dans ce contexte que la biosynthèse d'antibiotiques est généralement induite. Certains antibiotiques capables de capturer les électrons excédentaires des ROS/NOS, joueraient un rôle d'antioxydant mais d'autres auraient un rôle crucial dans la régulation du métabolisme énergétique des bactéries productrices. Une nouvelle classification des antibiotiques, basée sur la nature des cibles de ces molécules et sur leur impact sur la physiologie cellulaire, a donc été proposée. Les antibiotiques de type I connus pour cibler les membranes cellulaires induiraient une lyse d'une fraction de la population. Le relargage du contenu cellulaire des cellules lysées dans le milieu extérieur servirait alors de nutriments, et notamment de source de phosphate, à la population survivante. Les antibiotiques de type II, inhiberaient la respiration par différentes stratégies, afin de réduire la génération d'ATP et ainsi adapter cette dernière à une faible disponibilité en phosphate. Enfin, les antibiotiques de type III connus pour inhiber les processus anaboliques consommateurs d'ATP contribueraient à économiser l'ATP dans des conditions de carence sévère en phosphate. C'est ce dernier type d'antibiotiques qui est le moins toxique et donc le plus utilisé en médecine du fait qu'il cible des processus spécifiquement bactériens.

**Mots clés :** Antibiotiques - Stress oxydant - Métabolisme énergétique - Limitation nutritionnelle - Phosphate.

## Références :

1. Lejeune C, Sago L, Cornu D, Redeker V and Virolle MJ (2022) A proteomic analysis indicates that oxidative stress is the common feature triggering antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* and in the *pptA* mutant of *Streptomyces lividans*. *Frontiers in Microbiology* 12; 813993. doi: 10.3389/fmicb.2021.813993.
2. Shikura N, Darbon E, Esnault C, Deniset-Besseau A, Xu D, Lejeune C, Jacquet E, Nhiri N, Sago L, Cornu D, Werten S, Martel C and Virolle MJ (2021) The Phosin PptA Plays a Negative Role in the Regulation of Antibiotic Production in *Streptomyces lividans* *Antibiotics* 10(3), 325; doi.org/10.3390/antibiotics10030325.
3. Virolle MJ (2020) Challenging View: Antibiotics Play a Role in the Regulation of the Energetic Metabolism of the Producing Bacteria. *Antibiotics (Basel)* 9(2), 83. doi.org/10.3390/antibiotics9020083.
4. Millan-Oropeza A; Henry C; Blein-Nicolas M ; Aubert-Frambourg, A; Moussa F; Bleton J; Virolle MJ (2017) "Quantitative proteomic analysis revealed different metabolic features between *Streptomyces coelicolor* and *Streptomyces lividans*" *Journal of Proteome Research* 16(7):2597-2613. doi: 10.1021/acs.jproteome.7b00163.
5. Esnault C, Dulermo T, Smirnov A, Askora A, David M, Deniset-Besseau A, Holland IB. and Virolle MJ (2017) Strong antibiotic production is correlated with highly active oxidative metabolism in *Streptomyces coelicolor* M145" *Scientific Reports* 7(1):200. doi: 10.1038/s41598-017-00259-9.

**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P01

Diagnostic microbiologique

**Place de la PCR grippe en pratique de ville au cours de la cinquième phase de l'épidémie de COVID-19 en Occitanie**

Matthieu Bernier<sup>1</sup> (matthieu.bernier@inovie.fr), Aude Fabre<sup>1</sup>, Victoria Gerard<sup>1</sup>, Agathe Scolan<sup>1</sup>, Thomas Busiakiewicz<sup>1</sup>, Adrien Galinier<sup>1</sup>, Sophie-Charlotte Bleunven<sup>2</sup>, Anne Bruno<sup>1</sup>, Yannick Rouquet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Inovie CBM, Muret, France

<sup>2</sup> Laboratoire Inovie CBM, Toulouse, France

**Introduction et objectifs :**

Notre étude présente l'apport de la PCR grippe couplée à la recherche de COVID en pratique de ville. Nous avons évalué l'apport de cette méthode, couplé au diagnostic COVID, pendant l'hiver 2021-2022.

**Matériels et méthodes :**

62879 tests de grippe ont été réalisés entre le 1/11/2021 et 30/4/2022 sur prélèvements nasopharyngés ou salivaires. La méthode utilisée est le test multiplex IDTMSARS-CoV2/Influenzae Triplex (ID Solution, Montpellier France) qui cible 2 gènes du COVID-19 (N et RdRP), un gène pour la grippe A (MP), un gène pour la grippe B (NSP) et un contrôle interne endogène. Après une étape de préparation FAST ou LYSE direct sur automate VANTAGE (Hamilton) ou ASSIST PLUS (Integra), l'amplification est réalisée sur CFX (bioRad) ou QS7 (ThermoFisher).

3878 patients avaient un test grippe sur prescription médicale et 59001 tests de grippe ont été réalisés alors qu'ils n'étaient pas demandés lors de la recherche du COVID-19.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nos données montrent l'apparition précoce de la grippe S45, une circulation sur plus de 22 semaines (>10 cas / semaine), étant active sur 16 semaines (>50 cas / semaine) avec des pics sur 6 semaines entre S6 et S15 (> 150 cas / semaine) et enfin, une fin de l'épidémie en S18 (< 5 cas / semaine).

La prévalence de la grippe en cas de prescription est de 37,3% versus 2,0% en l'absence de prescription.

Le diagnostic de grippe a été posé chez 1448 avec prescription et 1181 patients sans prescription, ce qui démontre l'intérêt de laisser cet examen sur prescription médicale et de rendre les résultats des tests positifs non prescrits.

En cas de prescription sur cette période, les patients positifs à la grippe étaient négatifs au COVID dans 98,2% des cas et ceux négatifs à la grippe étaient positifs au COVID dans 23,5% des cas.

Ce test combiné COVID/Grippe représente un gain d'efficacité pour les laboratoires qui doivent être en mesure de répondre à la fois à l'augmentation des tests COVID en situation épidémique, à la détection précoce de nouveaux variants du COVID-19 et au difficile diagnostic différentiel des infections respiratoires en saison hivernale

**Mots clés :** PCR - Combiné - Grippe - Covid - Prescription.

**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P02

**Suivi épidémiologique des variants COVID-19 par criblage et par séquençage NGS au cours de la cinquième phase de l'épidémie en Occitanie**

Matthieu Bernier<sup>1</sup> (matthieu.bernier@inovie.fr), Aude Fabre<sup>1</sup>, Thomas Duret<sup>2</sup>, Anne Bruno<sup>1</sup>, Stephan Kemeny<sup>2</sup>, Yannick Rouquet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Inovie CBM, Muret, Toulouse, France

<sup>2</sup> Laboratoire Inovie GEN-BIO, Gravanches, Clermont Ferrand, France

**Introduction et objectifs :**

Au cours de la cinquième phase épidémique du COVID-19, des méthodes de criblage des échantillons COVID-19 positifs, associées au séquençage par NGS lors des enquêtes flash, ont été déployées. Cela nous a permis de déterminer leurs performances pour détecter et suivre l'apparition du variant OMICRON en pratique de ville.

**Matériels et méthodes :**

2465 séquençages par technique NGS ont été réalisés entre le 1/11/2021 et 15/4/2022 parallèlement aux méthodes de criblage de type PCR tests multiplex (ID Solution, Montpellier France) ciblant 3 mutations du COVID-19 (kit Evolution : E484K, E484Q, L452R ; kit Revolution : E484K, L452R, K417N) avec une amplification des cibles sur CFX (bioRad) ou QS7 (ThermoFisher). La technique NGS est un séquençage massif sur Gridion selon les protocoles ONT Native Barcoding-ARTIC ou Midnight avec analyse bioinformatique réalisée sur epi2Me Labs (ONT, Oxford, UK).

**Résultats, discussion et conclusion :**

Le variant OMICRON a été détecté sur 1949 échantillons en NGS (79,1%), le variant DELTA sur 133 échantillons (5,4%), 3 autres variants sur 5 échantillons (20A, 21A, 20C). 378 échantillons sont revenus indéterminés en NGS.

Le premier variant OMICRON identifié (B.1.1.529) a été confirmé en NGS semaine 51 avec un remplacement progressif du variant DELTA entre les semaines 52 et semaine 7, l'apparition du BA.1 semaine 53, du BA.2 semaine 3 et du BA.5 semaine 18.

La méthode de criblage EVOLUTION utilisée pour la surveillance du variant DELTA avec le profil A0B0C1, présente un profil A0B0C0 pour les variants OMICRON (B1.116 et BA.1). Couplée au séquençage par NGS, elle a permis de confirmer l'arrivée du variant OMICRON en Occitanie.

La méthode de criblage REVOLUTION utilisée ensuite sur 1909 OMICRON montre les profils A0B9C0D1 (98,7%), A0B9C0D0 (0,4%) et A0B9C1D1 (0,9%). Elle permet le suivi du variant OMICRON dès le criblage avec des performances adaptées quand sa prévalence est forte (98,6%) avec une VPP de 100%, une VPN de 80%, une sensibilité de 99,6% et une spécificité de 100% pour la mutation K417N.

L'apport du NGS sur des panels hebdomadaires d'échantillons est complémentaire pour surveiller l'apparition de nouveau variant et les confronter aux méthodes de criblage en place au laboratoire.

*Mots clés :* COVID - OMICRON - Criblage - NGS - Séquençage.

**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P03

**Impact of disinfectants neutralizing buffers used for sampling methods on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in monospecies biofilm**

Thomas Brauge<sup>1,2,3</sup> (thomas.brauge@anses.fr), Guylaine Leleu<sup>1</sup>, Anthony Colas<sup>1,2</sup>, Graziella Midelet<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratory for Food Safety, Anses, Boulogne-sur-Mer, France

<sup>2</sup> Members of the EU Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*, Maisons-Alfort, France

<sup>3</sup> Members of the RMT ACTIA CHLEAN, <https://www.actia-asso.eu/projets/chlean-2/>, Paris, France

**Introduction:**

The ready-to-eat products can be contaminated during processing by pathogen and/ or spoilage bacteria, which persist in the industrial environment. To check the bacterial contamination present on the surfaces in the food processing plants, the professionals must regularly use surface sampling methods (sponge, swab, gauze pad...) to detect the pathogen such as *Listeria monocytogenes*. Due to the presence of disinfectant residues on the surface, many sampling methods are moistened in a nutrient broth combined with a neutralizing buffer to inactivate disinfectant residues that can have a slight deleterious impact on bacterial cells. This could be a source of false negatives.

**Purpose:**

The objective of this study was to evaluate the impact of the neutralizing buffer on the viability of *L. monocytogenes* after sampling.

**Methods:**

In this study, biofilms of *L. monocytogenes* were cultivated on stainless steel for 24 hours at 8°C or 20°C. The biofilms were treated with two different disinfectants or with sterilized water (control) and then were neutralized with 6 different commercially neutralizing buffers. The bacterial populations were detached by swab and analyzed directly after sampling and after 24 hours of incubation at 8°C to simulate the transport time before samples analysis (EN ISO 18593 standard, 2018). The analyses included agar enumeration to quantify the viable culturable (VC) population and qPCR and PMA-qPCR assays to quantify the p dead and viable populations of *L. monocytogenes*.

**Results and conclusions:**

In our tested conditions, we show that if the cells are not stressed with disinfectant the neutralizers can be applied but do not have a bacteriostatic effect. If the cells are stressed by the disinfectant, neutralizers can have a deleterious effect on bacterial cells (induction of VBNC state) on short exposure. However cells can recover their cultivability if the sample is stored for 24 hours at 8°C.

**Mots clés :** *Listeria monocytogenes* - Biofilm - Sampling methods - Neutralizing buffers - Disinfectants.

**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P04

Diagnostic microbiologique

**Appréhender la dPCR, Pour améliorer la gestion du risque de la pourriture racinaire du petit pois**

Jérémy Di Mattia<sup>1</sup> (dimattia.jeremy@iage-france.com), Simon Gibert<sup>2</sup>, Véronique Edel-Hermann<sup>2</sup>, Olivier Couillerot<sup>1</sup>, Christian Steinberg<sup>2</sup>

<sup>1</sup> IAGE, Montpellier, France

<sup>2</sup> INRAE, Dijon, France

*Aphanomyces euteiches* Drechs est un oomycète pathogène du sol qui provoque la pourriture des racines des légumineuses, l'une des maladies les plus graves affectant la production de ces cultures dans le monde. L'évitement des champs infestés sur la base de l'évaluation du risque de maladie avant le semis des pois reste la principale méthode disponible pour gérer la maladie, mais des essais biologiques chronophages sont nécessaires pour évaluer la gravité de la maladie. Sur la base de 40 échantillons de sol pour une parcelle de 12 ha, une méthodologie récente reposant sur la PCR digitale (dPCR) a été développée pour quantifier les faibles niveaux d'inoculum d'*A. euteiches* dans les sols naturellement infestés et une relation densité d'inoculum (mesurée par dPCR) - indice nécrotique racinaire (mesuré par bio-essais) a pu être établie (Gibert et al 2021, Co-financement d'une thèse INRAE-Bonduelle). Cependant, un tel diagnostic entraînerait des coûts trop importants pour l'agriculteur. IAGE, société spécialisée dans les diagnostics environnementaux en dPCR, a optimisé la méthode développée par INRAE pour quantifier la densité d'inoculum des 40 échantillons poolés en un seul. Les résultats ont montré que la quantification du pool est supérieure à la moyenne des quantifications individuelles. Pour comprendre cette différence, deux hypothèses, (i) expérimentale et (ii) mathématique, sont avancées : (i), le sol est sans doute riche en ADN de tout type et les systèmes d'extraction pourraient être rapidement saturés. Plus le sol est riche en ADN, moins il est facile de récupérer l'ADN cible. Le fait de pooler les échantillons permettrait de diluer les ADN cibles et non-cibles limitant l'effet saturation du système d'extraction. (ii) Une quantification de l'ADN par PCR est non linéaire, associée à la variabilité biologique cela entraîne des écarts à la moyenne. Ces hypothèses devront être testées expérimentalement pour mettre en évidence leur exactitude.

**Mots clés :** *Aphanomyces* - Pourriture racinaire du petit pois - PCR digitale - Diagnostic.

**Références :**

1. Gibert, S., et al., (2021). Risk assessment of *Aphanomyces euteiches* root rot disease: quantification of low inoculum densities in field soils using droplet digital PCR. *European Journal of Plant Pathology*, 161: 503-528.

**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P05

Diagnostic microbiologique

**Sysmex UF-4000™, une réelle avancée technologique ?**

Thomas Gueudet (thomas.gueudet@ch-colmar.fr), Guillaume Gregorowicz, Olivier Augereau, Dominique De Briel

*Laboratoire de microbiologie, Hopitaux civils de Colmar, Colmar, France*

**Objectifs :**

Le Sysmex UF-4000™ est un automate de cytologie urinaire de nouvelle génération dont le laser bleu doit permettre d'améliorer les performances analytiques par rapport à ses prédecesseurs.

Le but de cette étude est de déterminer le taux de contrôle et les principales alertes, la qualité de la décontamination inter échantillons, et les Valeurs Prédictives Positives (VPP) et Négatives (VPN).

**Matériel et méthode :**

4807 échantillons d'urines de patients ont été analysés par l'UF-4000 (cytometre) couplé à l'UD 10 (analyseur d'image).

Des urines riches en bactéries et des suspensions bactériennes ont été réalisées et passés en alternance avec des tubes d'eau physiologique pour déterminer la contamination inter échantillons.

**Résultats :**

Le taux d'alerte est de 11%, impossibilité de différencier les globules rouges levures(45%), et l'identification par UD10 des cristaux (40%) et cylindres (15%).

Il n'y a pas de contamination inter échantillons concernant les globules rouges et les globules blancs.

Concernant la contamination bactérienne, si le chiffre de bactérie sur le tube d'eau est toujours très faible nous constatons la croissance de bactéries sur les tubes d'eau et cela malgré les différents protocoles de rinçages testés. La valeur prédictive positive pour les bacilles à gram négatif est tout à fait excellente (supérieur à 95%, avec une culture monomicrobienne dans 72% des cas).

Concernant les gram positifs nous n'avons pas trouvé le seuil adéquat.

La valeur prédictive négative est biaisé dans notre hôpital (chimiothérapie, sonde, urologie). 1800 urines ont été décalés négatives en bactéries par l'automate, et nous retrouvons en culture 753 urines avec une croissance bactérienne majoritairement à 103 UFC/ml. Il s'agit dans la plupart du temps de la contamination et pas des infections.

**Conclusion :**

Il n'y a plus de problème de différenciation entre cristaux et globules rouges comme par le passé.

En revanche la distinction levures entre hématies demeure particulièrement compliqué.

Il n'est pas possible d'ensemencer les urines après passage sur l'automate du fait d'un fort risque de contamination quelque soit les rinçages.

Le rendu à J0 d'une infection probable à bacille à gram négatif est désormais possible avec cette automate.

*Mots clés :* sSysmex UF 4000 - Contamination croisée - VPP - VPN - Taux de contrôles.

**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P06

Diagnostic microbiologique

**Ocular *Spiroplasma ixodetis* in Newborns, France**

Anne Le Flèche - Matéos<sup>1</sup> (anne.le-fleche@pasteur.fr), Alexandre Matet<sup>2</sup>, François Doz<sup>3</sup>, Pascal Dureau<sup>4</sup>, Nathalie Cassoux<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Pasteur, Paris, France

<sup>2</sup> Institut Curie, Paris, France

<sup>3</sup> Université Paris Descartes, Paris, France

<sup>4</sup> Fondation Ophtalmologique Rothschild, Paris, France

**Background:**

Cataract and uveitis are rare in newborns but potentially blinding. Two *Spiroplasma* infections have been reported in humans: an intraocular infection in a newborn with Group VI *Spiroplasma*, now known as *S. ixodetis*, and a systemic infection in an immunocompromised adult with *S. turonicum*.

**Objectives:**

We describe 3 newborns in France who had cataract and intraocular inflammation and in whom *S. ixodetis* was detected in ocular samples

**Methods:**

We conducted microbiological investigations of lens and anterior vitreous aspirates from the right eye, including bacteriologic and mycologic cultures, and 16S-rRNA-based PCR for bacterial identification

**Results:**

*Spiroplasma ixodetis* was detected in lens aspirates using bacterial 16S-rRNA PCR and transmission electron microscopy.

**Conclusion:**

Because affected infants are at high risk for visual impairment or blindness, pediatricians, ophthalmologists, and microbiologists should be aware of possible *S. ixodetis* ocular infections and collect clinical, bacteriologic, and epidemiologic data on this emerging pathogen.

These findings, which suggest maternal-fetal infection, are consistent with previous experimental *Spiroplasma*-induced cataract and uveitis. We recommend systematic bacterial 16S-rRNA PCR analysis on intraocular fluids and lens material from neonates with cataract and uveitis.

**Mots clés :** Molecular identification - Cataract - Uveitis - Newborn - Spiroplasma.

**Références :**

1. Lorenz B, Schroeder J, Reischl U. First evidence of an endogenous Spiroplasma sp. infection in humans manifesting as unilateral cataract associated with anterior uveitis in a premature baby. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2002; 240:348–53.
2. Aquilino A, Masiá M, López P, Galiana AJ, Tovar J, Andrés M, et al. First human systemic infection caused by Spiroplasma. J Clin Microbiol. 2015;53:719–21.



**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P07

Diagnostic microbiologique

**Comparaison de deux flacons d'hémocultures pour la détection des bactéries anaérobies dans le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires**

Clara Maubaret (clara.maubaret@gmail.com), Christian Cattoen, Gisèle Dewulf, Manica Vasseur, Maxime Paluch, Tristan Diedrich, Edith Mazars, Frédérique Canis

Service de bactériologie, CH Valenciennes, Valenciennes, France

L'utilisation des flacons d'hémocultures dans le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires (IOA) a montré être un outil efficace pour augmenter la sensibilité de ce diagnostic. Néanmoins, les performances des flacons semblent inégales pour les bactéries anaérobies. L'objectif de ce travail était d'évaluer la meilleure méthode de détection de bactéries anaérobies pour la mise en place de flacons d'hémocultures dans le diagnostic microbiologique des IOA au CH de Valenciennes.

A partir d'une collection de souches anaérobies congelées, nous avons comparé le taux de positivité et le délai de pousse entre le flacon BD Bactec Lytic/F™ et le flacon bioMérieux FN Plus® pour une quantité de 40 UFC et 400 UFC. Par la suite, nous avons ensemencé prospectivement et parallèlement 188 prélèvements ostéoarticulaires cliniques dans le flacon BD et notre milieu de routine, le bouillon Rosenow puis comparé la détection des bactéries anaérobies.

Le délai moyen de positivité des souches cultivées sur flacon bioMérieux était de 38h et de 26h pour le flacon BD. Parmi les 24 souches testées, 13 ont cultivé sur flacon Biomérieux et 18 sur flacon BD dont *Cutibacterium acnes*, *Cutibacterium avidum*, *Peptoniphilus harei* et *Fusobacterium necrophorum* exclusivement sur BD. 2 souches de *Parvimonas micra*, 2 souches de *Finegoldia magna* et 1 souche de *Peptostreptococcus anaerobius* n'ont pas cultivé quel que soit le flacon. Ces résultats peuvent s'expliquer par i) l'altération de la viabilité des souches congelées, ii) la présence de substance absorbante d'antibiotiques dans certains flacons d'hémocultures, iii) la présence de SPS inhibant la croissance de certaines bactéries anaérobies. Sur les 188 prélèvements ensemencés, majoritairement de l'ostéite du pied, 13.3% étaient positifs à au moins une bactérie anaérobie avec le flacon BD contre 7.4% avec le bouillon Rosenow. Le flacon BD a permis d'identifier 18 espèces anaérobies différentes et seulement 7 espèces avec le bouillon Rosenow. Devant la meilleure détection de bactéries anaérobies notamment *C. acnes*, principal anaérobie impliqué dans les IOA et la diversité d'espèces bactériennes retrouvées par le flacon BD, le laboratoire du CH de Valenciennes a choisi l'utilisation des flacons BD Bactec Lytic/F™ pour le diagnostic microbiologique des IOA.

**Mots clés :** Infections ostéo-articulaires - Diagnostic microbiologique - Flacons d'hémocultures - Bactéries anaérobies.

**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P08

**Spatio-temporal based deep learning for rapid detection and identification of bacterial colonies through multi-spectral VIS-NIR lens-free microscopy time-lapses**

Paul Paquin (paul.paquin@cea.fr), Pierre Marcoux, Caroline Paulus, Sophie Morales

DTBS/LSIV, CEA-LETI, Grenoble, France

**Introduction and Goals:**

Detection and identification of pathogenic bacteria isolated from biological samples (blood, urine, sputum, etc.) are crucial steps in accelerated clinical diagnosis. However, accurate and rapid identification remain difficult to achieve due to the challenge of having to analyse complex and large samples. Current solutions (mass spectrometry, automated biochemical testing, etc.) propose a trade-off between time and accuracy, achieving satisfactory results at the expense of time-consuming processes, which can also be intrusive, destructive and costly. Moreover, those techniques tend to require an overnight subculture on solid agar medium delaying bacteria identification by 12-48 hours thus preventing rapid prescription of appropriate treatment as it hinders antibiotic susceptibility testing.

**Materials and Methods:**

In this study, lens-free imaging is presented as a possible solution to achieve a quick and accurate wide range, non-destructive, label-free pathogenic bacteria detection and identification in real-time using bacterial colonies kinetic growth pattern combined with a deep learning architecture for detection and identification tasks. Using a custom multimode optical fiber 1x4 fan-out bundle for our lens-free imaging system and standard 90mm Trypticase soy agar Petri dishes for our cultures, we were able to get time-lapse imaging of bacterial colony growth from infected blood samples to train our deep learning networks. We used 4 different wavelengths (470nm, 540nm, 660nm and 950nm) to image each time-lapse.

**Results, Discussion and Conclusion:**

Thanks to our new optical setup lighting in both visible and infrared spectrum, we hope to access new phenotypic information rarely seen in lens-free imaging and thus more easily differentiate one species from another. The image database is under construction but we are confident that we can show the potential of lens less imaging combined with deep learning algorithms for early (<12h) and accurate detection and identification of pathogenic strains through holographic fingerprints.

*Mots clés* : lens-free imaging - Pathogenic bacteria - Deep learning - Label-free identification - Time-lapse imaging.

**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P09

**Dépistage rapide et automatisé des BMR aux antibiotiques sur milieux chromogènes à l'aide de l'automate Scanstation 100**

Julien Peyroux<sup>1,2,3</sup> (julien.peyroux@gmail.com), Iyad Almahmoudh<sup>1,2</sup>, Emelise Prebe-Coquerel<sup>1</sup>, Thomas Girard<sup>1</sup>, Max Maurin<sup>1,2</sup>, Yvan Caspar<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de bactériologie et d'hygiène hospitalière, IBP, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

<sup>2</sup> Equipe Tree, Laboratoire TIMC, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France

<sup>3</sup> Laboratoire d'informatique de Grenoble, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France

<sup>4</sup> Institut de Biologie Structurale, CEA-CNRS-UGA, Grenoble, France

**Introduction et objectifs :**

L'automate Scanstation 100 (Interscience) est un automate d'incubation permettant le comptage des colonies en temps réel ainsi que leur classification à l'aide de filtres couleurs. Ces propriétés sont particulièrement intéressantes pour le dépistage rapide des bactéries multi-résistantes (BMR) sur milieux gélosés chromogènes. Nous avons évalué les performances du Scanstation pour le dépistage rapide de bactéries Productrices de Carbapénémases ou de  $\beta$ -Lactamase à spectre étendu (BLSE) sur écouvillonnage rectal ou de *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) sur écouvillonnage nasal.

**Matériels et méthodes :**

Les prélèvements de dépistage rectaux et de dépistage nasaux (Eswab, Becton Dickinson) reçus au laboratoire de bactériologie du CHU Grenoble Alpes entre janvier à juin 2021 ont été inclus dans l'étude. 10  $\mu$ L de prélèvement ont été ensemencés automatiquement (Inoquia, BD Kiestra) sur milieux chromogènes CHROMAgar (milieu MRSA pour les prélèvements nasaux ; milieux mSuperCARBA et BLSE pour les prélèvements rectaux). Les géloses ont été incubées dans un automate Scanstation 100 pendant 24 heures avec acquisition d'images toutes les 30 minutes, numération et catégorisation des colonies selon 4 filtres couleurs. Les résultats de l'analyse par le Scanstation ont été comparés à une analyse visuelle des géloses réalisée à la fin de la période d'incubation. Les délais de détection de la première colonie, de 50 % et de 95 % des colonies ont également été déterminés.

**Résultats, discussion et conclusion :**

920 prélèvements (419 dépistages nasaux et 501 dépistages rectaux) ont été analysés. En comparaison de l'observation visuelle, les résultats fournis par le Scantation montrent respectivement un pourcentage de concordance positive et négative de 100% (109/109) et 88% (346/392) pour la détection des bactéries productrices de Carbapénémases, de 100% (188/188) et 86% (296/313) pour la détection des bactéries productrices de BLSE et de 79% (11/14) et 98% (398/405) pour la détection des SARM avec des valeurs prédictives négatives excellentes >99%. Ce processus automatisé accélérerait la suspicion de portage de BMR en permettant la détection des échantillons positifs en 10 à 14h. Notre étude montre le potentiel de l'automate Scanstation en combinaison avec des milieux chromogéniques pour un dépistage rapide et automatisé des BMR.

**Mots clés :** Bactérie multirésistantes - Automatisation - Milieux chromogènes - Dépistage rapide.

## DM-P Diagnostic microbiologique

DM-P10

Diagnostic microbiologique

***Klebsiella pneumoniae* hypervirulentes : prévalence, présentation clinique et résistance aux antibiotiques.**

Jean Philippe Martellosio<sup>1</sup> (maxime.pichon@univ-poitiers.fr), Thais Villers<sup>2</sup>, Nabil Gastli<sup>3</sup>, Gael Rambault<sup>2</sup>, Lauranne Broutin<sup>4</sup>, Julie Cremniter<sup>2</sup>, Anthony Michaud<sup>4</sup>, Chloé Plouzeau-Jayle<sup>4</sup>, France Roblot<sup>2</sup>, Christophe Burucoa<sup>2</sup>, Maxime Pichon<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Service de Médecine Interne Maladies Infectieuses, CHU de Poitiers, Poitiers, France

<sup>2</sup> U1070 INSERM PHAR2, Université de Poitiers, Poitiers, France

<sup>3</sup> Laboratoire de Bactériologie, APHP Hopital Cochin, Paris, France

<sup>4</sup> Département des Agents Infectieux, CHU de Poitiers, Poitiers, France

<sup>5</sup> PH, Uni, Poitiers, France

**Introduction :**

Le pathotype hypervirulent de *Klebsiella pneumoniae* (hvKp) possède des caractéristiques telles que l'hypermucoviscosité, des sérotypes uniques présentant une pathogénicité élevée principalement médiée par des plasmides de virulence.

**Objectifs :**

Déterminer la prévalence, dans des souches d'intérêt clinique, des différents gènes de virulence définissant hvKp en association avec la présentation clinique et l'antibiorésistance.

**Méthode :**

Toutes les souches de Kp isolées au CHU de Poitiers entre décembre 2021 et avril 2022 ont été sélectionnées. Les informations clinico-biologiques (âge, BMI, clinique, issue, antibiogrammes) ont été rétrospectivement collectées. Après mise en culture et extraction par choc thermique, une PCR multiplex détectant les génotypes capsulaires et les gènes codant pour les facteurs liés à la virulence suivants : régulateur du phénotype mucoïde (*rmpA*), gène codant pour le récepteur de l'aérobactine (*iutA*), entérobactine (*entB*) et yersiniabactine (*ybtS*), métabolisme de l'allantoïne (*allS*), et fimbriae type 3 (*mrkD*). Leur prévalence a été comparée en fonction du site d'isolement à l'aide du test de Fischer ou de Student.

**Résultats :**

Sur les 207 souches ayant pu être analysées (dont 146 portages urinaires), les gènes les plus fréquemment observés étaient *mrkD* (95.7%), *entB* (91.3%), *kfu* (49.3%), *allS* (48.3%), *iutA* (38.6%), *ybtS* (31.4%) et *rmpA* (23.7%). Sans différence de létalité, les souches de portage respiratoires ou issues d'infections associées aux soins portaient en moyenne plus de gènes de virulences (5.4 vs 4.8;  $p < 0.05$ ). De même, en comparaison aux portages urinaires ou intra-abdominaux, les souches *iutA*-positives étaient plus significativement associées à un portage respiratoire et les souches *entB*-négatives à des bactériémies (RR=5.6 et 41 respectivement,  $p < 0.05$ ). *iutA* et *allS* (ou *mrkD*), *k2* et *allS* (ou *kfu*) et *kfu* et *ybtS* étaient statistiquement mutuellement exclusifs ( $p < 0.05$ ). Les souches *iutA*-positive étaient significativement plus fréquemment sensibles à l'association pénicilline-inhibiteur de bêta-lactamase (44.6% vs. 23.7% ;  $p < 0.05$ ).

**Discussion :**

Ces éléments apportent un nouvel éclairage sur l'arsenal génomique de virulence des Kp. La forte prévalence de certains gènes (*mrkD* et *entB*) ainsi que la discordance avec la littérature étudiant les souches portant l'ensemble des gènes de virulence définissant les hvKp soulève le besoin de nouvelles études pour en comprendre la physiopathologie et en permettre un diagnostic approprié.

**Mots clés :** Résistance aux Antibiotiques - Virulence - *Klebsiella pneumoniae*.

**Références :**

1. Compain F., Babosan A., Brisse S., Genel N., Audo J., Ailloud F., Kassis-Chikhani N., Arlet G., Decré D. J Clin Microbiol. 2014 Dec;52(12):4377-80.

**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P11

Diagnostic microbiologique

**Détection précoce du virus de l'Influenza Aviaire Hautement Pathogène grâce à la dPCR**

Laetitia Pigeyre<sup>1</sup> (pigeyre.laetitia@iage-france.com), Laura Desmartin<sup>1</sup>, Aurélie Secula<sup>2</sup>, Guillaume Croville<sup>2</sup>, Olivier Couillerot<sup>1</sup>, Jawhar Saksaka<sup>1</sup>, Jean-Luc Guerin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> IAGE, Montpellier, France

<sup>2</sup> IHAP, Toulouse, France

Les virus influenza aviaires sont des agents de maladies contagieuses d'une extrême gravité pour les oiseaux. Ils sont également susceptibles d'être à l'origine de l'émergence de virus capables d'infecter l'Homme.

La nouvelle épizootie du virus influenza aviaire hautement pathogène (VIAHP) H5N1 a sévit en Europe (2021-2022) dans la faune sauvage et dans les élevages de volailles. La France n'a pas été épargnée : 16 millions de palmipèdes et volailles ont dû être abattues durant cette crise.

La mise en œuvre d'une surveillance virologique efficace, à la fois performante du point de vue analytique, éventuellement déployable sur le terrain et économiquement soutenable, est capitale. Elle passe par une détection la plus précoce possible de la circulation du VIAHP dans l'avifaune sauvage et dans les élevages.

Cette surveillance est soumise à un cadre normatif strict à l'échelle nationale et européenne. Cependant, tous les acteurs, publics ou professionnels, appellent à la mise à disposition de méthodes innovantes par rapport aux tests officiels actuellement reconnus (tests PCR en temps réel sur des écouvillons trachéaux ou cloacaux).

La détection des VIAHP dans des matrices environnementales (lisiers, poussières, collectes d'aérosols) permettrait notamment une détection collective, sans réalisation de prélèvements individuels.

En l'occurrence, le projet DOSEIA (Développement d'outils innovants de surveillance environnementale de l'influenza aviaire) financé par la Région Occitanie vise à développer une méthode de diagnostic du VIAHP dans l'environnement. Ce projet est porté par la société IAGE (spécialisée dans le développement de méthodes de diagnostic biologique dans l'environnement reposant sur la dernière génération de technologie de PCR, la PCR digitale), en partenariat avec le laboratoire IHAP (ENV-T-INRAe ; spécialiste du VIAHP).

Des tests sont en cours d'évaluation afin de déterminer la matrice environnementale la plus pertinente pour quantifier le virus de l'influenza aviaire (VIA). De plus, IAGE développe une sonde détectant spécifiquement le VIAHP en une seule analyse contrairement au test officiel actuel qui est fait en deux temps.

IAGE et l'ENV-T proposent donc de transposer l'approche d'épidémiosurveillance *via* les eaux usées mise en place par IAGE pour gérer l'épidémie actuelle de SARS-CoV-2, à l'épidémiosurveillance du virus de l'influenza aviaire H5N1.

**Mots clés :** Influenza aviaire - H5N1 - Epidémiologie - dPCR - Diagnostic.

**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P12

Diagnostic microbiologique

**Rapid antibiotic susceptibility testing using FTIR spectroscopy and deuterium isotope probing**Stéphan Pissot<sup>1</sup> (stephan.pissot@cea.fr), Mathieu Dupoy<sup>1</sup>, Pierre R. Marcoux<sup>2</sup><sup>1</sup> DOPT/LCO, CEA LETI, Grenoble Alpes University, Grenoble, France<sup>2</sup> DTBS/LSIV, CEA LETI, Grenoble Alpes University, Grenoble, France**Introduction and Objectives:**

Antibiotic resistance is a rising public health concern around the world. To tackle it efficiently, fast and reliable diagnostic methods are urgently needed. The current culture-based methods for Antibiotic Susceptibility Testing (AST) are subject to long incubation times. By probing the metabolic status of bacteria simultaneously to the exposure to antibiotic stress, AST time-to result might be significantly shortened.

**Materials and Methods:**

Deuterium Isotope Probing (DIP) was assessed through Fourier Transform InfraRed (FTIR) transmission spectroscopy, a commercially available tool increasingly used for microbial strain typing. This technique allowed for the investigation of the impact of antibiotic stress on metabolism. Bacteria were exposed to a given antibiotic concentration in a deuterated Mueller-Hinton broth, with a view to estimating the metabolic status as, in the presence of heavy water, carbon-deuterium (C-D) bonds are created through enzymatic reactions. A metabolically active bacterium processes deuterons from its environment, creating large amounts of labelled lipids and proteins, *i.e.* containing C-D bonds. On the opposite, a weakened bacterium will produce C-D bonds in smaller quantities, resulting in a lowered absorbance of the corresponding IR absorption peak. By monitoring the amount of labelled bounds at different antibiotic concentrations, the antibiotic susceptibility may be determined. For each strain, the absorbance of dried bacterial suspensions at 2140cm<sup>-1</sup>(C-D) is compared with the absorbance at 2129cm<sup>-1</sup> (C-H, used as a reference) after two hours of incubation in a nutrient medium with 50% v/v heavy water.

**Results, Discussion and Conclusions:**

A significant drop in C-D absorption occurs when a bacterial strain is exposed to an antibiotic concentration above its minimal inhibitory concentration (MIC). This suggests a promising new way of testing for antibiotic sensibility in less than two hours, either with a FTIR spectrometer –a tool already used for strain typing in many labs– or through infrared multispectral imaging.

**Mots clés :** Antibiotic Susceptibility Testing - FTIR - Spectroscopy - Deuterium Isotope Probing - Antimicrobial resistance.

**DM-P Diagnostic microbiologique**

DM-P13

Diagnostic microbiologique

**Diagnostic de la pyriculariose du gazon par PCR digitale**

Sarah Saadi<sup>1</sup> (sarah.saadi@cirad.fr), Henri Adreit<sup>2</sup>, Jeremy Di Mattia<sup>3</sup>, Jawhar Saksaka<sup>3</sup>, Franz Durandet<sup>3</sup>, Olivier Couillerot<sup>3</sup>, Didier Tharreau<sup>2</sup>

<sup>1</sup> IAGE/CIRAD, Montpellier, France

<sup>2</sup> PHIM, CIRAD, Montpellier, France

<sup>3</sup> IAGE, Montpellier, France

Les champignons pathogènes représentent une menace majeure pour les plantes, qu'elles soient alimentaires ou cultivées dans des espaces récréatifs. Les surfaces engazonnées sont particulièrement touchées par la progression rapide de maladies émergentes comme la pyriculariose du gazon. Cette maladie est causée par le champignon *Pyricularia oryzae*, une espèce pathogène sur plus de 50 graminées et en particulier sur des espèces alimentaires majeures comme le riz et le blé. Sur gazon, *P. oryzae* est connu aux États-Unis depuis les années 50 sur l'espèce *Stenotaphrum secundatum*, et c'est dans les années 90 que la maladie est détectée sur raygrass anglais avec des attaques sévères sur fairways de golfs dans plusieurs états américains. En France, les premiers cas datent de 2016 sur les pelouses des stades de football professionnels. Le recours aux fongicides de synthèse est aujourd'hui systématique sur les gazons sportifs du fait de la difficulté à contrôler cette maladie avec des solutions alternatives. Cependant, ces traitements sont souvent inefficaces car l'intervention est tardive. Il est donc aujourd'hui indispensable pour les gestionnaires de pelouses de disposer de résultats de diagnostic précoces et rapides. L'objectif du projet Diapason est le développement d'un diagnostic précoce de la pyriculariose du gazon qui aboutisse à des recommandations en termes de gestion de cette maladie. Le projet est conduit en collaboration entre l'UMR PHIM du CIRAD et la société IAGE. En utilisant des données de génomique comparative, plusieurs marqueurs seront ainsi développés dans le cadre d'un diagnostic faisant intervenir une nouvelle technologie de biologie moléculaire ; la PCR digitale. Un marqueur permettant la détection de l'espèce *P. oryzae* a été validé sur certaines souches pures d'agents pathogènes fongiques et sur des échantillons produits en conditions contrôlées par des inoculations artificielles. Une méthode permettant l'extraction de l'ADN du champignon sur échantillons de gazon est en cours de validation. Une amélioration du diagnostic sera réalisée d'une part afin de cibler spécifiquement la lignée de *P. oryzae* affectant les gazons et d'autre part afin d'élargir le diagnostic sur d'autres champignons pathogènes du gazon. Des outils numériques de visualisation du rendu des résultats seront également développés.

**Mots clés :** Pyriculariose - PCR digitale - Diagnostic - Gazon.

## IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite

IH-P01

Comment *Candida albicans* module-t-il la virulence de *Staphylococcus aureus* ?

Cedric Badiou<sup>1</sup> (cedric.badiou@univ-lyon1.fr), Mathias Carriou<sup>1</sup>, Murielle Chauvel<sup>2</sup>, Christophe D'Enfert<sup>2</sup>, Gerard Lina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pathogénie des staphylocoques, CIRI, Lyon, France

<sup>2</sup> Unité Biologie et Pathogénicité Fongiques, Institut Pasteur, Université Paris Cité, Paris, France

Comparées aux mono-infections, les coinfections à *Candida albicans* et à *Staphylococcus aureus* sont associées à une hausse de la mortalité chez l'homme et dans des modèles expérimentaux [1,2]. Afin d'identifier les mécanismes physiologiques responsables de la modulation de la virulence de *S. aureus* par *C. albicans*, nous avons recherché les facteurs de transcription fongiques impliqués dans l'induction de la production de toxines et notamment la TSST-1. Nous avons également étudié la modification de l'expression des gènes de *S. aureus* en réponse au surnageant de culture de *C. albicans*.

Pour identifier les facteurs de transcription de *C. albicans* impliqués dans la stimulation de production de TSST-1 chez *S. aureus*, 165 souches mutantes de *C. albicans* SN152 issues de la collection d'Homann [3] ont été cultivées en Brain Heart Infusion. Les surnageants de cultures ont été collectés et mis en contact avec une souche clinique TSST-1+ de *S. aureus* pendant 6h. Après incubation, la production de TSST-1 a été mesurée par ELISA. Pour étudier les modifications de l'expression des gènes de *S. aureus* en réponse au surnageant de *C. albicans*, le surnageant de culture de *C. albicans* CA1 a été mis en contact avec la même souche clinique TSST-1+ de *S. aureus* pendant 4h. Après incubation, les ARN de *S. aureus* ont été extraits et séquencés.

Sur les 165 facteurs de transcription fongiques étudiés, 23 d'entre eux sont des modifications de production de TSST-1 par *S. aureus*. 21 de ces facteurs sont impliqués dans la virulence de *C. albicans*, en régulant la croissance hyphale, l'invasion, l'adhérence et la résistance à différents stress. D'autre part, le surnageant de *C. albicans* modifie l'expression de 79 gènes de *S. aureus* : 3 gènes codant des toxines (TSST-1, hémolysines alpha et gamma B), et 53 gènes de voies métaboliques, dont certaines sont associées à la virulence de *S. aureus* comme la modulation du pH et le métabolisme des purines [4,5]. Ainsi, la virulence de *C. albicans* et celle de *S. aureus* se synchronisent via une modulation du métabolisme bactérien dont les mécanismes restent encore à explorer.

**Mots clés :** Staphylococcus aureus - Candida albicans - Virulence - Transcriptomique - Métabolisme.

## Références :

1. Wu, Y.-M., Huang, P.-Y., Cheng, Y.-C., Lee, C.-H., Hsu, M.-C., Lu, J.-J., and Wang, S.-H. (2021). Enhanced Virulence of *Candida albicans* by *Staphylococcus aureus*: Evidence in Clinical Bloodstream Infections and Infected Zebrafish Embryos. *J Fungi (Basel)* 7, 1099.
2. Todd, O.A., Fidel, P.L., Harro, J.M., Hilliard, J.J., Tkaczyk, C., Sellman, B.R., Noverr, M.C., and Peters, B.M. (2019). *Candida albicans* Augments *Staphylococcus aureus* Virulence by Engaging the Staphylococcal agr Quorum Sensing System. *mBio* 10, e00910-19.
3. Homann, O.R., Dea, J., Noble, S.M., and Johnson, A.D. (2009). A Phenotypic Profile of the *Candida albicans* Regulatory Network. *PLoS Genet* 5, e1000783.
4. Costa, F.G., and Horswill, A.R. (2022). Overcoming pH defenses on the skin to establish infections. *PLoS Pathog* 18, e1010512.
5. Li, L., Abdelhady, W., Donegan, N.P., Seidl, K., Cheung, A., Zhou, Y.-F., Yeaman, M.R., Bayer, A.S., and Xiong, Y.Q. (2018). Role of Purine Biosynthesis in Persistent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *J Infect Dis* 218, 1367–1377.



**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P02

**Non-classic intracellular bacteria: the intramacrophage lifestyle of *Pseudomonas aeruginosa***

Anne Blanc-Potard (anne.blanc-potard@umontpellier.fr)

CNRS UMR5235, LPHI, Montpellier, France

Intracellular bacteria are able to manipulate host cells and escape the host immune system. Persistent infection is a common phenomenon associated with infections triggered by intracellular bacterial species. Besides classic intracellular bacteria (such as *Mycobacteria*, *Salmonella* or *Listeria* genera), emerging evidence indicate that extracellular bacteria (such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* or *Streptococcus pneumoniae*) also have the capacity to survive, and possibly replicate, inside host cells. Here, we focus on *P. aeruginosa*, a priority antimicrobial-resistant bacterial pathogen, to study its fate upon phagocytosis by macrophages. Using cultured macrophages, we identified bacterial factors playing a key role in the intramacrophage life of *P. aeruginosa* [1,2]. These virulence factors allow internalized bacteria to resist degradation by acidified phagosomes and to lyse macrophages from the inside [2,3]. In addition, we are using the zebrafish embryo, which is a powerful tool to address macrophage-pathogen interactions [3,4]. Our recent findings highlighted the contribution of macrophages in the clearance of *P. aeruginosa* during acute infection [3] and support a contribution of *P. aeruginosa* intramacrophage stage to bacterial persistence (unpublished results).

**ANNULÉ****Mots clés :** Macrophage - *Pseudomonas aeruginosa* - Virulence factor - T3SS - Zebrafish.

## Références :

1. Belon C, Soscia C, Bernut A, Laubier A, Blevés S, Blanc-Potard AB. 2015. A Macrophage Subversion Factor Is Shared by Intracellular and Extracellular Pathogens. *PLoS Pathogens* 11, e1004969.
2. Garaj, P., Berry, L., Moussouni, M., Blevés, S. & Blanc-Potard, A. B. 2019. Killing from the inside: Intracellular role of T3SS in the fate of *Pseudomonas aeruginosa* within macrophages revealed by *mgtC* and *oprF* mutants. *PLoS Pathogens* 15, e1007812.
3. Moussouni, M., Berry, L., Sipka, T., Nguyen-Chi, M. & Blanc-Potard, A. B. 2021. *Pseudomonas aeruginosa* *OprF* plays a role in resistance to macrophage clearance during acute infection. *Scientific Reports* 11, 359.
4. Pont, S. & Blanc-Potard, A. B. 2021. Zebrafish Embryo Infection Model to Investigate *Pseudomonas aeruginosa* Interaction With Innate Immunity and Validate New Therapeutics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 11, 745851.

**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P03

**Contribution of intramacrophage stage to *Pseudomonas aeruginosa* persistence in zebrafish embryo**Helene Hajjar (helene.hajjar@umontpellier.fr), [Anne Blanc-Potard](#)

UMR 5235/LPHI (Laboratory of Pathogen-Host Interactions), Université de Montpellier, Montpellier, France

**Introduction and Objectives:**

*Pseudomonas aeruginosa* is one of the most common nosocomial pathogens causing acute and chronic infections, where *P. aeruginosa* can form biofilms that are resistant to antibiotics. This pathogen has been listed by the World Health Organization as a priority to find novel therapeutic strategies. Targeting virulence factors, as OprF and MgtC, emerges as alternative strategy to classical antibiotics. OprF and MgtC are involved in the transient intracellular phase of *P. aeruginosa* inside macrophages. In order to develop innovative therapies, it is crucial to fully understand *P. aeruginosa* infection and to have suitable animal models. Zebrafish is a simple vertebrate model, which allows to study the interaction between pathogens and the innate immune system by monitoring the infection in real time thanks to its transparency. Zebrafish embryo has been used as infection model for *P. aeruginosa* in the context of acute infection. Our purpose here is to evaluate the persistence of *P. aeruginosa* and its interaction with macrophages upon infection of zebrafish embryo.

**Material and Methods:**

We injected wild-type *P. aeruginosa* PAO1 and mutant strains (*oprF* and *mgtC*) expressing the Green Fluorescent Protein in the hindbrain ventricle of transgenic zebrafish embryos harboring red-labelled macrophages and followed the infection (by live imaging and Colony Forming Units counting) up to 4 days after infection.

**Results, Discussion and Conclusion:**

We were able to count and visualize persistent bacteria up to 4 days after infection with both WT and *mgtC* mutant. Persistent *P. aeruginosa* can be found phagocytized by macrophages. In contrast to PAO1 WT strain and *mgtC* mutant, *oprF* mutant appeared eliminated 2 days after infection. For persistent bacteria, few bacterial clusters were visualized, either inside or outside macrophages, which might be considered as precursors of biofilm. Taken together, these results are promising for a better understanding of *P. aeruginosa* persistence and interplay with macrophages during infection.

**Mots clés :** *Pseudomonas aeruginosa* - Macrophages - Zebrafish embryo - Live imaging.

**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P04

**Role of the oxidative stress regulator OxyR in an entomopathogenic bacterium**Victoria Bientz (victoria.bientz@etu.umontpellier.fr), Sylvie Pages, Raphael Bousquet, [Julien Brillard](#)

DGIMI, INRAe - Univ. Montpellier, Montpellier, France

*Xenorhabdus nematophila* is a Gram-negative entomopathogenic bacterium, mutually associated with the soil nematode *Steinernema carpocapsae*. The nematobacterial complex is parasitic for a broad spectrum of insects, and is therefore used as biological control agent, against crop pest. After entering insect larvae, the nematodes release their bacteria, which grow and produce various virulence factor. The insect dies in a few days. Nematodes breed until all nutrients are used, then re-associate with the bacteria before leaving the cadaver to search for a new insect host.

The transcriptional regulator OxyR is widely conserved in *Enterobacteriaceae*. It is one of the main actors in the defense against hydrogenperoxide, which is toxic to the bacteria. It activates the transcription of a set of genes that influence cellular defense against oxidative stress. In addition, OxyR has been shown to be involved in the virulence of several bacterial pathogens. The aim of this study was to identify the role of OxyR in the life cycle of *X. nematophila*.

We constructed OxyR-deregulated *X. nematophila* strains and phenotypically characterized them *in vitro* and *in vivo* during bacterial interactions with eukaryotic hosts.

Results revealed that OxyR played a major role during the bacterial resistance to oxidative stress, as already shown in many other bacterial species. *In vivo*, compared to a control strain, our OxyR mutant displayed a slight delay in killing insect larvae, revealing its involvement in bacterial virulence. In contrast, the mutant was not impaired in the reproductive success of its mutualistic nematode, suggesting that OxyR does not significantly contribute to the symbiotic stage of the bacterial life-cycle. Our study is another demonstration of the broad range of phenotypes for which the OxyR transcriptional regulator is important.

**Mots clés :** Oxidative stress - Mutualism - Virulence - Symbiosis - *Xenorhabdus*.

**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P05

**Molecular characterization of NyxA and NyxB *Brucella* effectors**

Lison Cancade--Veyre (lison.cancade@ibcp.fr), Arthur Louche, Amandine Blanco, Suzana P Salcedo, Francine Gerard Baraggia

MMSB UMR 5086, CNRS - Université Lyon 1, Lyon, France

*Brucella* is the cause of a major zoonotic disease prevalent worldwide. One of the key features of its virulence is its ability to extensively replicate inside cells, in part thanks to a type IV secretion system that injects bacterial proteins into host cells to promote infection. We have recently identified two such proteins, called NyxA and NyxB that modulate the spatial dynamics of host nucleus proteins during infection. In this project we aimed to characterize NyxA and NyxB at the molecular level, including defining their interactions with each other and their cellular target, SENP3, a host desumoylase.

As determined previously in the team, NyxA and NyxB are dimers in solution and colocalize in the cells during infection. *In vitro* experiment using recombinantly expressed and purified NyxA/B showed interaction between both effectors. Thanks to the structure determination by X-ray crystallography of NyxB, we identified key residues involved in the dimerization interface. Interestingly, mutation of some of these residues perturbed NyxA oligomerization's capacity. Furthermore, we could see that the loss of dimeric structure of NyxA resulted in a loss of interaction with NyxB.

In addition, combining *in vitro* and *in cellulo* biochemical assays, we identified binding domains in NyxA and NyxB as well as in SENP3. The relevance of this domains was confirmed in the context of *Brucella* infection.

**Mots clés :** Brucella - Effectors - Functional domains - Cellular target.

## IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite

IH-P06

The story of a hand-me-down locus: *fliC* contribution to *Yersinia pestis* virulence

Mara Carloni<sup>1,2</sup> (mara.carloni@pasteur.fr), Pierre Lê-Bury<sup>1,2</sup>, Hebert Echenique-Rivera<sup>1</sup>, François Becher<sup>3</sup>, Ana-Rita Azevedo<sup>3</sup>, Alejandro Toledo-Arana<sup>4</sup>, Arancha Catalan-Moreno<sup>4</sup>, Catherine Werts<sup>5</sup>, Delphine Bonhomme<sup>5</sup>, Anne Derbise<sup>1</sup>, Javier Pizarro-Cerda<sup>1</sup>, Christian Demeure<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unité de Recherche *Yersinia*, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>2</sup> ED BioSPC, Université de Paris Cité, Paris, France

<sup>3</sup> Service de Pharmacologie et d'Immunoanalyse, Institut de Biologie et de Technologies de Saclay (CEA), Gif-sur-Yvette, France

<sup>4</sup> Laboratory of Bacterial Gene Regulation, Instituto de Agrobiotecnología, Navarra, Spain

<sup>5</sup> Unité de Biologie et Génétique de la Paroi Bactérienne, Institut Pasteur, Paris, France

*Yersinia pestis* -the non-motile agent of plague- is undoubtedly one of the deadliest pathogens, although it has over 97% for most chromosomal genes when compared to its motile ancestor *Yersinia pseudotuberculosis* (an opportunistic enteropathogen causing gastrointestinal symptoms).

*Y. pestis* harbors a flagellar system which is homologous to the one used by *Y. pseudotuberculosis* for motility. In *Y. pestis*, the presence of several mutations in genes of the flagellar regulon, including a frameshift mutation in its master regulator, has led to hypothesize a complete switch-off of flagellar transcription, providing a possible explanation for the lack of motility in the plague bacillus. Unexpectedly, we were able to identify some flagellar proteins by mass-spectrometry, which proves that the flagellar system of *Y. pestis* is not completely abrogated.

Due to its immunostimulatory properties, we focused our interest on the *fliC* gene, which codes for flagellin, the subunit of the flagellar filament and the most abundant protein in flagella. Lack of motility, and thus the absence of flagellin, has been proposed as one of the strategies for host innate immune evasion that *Y. pestis* must have acquired throughout evolution. *In vivo* studies of the *fliC* promoter activity showed that some transcription does occur. We studied the role of the *fliC* locus in *Y. pestis* virulence and observed that deletion of the *fliC* gene induced a clear attenuation in the mouse bubonic plague model, characterized by a reduced dissemination of the bacterium *in vivo*. In parallel, we did not succeed to detect flagellin protein either by mass spectrometry or western blot.

We then observed that an anti-sense *fliC* RNA was produced in significant amounts, which led us to hypothesize that this region of the genome could code for either a regulatory RNA or a small peptide. We now aim to identify the molecule encoded in the *fliC* locus which contributes to *Y. pestis* virulence.

In conclusion, these results identify a potentially new pathogenic mechanism of the plague bacillus and suggest that the mutations leading to the loss of motility allowed a contribution of the *fliC* gene to virulence.

**Mots clés :** *Yersinia* - Flagellin - Virulence - Motility - RNA.

## IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite

IH-P07

**HlyF : un nouveau facteur de virulence dans les infections urinaires ?**

Camille Chagneau<sup>1,2</sup> (camille.chagneau@inserm.fr), Delphine Payros<sup>1,3</sup>, Laure David<sup>1</sup>, Pierre-Jean Bordignon<sup>1</sup>, Carine Séguy<sup>1</sup>, Cécile Goursat<sup>1</sup>, Clémence Massip<sup>1,2</sup>, Jean-Philippe Nougayrède<sup>1</sup>, Marc Marena<sup>4</sup>, Eric Oswald<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> IRSD, Inserm, Toulouse, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Bactériologie, CHU Toulouse, Toulouse, France

<sup>3</sup> Toxalim, INRAE, Toulouse, France

<sup>4</sup> Faculté des Sciences Vétérinaires, Melbourne, Australie

L'hémolysine F (HlyF) est un facteur de virulence classiquement retrouvé chez les souches d'*Escherichia coli* pathogènes aviaires ou de méningites néonatales. Sa présence contribue à la virulence de *E. coli* dans un modèle de colibacillose aviaire [1].

Les infections urinaires, qui sont parmi les infections bactériennes les plus fréquentes, sont majoritairement causées par des *E. coli* uropathogènes (UPEC) chez lesquels le rôle d'HlyF n'est pas connu. Grâce à des expériences de bioluminescence *in vivo* en modèle murin d'infection urinaire, nous montrons ici que HlyF est exprimé durant une infection urinaire. Dans ce modèle, les infections engendrées par une souche produisant HlyF sont plus sévères que celles induites par un mutant isogénique  $\Delta hlyF$ .

Chez l'Homme, HlyF est présent chez une proportion importante des souches au sein d'une large collection d'UPEC (42/225). La présence d'HlyF est épidémiologiquement associée à des infections urinaires plus sévères, les pyélonéphrites, avec une tendance à être plus fréquent également chez les UPEC impliqués dans des bactériémies. Chez ces souches, le gène *hlyF* est porté par un plasmide conjugatif de grande taille de la famille pColV qui a disséminé dans les différents phylogroupes de *E. coli* uropathogènes. Grâce à un assemblage hybride de données de séquençage Illumina et Nanopore, nous avons séquencé entièrement ces plasmides. *hlyF* y est associé à d'autres facteurs de virulence mais le répertoire global diffère de celui des UPEC classiques, ce qui suggère une stratégie de virulence alternative. Ces plasmides sont des mosaïques portant des gènes de virulence mais également des gènes de résistance aux antimicrobiens, ce qui pourrait favoriser leur dissémination.

**Mots clés :** Escherichia coli - Infections urinaires - HlyF - Plasmide.

Références :

1. Murase K, et al. 2016. J Infect Dis;213:856–65.

## IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite

IH-P08

**A *Mycobacterium abscessus* *ahpC* gene encoding a CD81 tetraspanin binding protein is used for efficient invasion of macrophages and lung epithelial cells**Wassim Daher<sup>1</sup> (wassim.daher@irim.cnrs.fr), Jona Karam<sup>1</sup>, Eric Vives<sup>2</sup>, Yves-Marie Boudehen<sup>1</sup>, Laurent Kremer<sup>1</sup><sup>1</sup> CNRS, UMR9004, Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, Montpellier, France<sup>2</sup> INSERM U1046, CNRS UMR9214, UPHYMEDEXP, Université de Montpellier, Montpellier, France**Introduction et objectifs :**

*Mycobacterium abscessus* (*Mab*) is a fast-growing mycobacterium that is antibiotic-resistant and causes severe lung infections, particularly in cystic fibrosis patients. In general, inhalation of aerosols containing the infectious bacilli causes *Mycobacterium* infection. The bacilli's adhesion to the surface of macrophages via specific receptors causes phagocytosis and the underlying immunological events. However, the exact mechanisms of *Mab* uptake by host cells remain poorly understood. Recently, we investigated the role of CD81's large extracellular loop (LEL), a novel human receptor belonging to the tetraspanin<sup>1</sup> family, and its associated mycobacterial ligands, in *Mab* internalization by macrophages and pneumocytes.

**Matériels et méthodes :**

Our project combined biochemical techniques (recombinant protein production, immunoprecipitation, fluorescent beads coating<sup>2</sup>), molecular biology (PCR, cloning, mutants<sup>2</sup>, CRISPR/Cas9), cell biology (culture of various cell lines, transfection, immunofluorescence<sup>2</sup>, invasion assays<sup>2</sup>, microscopy<sup>2</sup>, video-microscopy<sup>2</sup>) and microbiology<sup>2</sup> to investigate, at the cellular and molecular levels, the contribution and importance of CD81 tetraspanin in infection with pathogenic mycobacteria.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Our findings showed that CD81LEL deletion, antibodies blocking surface-exposed CD81, and preincubation of bacilli with recombinant GST-CD81LEL protein or synthetic peptides that mimic a small portion of CD81LEL significantly reduced mycobacterial uptake by host cells. Furthermore, pull-down experiments revealed, among other interactant proteins, a mycobacterial ligand from the bacterial antioxidant system, alkylhydroperoxidase C (AhpC), interacting with the LEL of CD81. Interestingly, soluble AhpC saturating macrophages inhibits bacterial internalization, but when overproduced in mycobacteria, AhpC promotes bacilli internalization. Moreover, pre-incubation of macrophages with anti-CD81LEL antibodies completely inhibited phagocytosis of fluorescent beads coated with AhpC, indicating a direct interaction between the CD81LEL receptor and the mycobacterial adhesin AhpC. Finally, *in cellulo* invasion assays confirmed that bacteria conditionally knocked-down in AhpC were partially impaired in their ability to enter host cells. In conclusion, our data describe a novel mechanism of pathogenic *Mab* invasion of within the host, which could pave the way for future translational applications to reduce or inhibit mycobacterial infections.

**Mots clés :** *Mycobacterium abscessus* - Adhesin - Receptor - Macrophage - Invasion.

**Références :**

1. Karam J, Méresse S, Kremer L, Daher W. The roles of tetraspanins in bacterial infections. Cellular Microbiology, 2020, e13260.
2. Daher W, Leclercq LD, Johansen MD, Hamela C, Karam J, Trivelli X, Nigou J, Guérardel Y, Kremer L. Glycopeptidolipid glycosylation controls surface properties and pathogenicity in *Mycobacterium abscessus*. Cell Chemical Biology, 2022, 910-924.e7.

**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P09

**Characterization of a new intracellular niche for *Acinetobacter baumannii* clinical strains**

Charline Debruyne (charline.debruyne@ibcp.fr), Tristan Rubio, Doriane Mongellaz, Suzana P. Salcedo

MMSB UMR5086, CNRS - Université de Lyon, Lyon, France

*Acinetobacter baumannii* is a nosocomial pathogen that is becoming a major health threat worldwide, notably due to the acquisition of extensive antibiotic resistance. Patients in intensive care with assisted ventilation, indwelling catheters or severe burns are particularly at risk. Of increasing concern is the recent appearance of hypervirulent strains associated with higher mortality rates and hospital persistence.

Previous work from the laboratory discovered that a subset of clinical strains, including some considered hypervirulent, have acquired the ability to invade and multiply inside cells for prolonged periods. The objectives of this study are to further characterize this intracellular compartment, its prevalence and the bacterial factors involved.

We have screened over 50 clinical isolates and identified several that present this intracellular phenotype. Hyper-invasiveness and ability to replicate intracellularly correlated with enhanced virulence in model organisms such as *Galleria mellonella*. In addition, we have shown that intracellular replication occurs in late endosomal derived vacuoles without induction of cell death. Finally, we have found that *A. baumannii* invasion and subsequent intracellular replication are dependent on the bacterial growth stage. The identified bacterial genes potentially contributing to these phenotypes will be discussed.

Understanding the mechanisms that could be contributing to enhanced virulence and persistence of *A. baumannii* will hopefully contribute to the development of diagnostic tools and therapeutic approaches specifically directed at these types of strains to help combat this pathogen in clinics.

**Mots clés :** *Acinetobacter baumannii* - Clinical strains - Intracellular trafficking.



**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P10

**NAD kinase promotes *Staphylococcus aureus* pathogenesis by supporting expression of major protective enzymes and virulence factors**

Olivier Dussurget<sup>1</sup> (olivier.dussurget@pasteur.fr), Clarisse Leseigneur<sup>1</sup>, Laurent Boucontet<sup>2</sup>, Magalie Duchateau<sup>3</sup>, Javier Pizarro-Cerda<sup>1</sup>, Mariette Matondo<sup>3</sup>, Emma Colucci-Guyon<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unité de Recherche Yersinia, CNRS UMR6047, Institut Pasteur, Université Paris Cité, Paris, France

<sup>2</sup> Unité Macrophages et Développement de l'Immunité, CNRS UMR3738, Institut Pasteur, Université Paris Cité, Paris, France

<sup>3</sup> Unité de Spectrométrie de Masse pour la Biologie, CNRS USR2000, Institut Pasteur, Université Paris Cité, Paris, France

Nicotinamide adenine dinucleotides (NAD<sup>+</sup>/NADH) and their phosphorylated forms (NADP<sup>+</sup>/NADPH) are essential cofactors in all living organisms. NAD kinase (NADK) is the only enzyme that catalyzes synthesis of NADP(H) from NAD(H). While enzymatic properties and metabolic functions of NADK have been thoroughly characterized, the role of NADK in bacterial pathogenesis has not been investigated. Here we used CRISPR interference to knock down NADK gene expression to analyze the role of this enzyme in *Staphylococcus aureus* pathogenic potential. We find that NADK is a critical determinant of *S. aureus* infection in zebrafish and macrophages, by protecting bacteria from antimicrobial defense mechanisms. Furthermore, we demonstrate that NADK is required for expression of major *S. aureus* virulence factors, including the quorum-sensing response regulator AgrA. These findings shed new light on *S. aureus* pathogenesis.

**Mots clés :** Bacterial pathogenesis - Staphylococci - Innate immunity - NAD kinase - Toxins.

**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P11

**Caractérisation du rôle de la protéine Lsr2 dans la virulence des morphotypes lisses et rugueux de *Mycobacterium abscessus***

Elias Gerges (eliasgerges67@hotmail.com), Norman Partouch, Jean-Louis Herrmann, Frédéric Crémazy

UVSQ, Unité Infection et Inflammation, Montigny-Le-Bretonneux, France

*Mycobacterium abscessus* ou Mabs est une mycobactérie non tuberculeuse à croissance rapide, qui est principalement responsable d'infections pulmonaires graves, surtout chez les patients atteints de mucoviscidose. Elle évolue au cours de l'infection pulmonaire entre un morphotype lisse (S) et un morphotype rugueux (R) qui est hyper-virulent et hyper-pro-inflammatoire. Cette bactérie présente une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques rendant le traitement difficile. D'autre part le génome de Mabs code pour un facteur de transcription appartenant à la famille des protéines associées au nucléoïde ou les NAP nommée Lsr2, différenciellement exprimé entre les morphotypes S et R. Lsr2 est impliquée dans la résistance aux dérivés oxydés ainsi que dans la virulence de Mabs.

L'objectif de ce projet est d'utiliser une approche intégrative basée sur 3 méthodes de génomiques fonctionnelles RNA-Seq, CHIP-Seq et Hi-C et de microscopie super-résolution afin de comprendre le rôle de Lsr2 dans la virulence et la multi-résistance aux antibiotiques de ce pathogène.

L'analyse transcriptomique par RNA-seq montre que Lsr2 est impliquée dans la régulation de l'expression de nombreux gènes, à la fois chez les 2 morphotype S et R. Lsr2 est notamment impliquée dans la régulation des gènes de résistance à nombreuses familles d'antibiotiques utilisées pour le traitement clinique de cette bactérie. Ceci est aussi confirmé par qPCR et lors de tests de sensibilité aux antibiotiques (CMI). De même, elle joue un rôle dans la régulation des gènes impliqués dans la synthèse et réparation de l'ADN, la survie et la croissance intracellulaire. La fixation de Lsr2 sur une grande partie du génome (12%) montrée par CHIP-Seq ainsi que sa localisation en foci observés par microscopie suggère que des interactions entre des oligomères de Lsr2 seraient un déterminant important du repliement spatial du chromosome. Nous avons aussi implémenté au laboratoire la méthode de Chromosome Conformation Capture associée au séquençage haut-débit HI-C pour étudier la conformation tridimensionnelle des chromosomes de Mabs et le rôle de Lsr2 dans leur repliement.

Finalement, l'intégration de ces 3 approches de génomiques fonctionnelles va permettre de comprendre mieux le rôle de Lsr2 dans la pathobiologie de Mabs.

**Mots clés :** Mycobactérium abscessus - Lsr2 - Virulence - Chromosome - Mucoviscidose.

**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P12

**Altérations fonctionnelles protéiques et transcriptionnelles des cellules immunitaires chez les patients atteints de Légionellose**

Camille Allam<sup>1,2,3</sup> (camille.allam@chu-lyon.fr), William Mouton<sup>4</sup>, Hugo Testaert<sup>2</sup>, Chloé Albert-Vega<sup>4</sup>, Christophe Ginevra<sup>1,2</sup>, Marine Ibranosyan<sup>1,2,3</sup>, Ghislaine Descours<sup>1,2,3</sup>, Laetitia Beraud<sup>1,3</sup>, AnneLise Chapalain<sup>2</sup>, Johann Guillemot<sup>2</sup>, Florence Ader<sup>2,5</sup>, Gérard Lina<sup>3</sup>, Sophie Assant<sup>4</sup>, Sophie Jarraud<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> CNR des Légionelles, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> «LegioPath» - CIRI INSERM UMR 1111, Université Lyon 1, Lyon, France

<sup>3</sup> Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>4</sup> Unité Mixte de Recherche - Hospices Civils de Lyon - BioMérieux, Centre Hospitalier Lyon Sud, Pierre Bénite, France

<sup>5</sup> Service des Maladies Infectieuses et Transmissibles, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Introduction :**

La légionellose (Legionnaires' Disease, LD) est une pneumonie sévère avec une admission en réanimation dans 30 à 40% des cas, des défaillances d'organes voire un choc septique (CS). La mortalité peut atteindre 30%. Le CS en dehors d'une LD s'accompagne d'une phase immunosuppressive caractérisée par un déficit quantitatif et fonctionnel de plusieurs lignées cellulaires sanguines et est associée à un mauvais pronostic. L'objectif de ce travail est d'étudier la fonctionnalité des cellules immunitaires chez des patients atteints de LD et de la relier à la sévérité.

**Matériels et méthodes :**

Au temps initial de l'infection, des prélèvements de sang total ont été stimulés par de la Concanavalline A (n=26), du Lipopolysaccharide de *E. coli* (LPS, n=14) et de l'entérotoxine de Staphylocoque B (SEB, n=14). Au bout de 24h de contact, 19 cytokines circulantes ont été mesurées dans les surnageants par technique Luminex. Le TNF $\alpha$  et l'IFN $\gamma$  ont également été dosés par une technique immunoenzymatique. L'expression de 96 gènes de l'immunité a été évaluée par la technologie Nanostring® puis étudiée par l'outil « Ingenuity Pathway analysis » (Qiagen). En parallèle, des prélèvements pour 9 patients en CS et 15 volontaires sains (HV) ont été inclus.

**Résultats :**

Après une stimulation par la Concanavalline A, les concentrations des 19 cytokines, à l'exception de l'IL-18 étaient très inférieures chez les patients LD par rapport aux HV. Des résultats similaires ont été obtenus après stimulation par le LPS et SEB pour les deux cytokines dosées, le TNF $\alpha$  et l'IFN $\gamma$ . L'expression des ARNm de plusieurs voies immunitaires (rôle des cytokines, chimiokines, des PRRs dans la reconnaissance microbienne...) sont significativement diminuées chez les patients LD. Les patients les plus sévères avaient un niveau d'expression similaire aux SC.

**Conclusion:**

Les cellules immunitaires des patients LD sont peu fonctionnelles après une stimulation *ex-vivo*, les altérations les plus profondes se retrouvant chez les patients les plus sévères. Ces résultats permettent de progresser sur la compréhension de la réponse de l'hôte et sont utiles pour identifier les patients qui pourraient bénéficier de thérapies immunostimulantes innovantes, comme celles actuellement à l'essai dans le CS.

**Mots clés :** Legionella - Choc septique - Transcriptomique - Immunosuppression.

**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P13

**Sensibilité des souches cliniques de *Legionella pneumophila* séro groupe 1 à l'activité bactéricide du sérum complément et anticorps dépendante**

Camille Allam<sup>1,2,3</sup> (camille.allam@chu-lyon.fr), Marine Ibranosyan<sup>1,2,3</sup>, Anaëlle Bolon<sup>1</sup>, Ghislaine Descours<sup>1,2,3</sup>, Noémie Fessy<sup>1</sup>, Joelle Chastang<sup>1</sup>, Laetitia Beraud<sup>1,3</sup>, Margaux Pilon<sup>2</sup>, Juliette Bougnon<sup>2</sup>, Christophe Ginevra<sup>1,2</sup>, Sophie Jarraud<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> CNR des Légionelles, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> «LegioPath» - CIRI UMR INSERM 1111, Université Lyon 1, Lyon, France

<sup>3</sup> Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Introduction et objectifs :**

*Legionella pneumophila* séro groupe 1 (Lp1), responsable de la légionellose présente un lipopolysaccharide de longueur et structure variables médiées notamment par l'expression du gène *lag-1*. La sensibilité de souches de référence à l'activité bactéricide du sérum est décrite comme dépendante de l'expression de *lag-1*. Notre objectif est de comparer la sensibilité d'une collection de souches Lp1 de patients à l'activité bactéricide d'un sérum témoin et des sérums de ces mêmes patients.

**Matériel et méthodes :**

Un total de 73 souches isolées de prélèvements respiratoires et la souche de référence Paris ont été mises en contact 24h à 37°C avec du sérum de 5 témoins sains (ST) et le sérum du patient dont était issu la souche (SP, n=70), en condition native (S) ou inactivée par la chaleur (SI) ou sans sérum (T). Les unités formant colonies (UFC) ont été comptées grâce aux Spiral / Scan 1200 (Interscience). Les différences entre les conditions S ou SI et T ont été exprimées en Δlog UFC. Les Ac anti-*Legionella* ont été mesurés par immunofluorescence (n=68).

**Résultats :**

Les Lp1 avaient une sensibilité variable au ST. Les souches *lag-1*(+) étaient plus résistantes que les *lag-1*(-) (p<0.0001). La bactéricidie des SP était plus importante que celle du ST en condition S (p<0.0001) et SI (p<0.0001). L'activité des SP sur la souche Paris et sur les souches des patients était corrélée en condition S (r=0,68, p<0,0001) et SI (r=0,84, p<0,0001) suggérant une activité sérum dépendante. L'activité bactéricide des SP avec une sérologie positive (n=19) était plus importante en condition S (p<0.0001) et SI (p=0,033) que pour les patients séronégatifs (n=49).

**Conclusion :**

La bactéricidie du sérum des patients sur la souche responsable de la légionellose est plus importante que celle du sérum témoin, en présence ou absence de complément. Les Ac anti-*Legionella* augmentent la bactéricidie médiée par le complément suggérant une activation par la voie classique. Une combinaison de facteurs entre les caractéristiques des souches (gène *lag-1*,...) et du sérum de l'hôte (Ac anti-*Legionella*, fractions du complément,...) est probablement à l'origine de la variabilité de l'activité bactéricide des sérums des patients.

**Mots clés :** Legionella - Bactéricidie - Lipopolysaccharide - Complément - Interactions hôte-pathogène.

## IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite

IH-P14

**A multi-omics strategy to investigate carbon sources availability and exploitation by the biotroph *Agrobacterium tumefaciens* in tomato tumors**Etienne Jeanne<sup>1</sup> (etienne.jeanne@i2bc.paris-saclay.fr), Marta Torres<sup>2</sup>, Denis Faure<sup>3</sup><sup>1</sup> Institut de Biologie Intégrative de la Cellule, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France<sup>2</sup> Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich, Zurich, Suisse<sup>3</sup> Institut de Biologie Intégrative de la Cellule, CNRS, Gif-sur-Yvette, France**Introduction and Objectives:**

The plant pathogen *Agrobacterium tumefaciens* is able to cause crown gall disease on a large spectrum of dicotyledonous plants. The plant infection results in the formation of tumors, which become a new living environment for the plant pathogen. *A. tumefaciens* is confronted to new living conditions, especially to a wide spectrum of metabolites from its self-constructed ecological niche in the host plant. This work presents the first results of our multi-omics strategy to investigate the exploitation of these resources in galls by *A. tumefaciens*.

**Materials and Methods:**

The metabolites present in tomato healthy stem and tumors induced by *A. tumefaciens* were identified by metabolomics. The growth assays were performed in AB minimal media with NH<sub>4</sub> as sole nitrogen source and one single carbon and energy source. The genome screening to get information about the importance of each genes for *A. tumefaciens* fitness in the tested experimental conditions was done by Transposon-Sequencing (Tn-Seq). The plant infections by *A. tumefaciens* were made on tomato plants.

**Results, Discussion and Conclusion:**

We determined the available carbon sources for *A. tumefaciens* in plant tumors from the metabolomics data and from the literature. Then we selected the ones that might be efficiently use as sole carbon source by *A. tumefaciens* in growth assays. Our *A. tumefaciens* Tn-Seq library were grown with the selected metabolites as sole carbon source. The Tn-Seq data analysis highlighted the key genes corresponding to each carbon source catabolism pathway. We also used and re-analyzed *in planta* Tn-Seq data [1] to produce a list of candidate genes that must be important to colonize plant tumors. Our aim is to find genes that connect our *in vitro* and *in planta* Tn-Seq datasets with *A. tumefaciens* lifestyle in tomato tumors. We constructed knockout mutants for some selected genes. We performed *in vitro* and *in planta* experiments with those mutants to go further in their function characterization and to show their importance for *A. tumefaciens* fitness.

**Mots clés :** Agrobacterium - Tn-Seq - Carbon source - Tomato - Tumor.

**Références :**

1. Marta Torres, Audren Jiquel, Etienne Jeanne, Delphine Naquin, Yves Dessaux and Denis Faure, 2021, *Agrobacterium tumefaciens* fitness genes involved in the colonization of plant tumors and roots, *New Phytologist* (2022) 233 : 905-918.

## IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite

IH-P15

## Microorganisms in patients with acute respiratory tract infections in Bamako, Mali

Bourema Kouriba<sup>1</sup> (bourema.kouriba@cicm-mali.org), Zichun Xiang<sup>2,3</sup>, Abdoul Karim Sangaré<sup>1</sup>, Xinming Wang<sup>2</sup>, Yan Xiao<sup>2</sup>, Bourama Kané<sup>4</sup>, Ibrahima Cissé<sup>5</sup>, Mody Camara<sup>6</sup>, Bréhima Traore<sup>1</sup>, Ambrasse Dembele<sup>5</sup>, Ying Wang<sup>2</sup>, Judicael Ouedraogo<sup>1</sup>, Lassina G. Timbine<sup>1</sup>, Souleymane Diallo<sup>1</sup>, Ogobara K Doumbo<sup>7</sup>, Lili Ren<sup>2,3</sup>, Jianwei Wang<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Rodolphe Mérieux, Centre d'Infectiologie Charles Mérieux Mali, Bamako, Mali

<sup>2</sup> NHC Key Laboratory of Systems Biology of Pathogens, Institute of Pathogen Biology (IPB), Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS), Beijing, Chine

<sup>3</sup> Key Laboratory of Respiratory Disease Pathogenomics, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing, Chine

<sup>4</sup> Pediatric Department, University Teaching Hospital of Mali, Bamako, Bamako, Mali

<sup>5</sup> Community Health Center of Yirimadio, Bamako, Mali

<sup>6</sup> Radiology Department, University Teaching Hospital of Mali, Bamako, Bamako, Mali

<sup>7</sup> Malaria Research and Training Center, Bamako, Mali

**Introduction and Objective:**

Acute respiratory tract infections (ARTIs) are the second disease consultation frequencies in Mali. Only few studies had investigated the microorganisms associated with Pneumonia in Children <5 years of age. This study provides the first microorganisms spectrum associated with ARTIs in all age groups in Mali.

**Material and Methods:**

The patients suffered ARTIs were recruited in community health center of Yirimadio and Mali Hospital from January to December in 2018 in Bamako, Mali. Nose and throat swab samples were collected from each patient. The common respiratory pathogens, including 19 viruses and 5 bacteria were screened by using multiplex real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) assay.

**Results, Discussion and Conclusion:**

A total of 600 patients were involved, in which 512 (85.3%) were positive for at least one pathogen. *Streptococcus pneumoniae* (356/600, 59.3%) were the most often detected pathogen, followed by human enteroviruses including rhinovirus (162/600, 27%). In *Streptococcus pneumoniae* positive samples, 182 were typed into 18 serotypes, and 11A/11D ranked the first. This serotype was not included in current used 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13). Respiratory syncytial virus (RSV) was detected in only 23 samples including 21 RSV A and 2 RSVB.

*S. pneumoniae* and EVs are the most prevalent bacteria and virus detected in Malian patients with ARTIs. 11A/11D, a non-PCV13 serotype, is the first detected *S. pneumoniae* serotype in Mali and this phenomenon should be taken seriously. According to the detection rate of *S. pneumoniae* and the main prevalent serotypes, routine administration of PCV13 in series with PPSV23 is the right strategy in Mali.

**Mots clés :** ARTIs - Microorganisms - RT-PCR - Bamako - Mali.

**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P16

**From colonization to infection: How SSB-P modulate the virulence of *Staphylococcus aureus* in diabetic foot ulcers?**

Nour Mansour<sup>1</sup> (nour.mansour@umontpellier.fr), Sylvaine Huc- Brandt<sup>1</sup>, Jean-Philippe Lavigne<sup>2</sup>, Virginie Molle<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratory of Pathogen Host interactions UMR 5235, Montpellier University, Montpellier, France*

<sup>2</sup> *Virulence Bactérienne et Infections Chroniques, INSERM U1047, Department of Microbiology and Hospital Hygiene, Montpellier University, Nîmes, France*

*Staphylococcus aureus* is an opportunistic bacterium capable of causing a wide range of severe diseases when it gains access to underlying tissues. In the infected diabetic foot ulcers (DFU), this bacterium represents the main pathogen isolated. However, our team identified a ST8-*S. aureus* clone present on DFU with a colonizing role due to the presence of a ROSA-like prophage integrated in its chromosome. The aim of this study was to understand which gene present in this phage could modulate the *S. aureus* virulence. Among the genomic sequence of the ROSA-like phage, a single stranded DNA binding protein (SSB-P)-encoding gene was selected by an in silico approach as a good candidate to impact *S. aureus* virulence. Three strains were used: the colonizing clinical isolate (NSA1385), the same isolate after phage excision and without *ssb-P* (NSA1385(P-)), and the complemented strain obtained after transformation of NSA1385(P-) with the overexpressing plasmid pTSS::*ssb-P* (NSA1385(P-)+pTSS::*ssb-P*). Confirmation of the SSB-P function was provided by electrophoretic mobility-shift assay. Bacterial growth of the three isolates were measured by absorbance using microplate spectrophotometer. The pathogenicity of the three strains was evaluated using in vitro (macrophages RAW264.7 and THP-1 differentiated macrophages, keratinocytes HaCaT) and in vivo (zebrafish) models.

In macrophages models, our results showed significant differences between NSA1385(P-) and the two other strains at 5 and 24h, suggesting that SSB-P is involved in the reduced survival of the colonizing *S. aureus* isolate in macrophages. No difference was observed in keratinocytes excluding the role of SSB-P in these cells. However, after microinjection in the bloodstream of zebrafish embryos, a significant reduction of mortality was observed with NSA1385 and NSA1385(P-)+pTSS::*ssb-P* in comparison to NSA1385(P-) confirming the role of SSB-P in the decreased virulence of the NSA1385 isolate. Our promising results generated the first description of an important gene harboured by the phage ROSA-like that is involved in modulating the interaction of *S. aureus* with its host. Thus, this study provides important advances in commensalism understanding.

**Mots clés :** *S. aureus* - ROSA-Like - SSBP - Virulence.

**Références :**

1. Messaad Noureddine, et al., Diabetes 2015, doi: 10.2337/db15-0031

**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P17

**Zebrafish embryo to model a persistent infection with clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates and assess the efficiency of therapeutics**Stéphane Pont<sup>1</sup> (stephane.pont@umontpellier.fr), Flore Nilly<sup>1</sup>, Patrick Plésiat<sup>2</sup>, Anne Blanc-Potard<sup>1</sup><sup>1</sup> Laboratory of Pathogen Host Interactions, Université de Montpellier, Montpellier, France<sup>2</sup> Centre National de Référence de la résistance aux antibiotiques, CHRU Jean Minjot, Besançon, France**Introduction and Objectives :**

The opportunistic human pathogen *Pseudomonas aeruginosa* is responsible of a variety of acute infections and is a major cause of mortality in chronically infected patients with cystic fibrosis (CF). Considering *P. aeruginosa* intrinsic and acquired resistance to currently used antibiotics, new therapeutic strategies against this pathogen are urgently needed. To develop such therapies, it is crucial to have suitable animal models for drug screening. So far, *in vivo* studies have mainly allowed to decipher the interplay between *P. aeruginosa* and the innate immune system upon acute infections but not during long-lasting colonization. Zebrafish embryo is now firmly established as a potent vertebrate model for the study of infectious human diseases, due to strong similarities of its innate immune system with that of humans and the unprecedented possibilities of non-invasive real time imaging. We have recently used this model to investigate the contribution of *P. aeruginosa* factors in pathogenesis, visualize bacterial phagocytosis in real time and assess the efficacy of anti-*Pseudomonas* molecules upon acute infection. The goal of this work is to establish a persistent colonization using clinical CF isolates, to better characterize *P. aeruginosa* pathogenicity in this specific context, and assess the efficiency of new therapeutics.

**Materials and Methods :**

Following tail injury, zebrafish embryos were immersed in a suspension of clinical CF isolates. After colonization of the wound, the virulence and the persistence of these strains was evaluated, by monitoring respectively fish survival and the bacterial load per embryo over time. Confocal microscopy using a specific fish line with labelled macrophages and GFP-expressing bacteria allowed us to observe the interaction between bacteria and macrophages in the context of a persistent infection. Bacterial sensitivity to antibiotics over time was also evaluated *in vivo*.

**Results, Discussion and Conclusion :**

Investigation of the pathogenesis of CF clinical strains in zebrafish allowed us to identify isolates with a persistent phenotype and thus, to propose a novel persistent model of *P. aeruginosa* infection in a vertebrate animal. Our current studies address the impact of persistence on the sensitivity to known antibiotics, as well as to novel anti-*Pseudomonas* molecules.

**Mots clés :** *Pseudomonas aeruginosa* - Persistence - Zebrafish - Chronic infection - Antibiotic efficacy.



**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P18

**The autophagic machinery favours HIV-1 entry in CD4+T lymphocytes**

Baptiste Pradel<sup>1</sup> (baptiste.pradel@irim.cnrs.fr), Maïka Deffieu<sup>2</sup>, Véronique Robert-Hebmann<sup>1</sup>, Caroline Goujon<sup>2</sup>, Mathias Faure<sup>3</sup>, Raphaël Gaudin<sup>2</sup>, Lucile Espert<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR9004 IRIM\_ Équipe Acteurs de la Pathogénèse des Infections Rétrovirales, Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> Centre International de Recherche en Infectiologie, Lyon, France

**Introduction:**

Autophagy is a conserved lysosomal degradation pathway involved in the cellular antiviral response. It is regulated by numerous proteins, the ATGs, that have also roles independently of this degradation process. In particular, the conjugation of the ATG8 family of proteins, which the most studied member in mammals is LC3B, to lipids has recently been considered as a general process of membrane stress response, also called "ATG8ylation".

**Objectives:**

Our team has shown that autophagy is induced transiently during the early phases of HIV-1 infection of CD4+ T lymphocytes. The aim of the present work was to determine the impact of the interplay between the autophagic machinery and HIV-1 at the very early step of CD4+T lymphocytes infection.

**Results:**

Our results show that inhibiting, by pharmacological or genetic approaches, several proteins of the autophagic machinery (BECN1, ATG5, ATG7), required for LC3B conjugation, dampens the HIV-1 infection in CD4+ T lymphocytes suggesting that those factors could act as pro-viral elements. More specifically, by a Blam-assay approach, we found that those proteins promote the HIV-1 entry step into target cells by a mechanism independent of the canonical autophagy.

In parallel, by real-time confocal microscopy, we were able to observe, in the very early steps of infection, the recruitment of LC3B to the plasma membrane, in the viral entry zone.

**Conclusion:**

In conclusion, these results suggest that HIV-1 uses the autophagy machinery to facilitate its entry in CD4+T lymphocytes and therefore to complete the first step of a successful infection.

*Mots clés* : Autophagy factors - HIV-1 - CD4+ T lymphocytes - Viral entry - Live Cell Imaging.

**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P19

**Structural and functional exploration on PdtA, a 430kDa protein of *Pseudomonas aeruginosa***Adèle Renier<sup>1</sup> (adele.renier@ibs.fr), Antoine Maillard<sup>1</sup>, Yvan Caspar<sup>1,2</sup>, Daphna Fenel<sup>1</sup>, Ina Attree<sup>1</sup><sup>1</sup> IBS, IRIG, Grenoble, France<sup>2</sup> CHU de Grenoble, Grenoble, France**Introduction and Objectives:**

*Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) is a gram-negative opportunistic human pathogen that can lead to both acute and chronic infections. To overcome multidrug resistance of *Pa* isolates, several anti-virulence approaches are explored. *Pa* has a panoply of surface-attached and exported proteins involved in virulence that can be secreted by several ways, including Two Partner Secretion (TPS) systems. *Pa* encodes for at least five TPS whose substrates: LepA protease, CdiA (contact-dependent growth inhibition), CdrA adhesin, Exolysin (ExlA), a pore-forming toxin and PdtA, a filamentous hemagglutinin (FHA)-like adhesin [1]. PdtA protein that belongs to the HMW adhesion family of proteins with highly immunogenic properties [2] HMW1 of *Haemophilus influenzae*, however its role in infection is still unknown [3,4]. The studies on PdtA were impeded due to the lack of laboratory strains expressing the protein. The objectives of this work was to examine the expression of PdtA in clinical strains, determine its subcellular localization and initiate structural studies. In parallel, we examined the collection of patients' sera for presence of anti-PdtA antibodies.

**Material and Methods:**

We used dot blots and western blots to identify clinical strains that express PdtA. We used those strains as a model for studying PdtA and first, we characterize those strains by identifying their toxins, their cytotoxicity and their motility. Then we made *pdtB* and *pdtA* mutants in those strains and performed functionality tests *in vitro* (cytotoxicity, adhesion). In order to visualize and localize PdtA, we performed immunofluorescence and electron microscopy. Finally, we screened patient's sera collected by the CHUGA to see if they contain antibodies anti-PdtA.

**Results:**

We selected and characterized nine clinical strains constitutively expressing PdtA, that harbor different toxins (ExoU, ExoS, ExlA). Immunofluorescence and electron microscopy showed that PdtA is exposed at the cell surface. Functional tests employing clinical strains and isogenic mutants are underway to design the function to PdtA.

**Mots clés :** *Pseudomonas aeruginosa* - Virulence - Adhesin.

**Références :**

1. Guerin J, Bigot S, Schneider R, Buchanan SK, Jacob-Dubuisson F. Two-Partner Secretion: Combining Efficiency and Simplicity in the Secretion of Large Proteins for Bacteria-Host and Bacteria-Bacteria Interactions. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2017;7:148.
2. Winter LE, Barenkamp SJ. Antibodies to the HMW1/HMW2 and Hia adhesins of nontypeable *Haemophilus influenzae* mediate broad-based opsonophagocytic killing of homologous and heterologous strains. *Clin Vaccine Immunol*. mai 2014;21(5):61321.
3. Faure LM, Garvis S, de Bentzmann S, Bigot S. Characterization of a novel two-partner secretion system implicated in the virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology (Reading)*. sept 2014;160(Pt 9):194052.
4. Llamas MA, van der Sar A, Chu BCH, Sparrius M, Vogel HJ, Bitter W. A Novel extracytoplasmic function (ECF) sigma factor regulates virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Pathog*. sept 2009;5(9):e1000572.

## IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite

IH-P20

**Effets d'une infection parasitaire, d'une exposition chronique à un insecticide et d'une supplémentation avec un probiotique sur l'abeille domestique et son microbiote intestinal**

Thania Sbaghdi<sup>1</sup> (thania.sbaghdi@uca.fr), Julian Garneau<sup>2,3</sup>, Frédérique Chaucheyras-Durand<sup>4</sup>, Hicham El Alaoui<sup>1</sup>, Michel Bocquet<sup>5</sup>, Nicolas Blot<sup>1</sup>, Philippe Bulet<sup>5</sup>, Frédéric Delbac<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LMGE UMR CNRS 6023, Université Clermont Auvergne, Clermont-ferrand, France

<sup>2</sup> Plateforme Biomics, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>3</sup> Microbiota-targeted interventions group - Pascale Vonaesch Lab, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse

<sup>4</sup> R&D nutrition animale, Lallemand, Blagnac, France

<sup>5</sup> Institut pour l'avancée des Biosciences, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France

**Introduction et objectifs :**

Dans les dernières décennies, la santé de l'abeille domestique *Apis mellifera* a décliné mondialement sous l'effet de facteurs biotiques et abiotiques agissant potentiellement en combinaison. Parmi les facteurs abiotiques, les insecticides, notamment les néonicotinoïdes, sont toxiques pour l'abeille même à faible dose. Des études ont montré que l'association de pesticides et du parasite intestinal *Nosema ceranae* pourrait être à l'origine de surmortalités. Ces stressors n'affectent pas uniquement l'abeille mais également son microbiote intestinal qui joue un rôle clé dans l'immunité et dans les fonctions digestives. Ce travail a pour but d'analyser la réponse du microbiote intestinal à une exposition à *N. ceranae* et au néonicotinoïde thiaméthoxame, seuls ou en combinaison. Il propose aussi d'évaluer le potentiel impact probiotique d'une bactérie lactique sur l'immunité de l'abeille et sur l'infection à *N. ceranae*.

**Matériels et méthodes :**

Des ouvrières en cagette ont été exposées en laboratoire aux différents stressors, seuls ou en combinaison, pendant 17 jours, en présence ou non du probiotique *Pediococcus acidilactici*. Les intestins ainsi que l'hémolymphe ont été prélevés. L'étude du microbiote intestinal a été réalisée par des approches de séquençage à haut débit en métagénomique shotgun. L'immunité de l'abeille est étudiée par RT-qPCR au niveau intestinal. L'impact des stressors sur les peptides de l'hémolymphe a été suivi par deux approches complémentaires de spectrométrie de masse : (1) réalisation d'empreintes moléculaires par MALDI et (2) identification de la modification des voies physiologiques par protéomique de type Bottom-up par LC-ESI-MS/MS.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'infection à *N. ceranae* modifie significativement le microbiote intestinal en diminuant l'abondance des lactobacilles et en augmentant celle des protéobactéries, notamment *Frischella perrara*. En présence de *N. ceranae*, le probiotique favorise l'abondance de *Bifidobacterium asteroides* et diminue celle de *F. perrara*. L'analyse de l'hémolymphe suggère un impact du pesticide, en présence ou non de *N. ceranae*, et du probiotique, en présence du pesticide uniquement. L'effet du probiotique varie selon le compartiment biologique étudié et dépendrait du facteur de stress appliqué. Son mécanisme d'action reste encore à élucider.

**Mots clés :** *Nosema ceranae* - Insecticide - Microbiote intestinal - Métagénomique shotgun - Protéomique.

## IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite

IH-P21

**Modulation of Ca<sup>2+</sup> channels activity through a differential mechanism by bi-component HlgC/HlgB and HlgA/HlgB g-hemolysins during staphylococcal infections**Leila Staali<sup>1</sup> (Istaali1@yahoo.com), Didier André Colin<sup>2</sup><sup>1</sup> Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV), Département de Biotechnologie, Oran, Algérie<sup>2</sup> Université Louis Pasteur, Institut de Bactériologie, Strasbourg, France**Introduction:**

The Gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus* an important human pathogen causing a wide range of invasive diseases during clinical infections. The ability of *S. aureus* to produce a number of virulence factors may contribute to diseases pathogenesis. Among these, bi-component leukotoxins known as \*pore-forming toxins\* induce upon a specific binding to membrane receptors, two independent cellular events in human neutrophils. First, they provoke the opening of pre-existing specific ionic channels including Ca<sup>2+</sup> channels. Then, they form membrane pores specific to monovalent cations leading to immune cells death. Among these leukotoxins, HlgC/HlgB and HlgA/HlgB g-hemolysins do act in synergy to induce the opening of different types of Ca<sup>2+</sup> channels in the absence as in the presence of extracellular Ca<sup>2+</sup>. The aim of this study was to understand how both leukotoxins could provoke the Ca<sup>2+</sup> channels activation through a differential mechanism.

**Material and Methods:**

In the present work, we investigated the mechanism underlying the modulation of Ca<sup>2+</sup>-independent Ca<sup>2+</sup> channels in response to both active g-hemolysins in human neutrophils. This was achieved by spectrofluorometry techniques using Fura2, as a Ca<sup>2+</sup> specific probe. Variations in fluorescence intensities were recorded at wavelengths IEX = 340 nm and IEX = 360 nm. Thus, in the absence of extracellular Ca<sup>2+</sup>, the Mn<sup>2+</sup> has been used as a Ca<sup>2+</sup> surrogate to determine the activity of Ca<sup>2+</sup>-independent Ca<sup>2+</sup> channels.

**Results, Discussion and Conclusion:**

Our findings provide new insights about different mechanisms of action involved in the staphylococcal g-hemolysins activity to regulate three different types of Ca<sup>2+</sup>-independent Ca<sup>2+</sup> channels. We conclude that (i) HlgC/HlgB stimulates the opening of La<sup>3+</sup>-sensitive Ca<sup>2+</sup> channels, through a cholera toxin-sensitive G protein, (ii) HlgA/HlgB stimulates the opening of Ca<sup>2+</sup> channels not sensitive to La<sup>3+</sup>, through a G protein-independent process, and (iii) unlike HlgA/HlgB, HlgC/HlgB toxins prevent the opening of a new type of Ca<sup>2+</sup> channels by phosphorylation/de-phosphorylation-dependent mechanisms.

Further investigations will be needed to better understand this differential action in signaling pathways triggered by bi-component leukotoxins during staphylococcal infections.

*Mots clés* : *S. aureus* - g-hemolysins - Neutrophils - Ca<sup>2+</sup> channels - Spectrofluorometry.

**IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite**

IH-P22

**Lactobacillus rhamnosus Lcr35® stimule les défenses vaginales épithéliales lors des infections par *Gardnerella vaginalis***

Marjolaine Vareille-Delarbre<sup>1</sup> (marjolaine.vareille-delarbre@uca.fr), Sylvie Miquel<sup>1</sup>, Julien Verlaguet<sup>1</sup>, Sophie Garcin<sup>2</sup>, Bertrand Evrard<sup>3</sup>, Christiane Forestier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR CNRS 6023 LMGE, Laboratoire de Bactériologie, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

<sup>2</sup> UNH, Unité de Nutrition Humaine, Laboratoire d'Immunologie, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

<sup>3</sup> Service d'Immunologie, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

**Introduction et objectifs :**

La dysbiose du microbiome vaginal, due à la prolifération de bactéries anaérobies telles que *Gardnerella vaginalis* et à la diminution de lactobacilles, entraîne une vaginose bactérienne (VB), généralement associée à un processus inflammatoire de faible intensité. Malgré un traitement antibiotique approprié, la VB associée à *G. vaginalis* se caractérise par une récurrence importante. L'utilisation de probiotiques pourrait être une alternative thérapeutique intéressante en raison de leur capacité à rééquilibrer le microbiote vaginal. Dans cette étude, nous avons examiné les effets d'une souche probiotique, *Lactocaseibacillus rhamnosus* Lcr35, sur les réponses immunitaires de cellules épithéliales vaginales et de cellules dendritiques après infectées par *G. vaginalis*.

**Matériels et méthodes :**

Des cellules épithéliales vaginales VK2/E6E7 ont été infectées avec *G. vaginalis* en présence ou non de Lcr35. La production de cytokines pro-inflammatoires et de peptides anti-microbiens a été recherchée dans les surnageants de culture par ELISA. En parallèle, un modèle de co-culture avec des cellules dendritiques dérivées de monocytes humains et une monocouche de cellules épithéliales vaginales a été développé. La maturation des cellules dendritiques a été analysée par cytométrie en flux.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Dans un modèle de co-culture cellules vaginales/cellules dendritiques, la présence de Lcr35 conjointement à une stimulation apicale par *G. vaginalis* induit l'activation des cellules dendritiques, ce qui se traduit par une augmentation de leur maturation et la synthèse des chimiokines IL-8 et CCL-20

L'analyse de la réponse épithéliale vaginale montre que la présence de Lcr35 augmente significativement la production des cytokines pro-inflammatoires IL-8, IL-1b et de la b-defensine-2 dans les cellules épithéliales vaginales infectées par *G. vaginalis*. En revanche, la production du peptide anti-bactérien SLPI induite par *G. vaginalis* est significativement inhibée par Lcr35. L'ajout de SLPI recombinant diminue la production d'IL-8 et de b-defensine-2 par rapport à celle observée avec *G. vaginalis* et Lcr35 dans les cellules vaginales.

Ces résultats suggèrent que l'inhibition de SLPI par Lcr35 dans les cellules épithéliales vaginales contribue à la réponse de défense de l'organisme hôte, offrant un nouveau mécanisme pour la régulation de la réponse innée par les lactobacilles lors de l'infection par *G. vaginalis*.

**Mots clés :** *Gardnerella vaginalis* - *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 peptides anti-microbiens - peptides anti-microbiens - réponse inflammatoire.

**IT-P Innovations technologiques en microbiologie**

IT-P01

**Méthode multiplexe innovante pour le protéotypage rapide d'isolats microbiens**

Madisson Chabas (madisson.chabas@cea.fr), Olivier Pible, Jean Armengaud, Béatrice Alpha Bazin

L12D, CEA, Bagnols-sur-Cèze, France

**Introduction et objectifs :**

L'identification rapide de microorganismes pour des réponses cliniques ou pour déterminer la composition d'un microbiote est primordiale. Cela peut permettre par exemple la compréhension de maladies ou le développement d'applications biotechnologiques. Des méthodes d'identification existent et sont basées sur des approches phénotypiques, de biologie moléculaire, de spectrométrie de masse. Le protéotypage par spectrométrie de masse en tandem consiste à relier les spectres MS/MS enregistrés à des organismes par le biais des séquences de peptides déterminées. La phylopeptidomique, développée par notre laboratoire<sup>1</sup>, est une approche puissante de ce type de protéotypage permettant à la fois l'identification de microorganismes même dans des mélanges et la quantification de leur biomasse relative<sup>2-4</sup>. L'objectif est d'explorer son application pour l'analyse à plus haut-débit et donc à moindre coût d'isolats microbiens. Pour cela le multiplexage d'échantillons avant l'analyse par spectrométrie de masse en tandem pourrait être un excellent moyen d'obtenir des identifications à haut débit.

**Matériels et méthodes :**

La méthode proposée repose sur l'ajout d'une étape de fractionnement « off-line » de microorganismes permettant de combiner différentes fractions d'un grand nombre d'isolats et de relier le résultat de l'analyse à l'échantillon correspondant. Ainsi le mélange de peptides provenant des différentes fractions est analysé par chromatographie en phase inverse couplée à un spectromètre de masse en tandem de haute-résolution (Qexactive-HF). Le jeu des données est ensuite interprété pour identifier les microorganismes présents dans le mélange et déterminer à quelles fractions ils appartiennent.

**Résultats, discussion et conclusion :**

21 isolats bactériens ont été identifiés en une analyse unique de 60 minutes correspondant à une identification toutes les 3 minutes sans marquage. Cette méthode a démontré que des organismes du même genre ont facilement été distingués. L'avantage majeur de cette méthode multiplexe est qu'elle ne nécessite pas des marquages contrairement à une grande majorité des autres approches multiplexes. Les résultats de la preuve de concept ouvrent de nouvelles perspectives au protéotypage par spectrométrie de masse en tandem dans les projets impliquant de la culturomique.

*Mots clés* : Protéotypage - Multiplexage - Protéomique - Isolats - Taxonomie.

**Références :**

1. Pible O, Allain F, Jouffret V, Culotta K, Miotello G, Armengaud J (2020) Estimating relative biomasses of organisms in microbiota using "phylopeptidomics". *Microbiome* 8:30.
2. Hayoun K, Gaillard J-C, Pible O, Alpha-Bazin B, Armengaud J (2020) High-throughput proteotyping of bacterial isolates by double barrel chromatography-tandem mass spectrometry based on microplate paramagnetic beads and phylopeptidomics. *J Proteomics* 226:103887.
3. Hayoun K, Pible O, Petit P, Allain F, Jouffret V, Culotta K, et al. (2020) Proteotyping Environmental Microorganisms by Phylopeptidomics: Case Study Screening Water from a Radioactive Material Storage Pool. *Microorganisms* 8:1525.
4. Lozano C, Kielbasa M, Gaillard J-C, Miotello G, Pible O, Armengaud J (2022) Identification and Characterization of Marine Microorganisms by Tandem Mass Spectrometry Proteotyping. *Microorganisms* 10:719.

## IT-P Innovations technologiques en microbiologie

IT-P02

### Automatisation et paramétrage : le bon mariage

Vanessa Cocquerelle (v.cocquerelle@bio67.fr), Angéline Chabaud

Plateau de Microbiologie, BIO67 - Ouilab, Strasbourg, France

#### Introduction :

L'automatisation en bactériologie, qui permet une excellente standardisation et traçabilité, révolutionne l'organisation du travail technique (flux continu versus séries de lecture). Au vue de l'investissement financier, il est légitime de se demander quels sont les réels atouts de tels équipements.

#### Matériels et méthodes :

Notre plateau technique est équipé d'une chaîne BD-Kiestra (Work Cell Automation et Inoqula StandAlone) pilotée par le logiciel Synapsys, et d'un Middleware (MCA Clarisys). Le paramétrage initial des protocoles est conséquent car multi-critères mais offre de nombreuses possibilités. La fréquence de la prise d'images est primordiale car elle conditionne le rythme de lectures des cultures, et par conséquent le rendu des résultats.

#### Résultats :

Notre paramétrage, à la fois du Middleware et de Synapsys, nous a permis d'être plus efficace pour les dossiers cliniques le nécessitant.

La qualité de l'incubation est indéniable : 40h versus 48h en étuve standard avec mise en évidence de bactéries fastidieuses comme *Francisella tularensis* ou *Capnocytophaga canimorsus* à partir d'échantillons cliniques en moins de 2 jours.

Plusieurs critères permettent de gagner en efficacité au niveau des protocoles d'ensemencement : ajout de milieux spécifiques en fonction des résultats du Gram (hémoculture) ou de PCR (panel entérique par exemple), d'un service spécifique, d'un renseignement clinique, d'une antériorité...

Des protocoles dédiés avec prise de photos plus régulières pour les prélèvements précieux ou ensemencés en garde permettent une détection précoce de la croissance. Nous avons ainsi pu faire le diagnostic d'une septicémie à *Listeria* avec un délai de 4h30 entre le repiquage du flacon positif et l'identification par spectrométrie de masse.

#### Conclusion :

L'intérêt principal d'une chaîne ne réside pas le délai de rendu, bien que l'incubation y soit excellente, mais dans les possibilités qu'elle offre l'automatisation. Cependant, sans réflexion et optimisation du paramétrage, l'organisation peut être contre-productive.

A l'inverse, la prise en compte de renseignements cliniques, des antécédents, des autres échantillons du même patient sont autant de critères qui permettent une prise en charge optimale des cultures et qui fait de cet investissement un réel atout pour le laboratoire, le confort des techniciennes, le rendu au prescripteur, et la prise en charge du patient !

**Mots clés :** BDKiestra - Middleware - Automatisation - Clarisys.

## IT-P Innovations technologiques en microbiologie

IT-P03

**Selection of new therapeutic targets in relation with Intrabacterial Lipid Inclusions metabolism in *Mycobacterium abscessus***

Tonia Dargham<sup>1</sup> (tdargham@imm.cnrs.fr), Ivy Mallick<sup>1</sup>, Léa Celik<sup>1</sup>, Gael Brasseur<sup>2</sup>, Luc Camoin<sup>3</sup>, Stéphane Audebert<sup>3</sup>, Laurent Kremer<sup>4</sup>, Stéphane Canaan<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR7255, LISM, CNRS, Marseille, France

<sup>2</sup> CNRS, LCB-UMR7283, Marseille, France

<sup>3</sup> INSERM, CNRS, CRCM, Marseille, France

<sup>4</sup> IRIM, INSERM, CNRS, montpellier, France

**Introduction:**

During infection and granuloma formation, *Mycobacterium tuberculosis* accumulates lipids in the form of Intrabacterial Lipid Inclusions (ILI). These organelles allow the bacilli to escape the host immune system and serve as a carbon source for the persistence of the bacteria. Like *M. tuberculosis*, the opportunistic pathogen *M. abscessus* can form these ILI during its infectious cycle. ILIs are mainly composed of triglycerides surrounded by a phospholipid monolayer and comprising numerous proteins. In addition to their role in the energy storage, ILI may also provide biosynthetic precursors for the production of complex cell wall lipids. In this context, the identification of the proteins involved in the formation/degradation of ILIs may lead to the discovery of new therapeutic targets to manipulate the persistence of pathogenic mycobacteria.

**Materials and Methods:**

Using a peroxidase (APEX) as a bait with known proteins on the surface of ILI, biotinylation of all other unknown proteins located at the vicinity of the bait are expected to lead to their labelling and their subsequent identification at different time points. Indeed, two genes encoding proteins known to be located on the surface of ILIs during their formation have been fused with the *apex2* gene. The newly biotinylated proteins were identified by streptavidin-based enrichment and quantitative mass spectrometry analysis. An *in vitro* and *ex vivo* models mimicking lipid accumulation and consumption developed previously in our laboratory was employed to identify these proteins.

**Results, Discussion and Conclusions:**

Using this proximity labelling technique, potential ILI associated proteins candidates can be identified at different time points during the ILI formation and degradation. Based on the presence of orthologous in *M. tuberculosis*, we have selected 18 potential non-essential targets during this ILI synthesis stage. We will next initiate their biochemical characterization and study their physiological role during ILI formation by deleting or overexpressing the corresponding genes in *M. abscessus*. Finally, we expect to discover major enzymes involved in ILI formation that could be useful for the development of new therapeutic strategies. Overall, the complete study will allow to unravel a whole list of protein partners involved in the ILI metabolism.

*Mots clés* : Lipidomic - Proteomic - Lipid droplet - Persistence - Mycobacterium.



**IT-P Innovations technologiques en microbiologie**

IT-P04

**Microcapillary Flow Cytometry for Bacterial Enumeration, Viability, and Gram Typing**

Livine Duban<sup>1</sup> (lduban@luminexcorp.com), Tate Sessler<sup>2,2</sup>, Ashikun Nabi<sup>2</sup>, Kamala Tyagarajan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Luminex, A DiaSorin Company's-Hertogenbosch, Pays-Bas

<sup>2</sup> Luminex Corporation, Austin, États-Unis

Bacterial characterization requires the determination of concentration (count/mL), viability, and gram typing. Characterization has remained slow and labor-intensive, when relying on traditional plate-based methods. Flow cytometry has shown to be powerful and effective for bacterial analysis, however complexity and cost issues have limited adoption.

In these, we investigate results from the application of microcapillary flow cytometry (MFC) on the Guava<sup>®</sup>Muse<sup>®</sup>Cell Analyzer and the Guava<sup>®</sup> easyCyte<sup>™</sup> platforms for bacterial analysis. These platforms are compact with simple assay optimized software, can provide absolute count data without external beads, and are known to generate precise and accurate results for a variety of cellular measurements. Studies were performed using the Guava<sup>®</sup> Bacterial Count & Viability, which is currently in development. These kits include staining methods that utilize a combination of membrane-permeable and impermeable nucleic acid dyes for analysis by microcapillary flow cytometry. Count, viability, and precision data for a variety of bacterial strains are obtained, and the, compared with traditional bacterial plate count methods?

In addition, the potential application of microcapillary flow cytometry for the investigation of bacterial gram typing with the Guava<sup>®</sup> Bacterial Gram Typing Kit is also examined using a range of gram-positive and gram-negative strains. Our results show that microcapillary flow cytometry can provide quick, precise results, and can greatly accelerate the determination of bacterial count, viability, and gram typing analysis.

*Mots clés* : Bacterial characterization - Enumeration - Viability - Gram Typing.

**IT-P Innovations technologiques en microbiologie**

IT-P05

**Utilisation de l'intelligence artificielle et de la cytométrie par imagerie en flux pour créer un modèle d'identification de levures**

Vincent Genty<sup>1</sup> (v.genty@amarokbiotech.com), Alessandro Serra<sup>2</sup>, Livine Duban<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Amarok Biotechnologies, Saint Malo, France

<sup>2</sup> Luminex A DiaSorin Company, 's-Hertogenbosh, Pays-Bas

L'objectif de ce travail préliminaire était de créer un modèle de classification statistiquement significatif de populations mixtes de levures, grâce à la cytométrie par imagerie en flux couplée au logiciel d'intelligence artificielle Amnis®AI et IDEAS®ML.

L'étude a été réalisée sur un cytomètre Amnis®ImageStream®X-MkII, pour ses qualités de microscope : grossissement (20-60X) et résolution (1-0.33  $\mu^2$ /pixel) et de cytomètre en flux (Brightfield, Darkfield, 11 canaux de fluorescences) permettant l'acquisition de 90 paramètres par cellules et par canal.

Cinq souches de levures ont été analysées afin de générer un modèle d'identification déterminé par Intelligence Artificielle (AI) utilisant les réseaux neuronaux convolutifs ou l'analyse discriminante linéaire (LDA). Les modèles se construisent en alimentant le logiciel avec les caractéristiques morphométriques de chacun des canaux pour chaque cellule acquise.

Nous avons combiné deux modèles : l'un basé sur les caractéristiques en brightfield validé par l'analyse statistique comparative de l'identité de chaque souche prédite par le modèle et de sa classe réelle ; le second utilisant un algorithme LDA ajoutant l'utilisation des mesures d'autofluorescence. Les « super-paramètres » calculés permettent de maximiser la séparation entre les différentes souches lors de l'analyse de populations mixtes.

L'évaluation statistique de la précision du premier modèle est de 97% (moyenne pondérée), i.e. prédictions d'appartenance à une classe vraies. Ce modèle est donc capable d'identifier des souches de différentes tailles et états d'agrégation. Aucune erreur évidente n'a été trouvée de la part de l'IA, d'ailleurs la performance statistique est évaluée à 95%.

Certaines souches de levure ayant des caractéristiques morphométriques similaires, nous avons levé l'ambiguïté en ajoutant les caractéristiques individuelles d'autofluorescence et de taille (aire en  $\mu\text{m}^2$ ).

Chaque souche est retracée jusqu'à sa propre « signature digitale multiparamétrique » sur la base des caractéristiques identifiées comme étant les plus significatives.

Le modèle d'IA peut être ré-entraîner en ajoutant des souches supplémentaires et des paramètres complémentaires comme des marqueurs fluorescents du type anticorps spécifiques (Bretta Test).

Dans ce travail nous n'avons pas encore abordé les effets de matrices dont certaines altèrent la morphologie ou génèrent des fluorescences parasites. Il servira de support au développement de méthodes de détection spécifiques dans des matrices complexes.

**Mots clés :** Cytométrie en flux - Analyse d'image - Intelligence artificielle - Levures.

**IT-P Innovations technologiques en microbiologie**

IT-P06

**Visual detection of SARS-CoV-2 key mutations**

Julien Gomez-Martinez<sup>1</sup> (julien.gomez@efs.sante.fr), Steven Henry<sup>2</sup>, Edouard Tuillon<sup>1,2</sup>, Philippe Van de Perre<sup>1,2</sup>, Chantal Fournier-Wirth<sup>1</sup>, Vincent Foulongne<sup>1,2</sup>, Jean-Charles Brès<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR1058 Pathogenesis and Control of Chronic and Emerging Infections, Montpellier, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Virologie, Centre Hospitalier Universitaire de Montpellier, Montpellier, France

**Background:**

Identification of the main SARS-CoV-2 variants in real time is of interest to control the virus and to rapidly devise appropriate public health responses. The RT-qPCR is currently considered as the reference method to screen SARS-CoV-2 mutations however the multiplexing capability is limited when number of markers should be increased. Moreover, the performance of this allele-specific method may be impacted in presence of new mutations.

**Material and Methods:**

Herein, we present a proof-of-concept study of a simple molecular VAR-CoV assay to detect SARS-CoV-2 key mutations. The innovative features of the assay are the multiplex asymmetric one-step RT-PCR amplification covering different regions of SARS-CoV-2 S-gene and the visual detection of mutations on a lateral flow DNA microarray. Three kits (kit 1: N501Y, E484K; kit 2: L452R E484K/Q; kit 3: K417N, L452R, E484K/Q/A) were developed to match French Health authorities recommendations for SARS-CoV-2 variants surveillance between January and December 2021.

**Results and Discussion:**

The VAR-CoV assay has a limit of detection (LOD) of 112 N-gene copies/reaction and for S-gene targets, the LOD was 3.5 and 1.75 copies/reaction for wild-type and mutated templates, respectively. The clinical performance was assessed using RNA extracts from 113 SARS-CoV-2 positive samples with Cts<30 and results demonstrated that our assay allows specific and sensitive detection of variants signature mutations, with a performance comparable to that of RT-qPCR.

**Conclusion:**

The VAR-CoV assay detected four SARS-CoV-2 targets and achieved specific and sensitive screening of spike mutations associated with the main variants of concern, with a performance comparable to that of RT-qPCR. With well-defined virus sequences, this assay can be rapidly adapted to other emerging mutations; it is a promising tool for variant surveillance.

*Mots clés* : Molecular diagnostic - SARS-CoV-2 mutations - Lateral flow strip - Visual detection.

**IT-P Innovations technologiques en microbiologie**

IT-P07

**Les valeurs prédictives positives et négatives du Sysmex UF 4000™**

Thomas Gueudet (thomas.gueudet@ch-colmar.fr), Guillaume Gregorowicz, Olivier Augereau, Dominique De Briel

*Laboratoire de microbiologie, Hôpitaux civils de Colmar, Colmar, France*

**Objectif :**

Le Sysmex UF 4000 est un automate de nouvelle génération de cryométrie urinaire. La présence d'un nouveau laser bleu lui permet de détecter la présence de bactéries mais également d'estimer la coloration de Gram de celles-ci. Le but de cette étude est de déterminer la Valeur Prédictive Négative (VPN) et Positive (VPP) d'infection urinaire de l'automate.

**Matériel et méthodes :**

4807 urines de patients ont été analysés sur l'automate. Le compte de bactéries et le gram annoncé par l'automate ont été comparés aux résultats de la culture sur milieu chromogène CPS ID3 et gélose ANC après 24 heures voir 48 heures d'incubation.

**Résultats :**

Du fait de la réalisation préalable d'une analyse par bandelette urinaire dans les services nous avons un biais important pour la détermination de la VPN. Ce biais est accentué par notre recrutement : patients sous chimiothérapie, service de pédiatrie et d'urologie, patients sondés. Au final nous avons 1860 urines déclarées négatives, dont 753 avait une croissance bactérienne sur nos géloses (en moyenne  $10^3$  UFC/ml) n'ayant pas nécessité d'antibiogramme dans la plupart du temps.

La VPP pour la présence de bacille à Gram négatif, en utilisant le seuil de 150 bactéries, est de plus de 95 %, avec une culture monomicrobienne à entérobactérie dans 72% des cas. Le reste étant d'infections à deux germes ou des urines polymicrobiennes.

Lorsque le seuil de bactéries est à 1000 la culture bactérienne est dans 100 % des cas supérieur à  $10^5$  UFC/ml

La VPP pour la présence de présence de Gram positif en utilisant le même seuil n'a pas été concluante. Sur 515 urines annoncées avec des Gram positifs, 281 ont une pousse avec une entérobactérie.

**Conclusions :**

La VPP de la présence de bacille à Gram négatif en culture est excellente et peut apporter un vrai plus dans la mise en place des antibiothérapies probabiliste dans notre hôpital.

La VPP de la présence de germes à gram positif devra être évalué sur un recrutement plus important et en systématisant la prolongation des cultures à 48 heures sous CO<sub>2</sub>.

La VPN n'est pas adapté au recrutement de notre hôpital.

*Mots clés :* VPP - VPN - Sysmex - ECBU.

**IT-P Innovations technologiques en microbiologie**

IT-P08

**Développement d'un système rapporteur pour suivre l'expression génique à l'échelle de la cellule bactérienne au sein d'un écosystème complexe**

Grégory Jubelin (gregory.jubelin@inrae.fr), Maria-Inês Moreira de Gouveia, Julien Daniel, Annie Garrivier, Annick Bernalier-Donadille

MEDIS, INRAe, Saint-Genes-Champagnelle, France

**Introduction :**

Le développement de gènes rapporteurs, notamment ceux codant différentes protéines fluorescentes, a facilité les études de suivi d'expression de gènes d'intérêt chez les bactéries, aussi bien à l'échelle de la population qu'à l'échelle de la cellule unique. Cependant, il existe encore certaines limites telles que le seuil de détection du signal fluorescent ou encore l'analyse en environnement complexe souvent caractérisé par une diversité bactérienne importante. Dans ce contexte, nous avons développé un nouveau système rapporteur fluorescent permettant de suivre l'expression d'un gène d'intérêt, même faiblement exprimé, chez une bactérie dans son environnement naturel.

**Méthodes :**

Le gène codant la T7 polymérase a été inséré sur le chromosome de la souche d'intérêt, en aval du gène dont l'expression veut être suivie. La T7 polymérase ainsi synthétisée va activer un promoteur spécifique contrôlant la transcription du gène *gfp* basé sur un plasmide. Ce système génétique d'amplification du signal permet de mesurer par fluorescence la transcription de promoteurs bactériens même faibles dans leur position native sur le chromosome. Par ailleurs, un autre gène rapporteur codant une protéine fluorescente bleue (BFP) a été placé sur le même plasmide sous le contrôle d'un promoteur constitutif afin de « marquer » notre souche bactérienne d'intérêt et ainsi pouvoir la repérer parmi les autres microorganismes présents dans son écosystème naturel. La fluorescence a été quantifiée par des approches de microscopie, de fluorimétrie et/ou de cytométrie en flux.

**Résultats :**

L'outil a été validé chez la souche commensale d'*Escherichia coli* HS en suivant l'expression de l'opéron *eut* impliqué dans le catabolisme de l'éthanolamine. Nous avons démontré que la souche reportrice répond de façon dose dépendante à la présence d'éthanolamine lors de cultures *in vitro*. La souche a également été distribuée à des souris par voie orale puis une analyse des fèces par cytométrie a permis de spécifiquement quantifier le niveau d'expression de l'opéron *eut* de la souche HS présente au sein du microbiote fécal.

Ce nouvel outil autorise la quantification de l'expression de gènes d'intérêt à l'échelle de la cellule bactérienne dans un environnement complexe, permettant ainsi d'évaluer le comportement des bactéries au sein de leur écosystème naturel.

**Mots clés :** Expression génique - Système rapporteur - Fluorescence - Cytométrie en flux.

**IT-P Innovations technologiques en microbiologie**

IT-P09

**Évaluation de l'IR Biotyper® pour le typage bactérien**

José Bras Cachinho (duartecachinho@gmail.com), Maryam Abid, Lucie Noel, Frédérique Lartigue, Nadège Lepine

Laboratoire de Bactériologie - Trousseau, CHRU Tours, Chambray-lès-Tours, France

**Introduction :**

Le typage des agents infectieux est important pour identifier des clusters lors de l'investigation d'épidémies hospitalières. Une des méthodes de référence est le typage par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) mais cette technique est fastidieuse. Récemment, de nouvelles techniques, plus rapides, ont été développées, comme l'automate IR Biotyper® (Bruker Daltonics, Bremen, Allemagne) qui repose sur une technique de spectrophotométrie infrarouge, avec transformation de Fourier.

Le but de ce travail est d'évaluer les performances de l'automate IR Biotyper® par rapport à l'électrophorèse en champ pulsé afin de déterminer sa place dans la stratégie du typage bactérien en routine.

**Méthodes :**

106 souches ont été analysées. Toutes les souches sélectionnées ont été typées par PFGE (défini comme méthode de référence), avant l'analyse par l'IR Biotyper®. Pour cette dernière, une suspension ethanol/eau a été préparée à partir de cultures de moins de 24h isolées sur gélose au sang, conformément aux recommandations du fabricant. L'absorption a été mesurée en déposant en triplicate chaque souche sur une plaque en silicone.

L'acquisition des spectres repose sur l'absorption dans la zone infra-rouge des polysaccharides (longueur d'onde : 1,300–800 cm<sup>-1</sup>).

**Résultats :**

La répartition des souches analysées est la suivante : 41 entérobactéries [*Klebsiella aerogenes* (n=13), *Klebsiella pneumoniae* (n=20), *Serratia marcescens* (n=8)], 50 staphylocoques [(*Staphylococcus aureus* (n=26), *Staphylococcus epidermidis* (n=24)], *Enterococcus faecium* (n=8) et *Pseudomonas aeruginosa* (n=7).

Au total, nous avons obtenu 83 % de concordance entre le PFGE et l'IR Biotyper. Des discordances ont été observées principalement pour *S. aureus* (6/26) et *K. aerogenes* (7/13), mais aussi pour *S. epidermidis* (2/24), *K. pneumoniae* (2/20) et *P. aeruginosa* (1/7).

**Conclusion :**

La méthode IR Biotyper montre une bonne concordance avec le PFGE. Les faibles coûts d'exploitation et les délais d'exécution courts (3h) font de l'IR Biotyper un outil prometteur pour le typage des souches et l'investigation rapide des épidémies. Cependant, dans notre expérience, il n'a pas permis une discrimination satisfaisante des souches de *S. aureus* et de *K. aerogenes*. Ainsi, d'autres techniques de confirmation peuvent parfois être nécessaires.

**Mots clés :** Typage bactérien - Spectrophotométrie infra-rouge - Électrophorèse en champ pulsé.

**IT-P Innovations technologiques en microbiologie**

IT-P10

**Identification de gènes cibles impliqués dans l'évolution, plus particulièrement du gène *mreB***

Mélanie Magnan (melanie.magnan@inserm.fr), Alaksh Choudhury

U1137 - IAME, INSERM, Université Paris Cité, Paris, France

**Introduction et objectifs :**

Avec l'augmentation de la résistance aux antibiotiques, il est devenu évident que l'évolution microbienne est au cœur des maladies infectieuses.

L'évolution adaptative en laboratoire permet d'identifier des gènes essentiels comme cibles importantes pour l'adaptation. Une fois ces cibles identifiées, une analyse plus fine des effets des mutations sur ces gènes vont nous permettre d'étudier les mécanismes impliqués dans l'adaptation.

**Méthodes et résultats :**

Dans une approche globale, nous identifions les gènes cibles impliqués dans l'adaptation dans un contexte évolutif de souches d'*Escherichia coli* grâce à la méthode de barcoding moléculaire. Cette technique consiste à insérer un barcode de 20pb aléatoire au niveau de la région intergénique d'une souche qui permet de suivre les dynamiques évolutives et l'émergence de sous-clones adaptés en regardant la fréquence d'apparition des barcodes en séquençage à haut débit. L'émergence de ces clones reflète la capacité d'une souche à s'adapter et les gènes cibles pourront ensuite être identifiés par le séquençage du génome complet de ces sous-clones.

Cette identification a permis de mettre en évidence le rôle du gène *mreB* comme une cible impliquée dans l'adaptation. Les mutations dans ce gène ont la particularité de conférer un changement de forme et morphologie à la cellule. Nous avons donc construit une bibliothèque de mutants aléatoires pour ce gène en utilisant l'outil CRISPR/cas9 couplé au système de lambda red recombining. Egalement, nous suivons les cellules uniques par microfluidique, pour associer la mutation du gène *mreB* au changement morphologique de la cellule et ainsi faire une caractérisation phénotypique.

**Discussion :**

Cette technologie permet une approche intégrée pour d'une part, identifier les cibles impliquées dans l'adaptation, d'autre part faire une caractérisation phénotypique des mutants de la cible *mreB* que nous avons identifié. Les modifications morphologiques entraînées par les mutations de ce gène pourraient avoir un rôle dans la résistance aux beta-lactamines car elles ciblent les Penicillin Binding Protein au niveau de la paroi cellulaire et donc aider à la compréhension du mécanisme d'antibio-résistance.

**Mots clés :** Adaptation - CRISPR/Cas9 - Caractérisation phénotypique.

## IT-P Innovations technologiques en microbiologie

IT-P11

**Targeting phenotypic variation by microfluidic single-cell screening to undermine mycobacteria**

Maxime Mistretta<sup>1</sup> (maxime.mistretta@pasteur.fr), Mena Cimino<sup>1</sup>, Christophe Rochais<sup>2</sup>, Patrick Dallemagne<sup>2</sup>, Alban Lepailleur<sup>2</sup>, Olivier Hebert<sup>2</sup>, Yann Ayotte<sup>3</sup>, Steven LaPlante<sup>3</sup>, Pascal Campagne<sup>4</sup>, Steven Volant<sup>4</sup>, Etienne Kornobis<sup>5</sup>, [Giulia Manina](#)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Individualité Microbienne et Infection, Institut Pasteur, Paris, France*

<sup>2</sup> *CERMN, Université de Caen, Caen, France*

<sup>3</sup> *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Laboratory, INRS/Centre Armand-Frappier, Laval, Canada*

<sup>4</sup> *Bioinformatics and Biostatistics Hub, Institut Pasteur, Paris, France*

<sup>5</sup> *Biomics, C2RT, Institut Pasteur, Paris, France*

**Introduction and Objectives:**

Tuberculosis remains a major global health challenge. New therapeutic interventions are urgently needed to combat this infection, especially due to the rise of drug resistant forms. Additionally, both inherent and stress-induced phenotypic variation promotes microbial adaptive strategies that are associated with drug persistence, which in turn contributes to drug resistance. We hypothesized that fine-tuning phenotypic variation might help sensitizing clonal mycobacterial cells to standard anti-tubercular drugs and shortening the duration of tuberculosis therapy. Here, we built on our recent work on mycobacterial persistence, in that cell-to-cell variation in DNA damage response is associated with differential susceptibility to fluoroquinolone treatment. Using our RecA fluorescent reporters of DNA damage response, we aimed to screen for variation-modulating compounds (VMC). A VMC should decrease RecA fluorescence variation, to homogenize single-cell responses, and increase RecA fluorescence, to make the population more susceptible to standard treatment.

**Materials and Methods:**

To this aim, we constructed a multi-condition microfluidic platform, based on a pneumatic operating principle, and used it in conjunction with quantitative time-lapse fluorescence microscopy. With this tool, we could test the effect of sub-inhibitory concentrations of 72 candidate VMC on the dynamics of RecA fluorescence in single mycobacterial cells.

**Results, Discussion and Conclusions:**

We identified four compounds that decrease RecA fluorescence variation and induce its intensity, matching our expectations for a VMC. To characterize the mechanism of action of our hits, we first carried our RNA-seq analysis, not only confirming the induction of DNA repair pathways, but also revealing downregulation of energy and lipid metabolism, and induction of reactive species protection. Next, we isolated spontaneous mutants that were resistant to three hits. All mutants carry a mutation in a gene implicated in inactivation of isoniazid (frontline anti-tubercular drug), cholesterol catabolism and intracellular persistence, and are less susceptible to VMC-induced oxidative stress. Remarkably, our top VMC causes some potentiation of standard anti-tubercular drugs and improves intracellular killing. In conclusion, we report a new concept of targeting the tubercular pathogen that we implemented through the development of a cutting-edge microfluidic technology. Our results confirm that phenotypic variation can suggest original strategies for tackling persistent pathogens.

*Mots clés* : Tuberculosis - Single-cell microbiology - Persistence - Microfluidics - Drug screening.



## IT-P Innovations technologiques en microbiologie

IT-P12

**Label-free and non-destructive Gram-typing on single-cells with photonic crystal**

Pierre Marcoux<sup>1</sup> (pierre.marcoux@cea.fr), Rita Therisod<sup>2</sup>, Manon Tardif<sup>3,4</sup>, Emmanuel Picard<sup>3</sup>, Jean-Baptiste Jager<sup>3</sup>, Emmanuel Hadji<sup>3</sup>, David Peyrade<sup>4</sup>, Romuald Houdré<sup>2</sup>

<sup>1</sup> LETI/DTBS, CEA, Grenoble, France

<sup>2</sup> Institut de Physique, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), Lausanne, Suisse

<sup>3</sup> IRIG/PHELIQS, CEA, Grenoble, France

<sup>4</sup> LTM-Micro and Nanotechnologies for Health, CNRS, Grenoble, France

**Introduction and Objectives:**

Since their initial report, optical tweezers have become the instrument of choice to trap and manipulate a large variety of objects in the nanometer to micrometer scale range, from biomolecules to viruses and even bacteria. In particular, during the last decade, optofluidic systems based on the integration of microfluidic layers with optical resonators arose as suitable structures for optical trapping of biological objects, especially thanks to their ability to trap objects reversibly and with low powers, beneath the damage threshold of biological entities.

Moreover, optical resonators enable both optical trapping and the simultaneous acquisition of information on the trapped object such as size, morphology and refractive index. [1-3] We present here the optical trapping and non-destructive characterization, at the single-cell scale, of bacteria trapped on bidimensional photonic crystals.

**Methods and Results:**

The bacterial species under study were chosen because of differences in morphology, Gram-staining and mobility properties (presence or absence of flagella). Optical trapping experiments were performed on a 2D hollow photonic crystal cavity. For every bacterial species, 10 measurements were performed and the relative transmission obtained during the trapping events was plotted with respect to the empty cavity one for better comparison. In particular, Gram type distinction was achieved by the analysis of the mean transmitted value in presence of trapped bacteria.

**Conclusion:**

We report Gram-type determination of optically trapped bacteria, above a 2D hollow photonic crystal cavity. The small amount of suspension required, together with the rapidity of a simple transmission measurement (few seconds are sufficient), make this technique a promising tool for fast, label-free, and non-destructive Gram-typing at the single-cell scale.

**Mots clés :** Gram-typing - Optical trapping - Single-cell characterization - Photonic crystal - Refractive index.

**Références :**

1. Tardif M, Jager J-B, Marcoux PR, Uchiyamada K, Picard E, Hadji E, et al. 2016. Single-cell bacterium identification with a SOI optical microcavity. *Applied Physics Letters*. 109(13):133510.
2. Therisod R, Tardif M, Marcoux PR, Picard E, Jager JB, Hadji E, et al. 2018. *Applied Physics Letters*. 113(11):111101.
3. Tardif M, Picard E, Gaude V, Jager JB, Peyrade D, Hadji E, et al. 2022. On-Chip Optical Nano-Tweezers for Culture-Less Fast Bacterial Viability Assessment. *Small*. 18(4):2103765.

**IT-P Innovations technologiques en microbiologie**

IT-P13

**Développement d'un test moléculaire simple, rapide et sans automate pour améliorer la prévention de la transmission verticale du Virus de l'Hépatite B**

Charly Mayran (Charly.Mayran@efs.sante.fr), Vincent Foulongne, Philippe Van de Perre, Chantal Fournier, Jean-Pierre Molès, Jean-François Cantaloube

UMR 1058 Pathogénèse et Contrôle des Infections Chroniques et Emergentes, Montpellier, France

**Introduction et objectifs :**

La transmission verticale représente un des modes majeurs de contamination par le virus de l'hépatite B (VHB), notamment dans les pays à ressources limitées. Malgré l'existence d'une immunoprophylaxie efficace du nouveau-né dès sa naissance, cette stratégie préventive trouve ses limites lorsque les mères présentent des charges virales élevées supérieures à  $2 \cdot 10^5$  UI/mL. Afin de prévenir cette transmission, les sociétés d'hépatologie européenne et américaine recommandent de diagnostiquer ces charges virales supérieures à ce seuil, afin d'initier alors un traitement pour contrôler la virémie. Le but de ce projet est de développer une approche moléculaire simple de triage pour détecter des charges virales élevées dans le plasma et identifier ainsi les femmes enceintes éligibles à un traitement.

**Matériels et méthodes :**

Cette approche inclue une extraction rapide des génomes dans une résine de chelex-100 à 5%, d'une amplification isotherme rapide de l'ADN VHB et d'un contrôle interne à 37°C selon la méthode RPA (recombinase polymérase amplification) et une détection sur simple bandelette par immunochromatographie. La sensibilité de cette approche est de  $1,17 \cdot 10^4$  UI/mL. Les conditions analytiques ont alors été ajustées pour obtenir une positivité au seuil de  $2 \cdot 10^5$  UI/mL et ainsi de proposer un test de dépistage en adéquation avec le seuil décision interventionnel. Les tests ont été conduits dans un premier temps sur des échantillons de plasma positifs pour le VHB issus de donneurs de sang présentant des charges virales et des génotypes variés.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'analyse de 89 échantillons de plasma positifs VHB et de 19 échantillons négatifs montre au seuil de  $2 \cdot 10^5$  UI/mL une sensibilité et une spécificité de 98,7% (95% IC:92,7–99,9%) et de 88,2% (95% IC:73,4–95,3%), respectivement, et une valeur d'aire sous la courbe ROC de 0,99 (95% IC:0,99–1.00,  $p < 0,001$ ) attestant d'une très bonne performance. Cette nouvelle approche simple et rapide (1 heure), ne nécessite pas d'automate et ouvre de nouvelles perspectives dans le développement d'un test moléculaire "point of care" pour améliorer la prévention de la transmission de la mère à l'enfant du VHB dans les pays à ressources limitées.

*Mots clés :* Virus de l'hépatite B - Dépistage - Transmission verticale - Amplification isotherme - Test rapide.

**IT-P Innovations technologiques en microbiologie**

IT-P14

**Development of an automatic method for *Borrelia burgdorferi* growth measurements**

Damien Potheret (damien.potheret@unimes.fr), Axelle Cadière, Patrizia Giannoni

UPR Chrome, Université de Nîmes, Nîmes, France

**Introduction and Objectives:**

*Borrelia* (or *Borrelia*) *burgdorferi* (Bb) is the causative agent of Lyme disease. Although several studies have been developed on this organism, many questions remain unanswered concerning its physiology and pathogenicity. Indeed, the culture of Bb presents several difficulties. For example, the gold standard method to follow bacterial growth is nowadays microscopy through the use of a Petroff Hausser counting chamber, which is time consuming and shows a certain variability. With this study, we propose an alternative method, more rapid and automatic, which represents an improvement that can contribute to rapidly advance the research in the field.

**Materials and Methods:**

Different methods are actually available for monitoring bacterial growth but only some of them can be applied to Bb. For example, the Bb culture media is not compatible with the use of the optical density measure. For this reason, microscopy is the golden standard, but it shows several limitations. Microscopic enumeration is time-consuming and demands trained experimenters in order to be reproducible.

We propose the use of the "Coulter Counter" particle counter to monitor the growth of *Borrelia burgdorferi* *in vitro*. We performed the counting of bacteria with the two methods over a period of 200 hours and present the comparison of the different growth curves.

**Results, Discussion and Conclusion:**

The comparison of the two enumeration methods shows that the "Coulter Counter" allows a greater homogeneity than the Petroff Hausser counting chamber. This brings also to a higher reproducibility and allows the preparation of more homogenous inoculum.

Furthermore, the "Coulter Counter" method is remarkably faster, which gives the possibility of increasing the number of samples (or replicates) for each experiment.

*Mots clés* : *Borrelia burgdorferi* - Bacterial growth - Coulter Counter - Microscopy.

## M-P Microbiote

M-P01

Microbiote

**Impact d'une désescalade antibiotique, piperacilline-tazobactam vers ceftriaxone sur le microbiote intestinal**Yasmine Benhadid Brahmi (yas.benhadid@gmail.com)

1137, INSERM, Paris, France

**Contexte et objectif :**

La perturbation quantitative/qualitative du microbiote intestinal (MI) est à l'origine de «dysbiose», qui serait associée au développement de pathologies diverses. De nombreuses études s'intéressent à l'impact des thérapeutiques antibiotiques sur le MI mais celles-ci sont difficiles à conduire du fait de nombreuses contraintes et notamment éthiques. Le MiniBioReactor Array (MBRA) qui est un système de culture de microbiote *in vitro* est particulièrement bien adapté à ce genre d'étude. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'impact de 2 types de traitements antibiotiques sur le MI *in vitro*.

**Matériel et méthodes :**

Nous avons mimé un protocole de désescalade antibiotique en étudiant l'impact de la pipéracilline-tazobactam (large spectre) et de la ceftriaxone (spectre plus restreint) en monothérapie ou en thérapie séquentielle sur le MI de deux donneurs sains en utilisant le modèle MBRA. Celui-ci est constitué de 24 chambres de culture en flux continu, maintenues en anaérobiose. Le séquençage par métagénomique 16S a permis d'analyser la richesse microbienne, la diversité et les changements taxonomiques au cours du temps sous l'influence des thérapeutiques.

**Résultats et discussion :**

Le modèle MBRA a permis de mettre en évidence une réponse microbiote et donc donneur dépendante en réponse aux antibiotiques. Une piste explicative pourrait être une activité bêta- lactamase intrinsèque au MI différente entre les donneurs. Cette activité bêtalactamase pourrait également permettre un retour à l'état basal du MI (résilience) plus rapide associée à une meilleure résistance à la colonisation par des bactéries exogènes.

**Conclusion et perspectives :**

Les résultats de ces études confirment la pertinence du modèle MBRA pour étudier les interactions antibiotiques-microbiote. Les différences entre les deux donneurs permettent de mettre en avant une réponse hôte-dépendante et molécule dépendante, tant sur la diversité que sur la résistance à la colonisation, ouvrant la réflexion vers la médecine personnalisée.

**Mots clés :** Microbiote intestinal - MBRA - Dysbiose - Piperacilline-tazobactam - Ceftriaxone.

## M-P Microbiote

M-P02

Microbiote

**Exploration des interactions entre des prébiotiques et un panel de bactéries d'intérêt pour la santé du microbiote intestinal**

Paul Biscarrat<sup>1</sup> (paul.biscarrat@inrae.fr), Cassandre Bedu-Ferrari<sup>1,2</sup>, Aya Jaaidi<sup>1</sup>, Frédéric Pepke<sup>1</sup>, Philippe Langella<sup>1</sup>, Claire Cherbuy<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Micalis équipe ProbiHôte, INRAE, Jouy-en-Josas, France

<sup>2</sup> Yoplait France - General Mills, Vienne Technical Center, France

**Introduction et objectifs :**

Le microbiote intestinal est un écosystème complexe qui joue un rôle fondamental dans diverses fonctions biologiques et contribue de manière significative à la digestion. Les prébiotiques sont définis comme substrats d'origine alimentaire qui modulent la composition et/ ou l'activité du microbiote intestinal, et confèrent ainsi des effets bénéfiques pour la santé de l'hôte. Une supplémentation nutritionnelle en prébiotiques constitue ainsi une des stratégies prometteuses pour restaurer et/ou maintenir l'équilibre des communautés microbiennes. L'objectif de cette étude est d'explorer les interactions entre des bactéries d'intérêt santé et deux sucres complexes : l'inuline, prébiotique modèle et le raffinose, issu des légumineuses.

**Matériels et méthodes :**

Nous avons sélectionné 15 bactéries représentatives d'un microbiote intestinal adulte et associées positivement à la santé de l'hôte. Ces bactéries ont été mises en culture en présence des deux sucres étudiés (inuline et raffinose) à raison de 0,5%. Après 24 h de culture nous avons mesuré les paramètres suivants : la croissance par mesure de densité optique et par qPCR en système spécifique ; l'activité de fermentation par pH-métrie et dosage des Acides Gras à Chaines Courtes (AGCC) en Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG). Pour caractériser les mécanismes sous-jacents à la dégradation des sucres complexes par les bactéries sélectionnées, nous avons réalisé une étude transcriptomique par séquençage RNA-seq.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nous avons pu mettre en évidence des préférences nutritionnelles des bactéries en fonction du type de sucre. Les espèces bactériennes appartenant au *phylum* des *Bacteroidetes* et des *Actinobacteria* sont capables de dégrader l'inuline et le raffinose. Cette dégradation conduit à la production d'acétate et de propionate (uniquement pour les *Bacteroidetes*). La réponse des espèces bactériennes appartenant aux *Firmicutes* est plus diversifiée avec des espèces bactériennes capables de dégrader ces deux sucres et des espèces dont la croissance n'est pas stimulée. La fermentation des sucres par ces espèces conduit à la production de butyrate. L'analyse transcriptomique nous a permis d'identifier des clusters de gènes spécifiquement exprimés pour dégrader chacun des sucres complexes permettant de mieux comprendre les interactions moléculaires entre bactéries santé et prébiotiques.

**Mots clés :** Prébiotiques - Polysaccharides complexes - Microbiote intestinal - Métabolisme bactérien.

## M-P Microbiote

M-P03

Microbiote

**Genetic and phenotypic identification of the metabolic features of nasal commensals in *Staphylococcus aureus*-positive and –negative bacterial communities**

Laura Camus<sup>1,2</sup> (laura.camus@uni-tuebingen.de), Jeffrey John Power<sup>1</sup>, Katharina Wesner<sup>1</sup>, Alina Bitzer<sup>1</sup>, Anna Lange<sup>1</sup>, Simon Heilbronner<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Infection Biology, Interfaculty Institute of Microbiology and Infection Medicine (IMIT), Tübingen, Germany

<sup>2</sup> Cluster of Excellence EXC2124 Controlling Microbes to Fight Infections (CMFI), Tübingen, Germany

<sup>3</sup> German Centre for Infection Research (DZIF), Tübingen, Germany

**Introduction:**

The asymptomatic nasal carriage of *Staphylococcus aureus* increases the risk of infection, urging the identification of the factors that enable *S. aureus* to colonize the nasal cavities. In this context, the role of the resident microbiota in creating a favourable or hostile nutritional milieu for *S. aureus* has long been neglected. This project aims to identify the main nutritional interactions between nasal commensals and their impact on *S. aureus* physiology. We present here the first step of the project, consisting in the identification of the metabolic potential of nasal bacterial communities.

**Methods:**

291 bacterial isolates were cultivated from the nostrils of 11 volunteers. Assays on solid and liquid medium were performed to assess their ability to metabolize various molecules that are present in the nasal environment: proteins (heme, haemoglobin, mucins), lipids (triolein, stearic acid, cholesterol), exogenous DNA and putrescine. In parallel, the genomes of the bacterial isolates as well as the nasal metagenome of each volunteer were analysed using 16S, Illumina and Nanopore sequencing. The presence of relevant metabolic pathways was inferred from the analysis of nasal bacterial genomes and metagenomes.

**Results and Discussion:**

Isolation on plates and 16S analysis highlighted (i) consistent community structures between the two approaches, (ii) a fraction of cultivable species comprising 43 to 98% of the total nasal communities depending on volunteers and (iii) the presence of 3 *S. aureus* nasal carriers among the 11 volunteers. The first results of the metabolic screening show that DNase and lipolysis activities are well conserved among *S. aureus* isolates, suggesting an importance of these pathways for nasal colonization. In contrast, the tested metabolic potential of *S. epidermidis* isolates is highly diverse between and within volunteers, and that of *Corynebacterium* spp very low. Illumina and Nanopore sequencing analysis will reveal the degree of conservation of interest pathways among nasal strains. Co-culture experiments will unravel hub nasal commensals and metabolic activities as well as the responses of nasal *S. aureus*. The identification of the nasal species and nutritional mechanisms that restrict *S. aureus* proliferation will pave the way for the development of strategies to prevent *S. aureus* nasal colonization.

**Mots clés :** Nasal microbiota - *Staphylococcus aureus* - Nutritional interactions - Metabolism.

## M-P Microbiote

M-P04

Microbiote

**In silico study of cell surface structures of *Parabacteroides distasonis* involved in its maintain within the gut microbiota and its potential pathogenicity**

Jordan Chamarande<sup>1</sup> (jordan.chamarande@univ-lorraine.fr), Lisiane Cunat<sup>1</sup>, Corentine Alauzer<sup>1,2</sup>, Catherine Cailliez-Grimal<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Stress, Immunité, Pathogènes, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

<sup>2</sup> Service de microbiologie, CHRU de Nancy, Nancy, France

**Introduction and Objectives:**

Gut microbiota (GM) is now considered as a new organ mainly due to the microorganism's specific biochemical interaction with their host. Although mechanisms underlying host-microbiota interactions are not fully described, it is now well-defined that cell surface molecules and structures of the GM play a key role in such relation. The study of surface structures of GM members is also fundamental for their role in the establishment of species in the versatile and competitive environment of the digestive tract and as potential virulence factor. Among these structures are capsular polysaccharide (CPS), fimbriae, pili and lipopolysaccharides (LPS), all well-described for their central role in microorganism colonization and communication with host epithelium. The health-promoting *Parabacteroides distasonis*, that is part of the core microbiome, has recently received a lot of attention showing beneficial properties for its host and as new potential biotherapeutic product. However, to the best of the authors' knowledge, the cell surface molecules and structures of *P. distasonis* that allow its maintain within the GM are not identified. Moreover, although *P. distasonis* is strongly recognized as intestinal commensal species with benefits for its host, it has been also recognized as an opportunistic pathogen.

**Materials and Methods:**

In order to better understand *P. distasonis* behavior and maintain within the GM, comparative genomics analysis, including inter alia, syntenic analysis or BLAST have been performed and the new *rfaA*-type classification have been applied on 26 distinct *P. distasonis* genomes.

**Results, Discussion and Conclusion:**

In this study, 2 different types of fimbriae, 3 of pilus and up to 14 capsular polysaccharide loci have been identified over the 26 genomes studied. Moreover, the addition of data to the *rfaA*-Type classification modified the outcome by rearranging *rfaA* genes and adding a fifth group to the classification. In conclusion, the strain variability in terms of external proteinaceous structure could explain the inter-strain differences previously observed of *P. distasonis* adhesion capacities and its potential pathogenicity.

**Mots clés :** Gut microbiota - *Parabacteroides distasonis* - Pathogenicity - Probiotic - Comparative genomics.

## M-P Microbiote

M-P05

Microbiote

**Influence de la composition du microbiote vaginal sur l'évolution des ruptures prématurées des membranes**Maëli Constant (m-constant@chu-montpellier.fr), Lucas Bonzon, Sylvain Godreuil

Laboratoire de bactériologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France

**Introduction et objectifs :**

De la puberté à la ménopause, le microbiote vaginal est composé de plus de 70 % de *Lactobacillus sp* ou flore de Döderlein. A cette flore dominante vient s'ajouter des bactéries d'origine périnéale, pour la plupart des bactéries anaérobies, et parfois des bactéries de la flore oropharyngée.

Une étude basée sur le séquençage de l'ARN 16s a montré qu'il existe 5 grands types de microbiote vaginal chez la femme en âge de procréer, appelés « Community state type » (CST ou cervicotypes) (1). Quatre d'entre eux sont dominés par une espèce de *Lactobacillus*, alors qu'un autre est composé d'un mélange polymicrobien de germes mais ne contient pas de *Lactobacillus* de façon significative.

Plusieurs études montrent que les microbiotes dominés par *Lactobacillus crispatus* sont les plus stables. A l'inverse, les microbiotes dominés par *Lactobacillus iners* sont moins stables et le plus souvent associés à un état de dysbiose (2) (3).

Notre étude consiste à mettre en évidence un potentiel lien entre la composition de la flore vaginale chez la femme enceinte et l'évolution des ruptures prématurées des membranes (RPM).

**Matériels et méthodes :**

Les données ont été recueillies sur une période de 6 mois. Nous nous sommes intéressés aux femmes enceintes ayant eu une RPM. Pour chaque patiente, un prélèvement vaginal a été analysé au laboratoire de bactériologie (examen direct et culture bactériologique). L'identification au Maldi-tof des différents genres bactériens retrouvés nous a permis de déduire le cervicotype pour chacune d'elle.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Sur les 49 patientes étudiées, seulement une a accouché à terme ( $\geq 37$  semaines d'aménorrhée). Le délai entre la RPM et l'accouchement est significativement plus élevé pour les cervicotypes dominés par *Lactobacillus crispatus* (CST-I) et *Lactobacillus gasseri* (CST-II). Chez les patientes ayant un CST-I, la proportion d'accouchements par voie basse semble significativement supérieure par rapport aux autres cervicotypes où la césarienne est prédominante. Ces résultats pourraient être utilisés par les cliniciens pour prédire l'évolution de leurs patientes en RPM.

**Mots clés :** Microbiote vaginal - Cervicotype - Rupture prématurée des membranes.

## Références :

1. Smith SB, Ravel J., 15 janv 2017, The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. *J Physiol.*;595(2):45163
2. Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schütte UME, Zhong X, et al., 2 mai 2012, Temporal Dynamics of the Human Vaginal Microbiota. *Sci Transl Med.*;4(132):132ra52.
3. Ravel J, Brotman RM, Gajer P, Ma B, Nandy M, Fadrosh DW, et al., 2 déc 2013, Daily temporal dynamics of vaginal microbiota before, during and after episodes of bacterial vaginosis. *Microbiome.*;1:29.



## M-P Microbiote

M-P06

Microbiote

**Chronic exposure to antiseizure drugs impacts the gut microbiota community and function**Camille Dop<sup>1</sup> (camille.dop@inrae.fr), Stephane Auvin<sup>2,3</sup>, Patricia Lepage<sup>1</sup>, Zehra Esra Ilhan<sup>1</sup><sup>1</sup> MICALIS Institute, INRAE, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France<sup>2</sup> Pediatric Neurology Department, APHP, Robert Debré University Hospital, Paris, France<sup>3</sup> NeuroDiderot, INSERM, Paris, France**Introduction and Goals:**

During the first 3 years of life, the gut microbiome gradually matures as it influences host health. Diet and medications are major factors affecting the microbiota composition and exposure to xenobiotics can result in gut microbial dysbiosis. While the impact of some xenobiotics, such as antibiotics, on the gut microbiome is widely recognized, the influence of chronically administered host-targeted drugs on the gut microbiome is less known. Our goal was to explore *in vitro* effects of chronic exposure to three antiseizure drugs (carbamazepine, valproate, and levetiracetam) on the gut microbial composition and metabolic functions.

**Materials and Methods:**

Microbial microcosms were established by cultivating four fecal inoculums from young children (11 months to 4 yo) over 24 hours. Using a semi-batch process, these fecal-derived microcosms were cultivated for 11 cycles (24 hours each) with the three antiseizure drugs or drug-free controls; the first 7 cycles with daily transfer to fresh media containing 2mM of the drugs, followed by 4 cycles of potential recovery period without any drugs. The impact of this exposure on the microbial community dynamics (diversity and composition) was determined by 16S rRNA gene sequencing of cycle 1 and 7 cultures. Metabolism of the microbial community after cycle 1 and 7 of exposure to carbamazepine was evaluated by a non-targeted metabolomics approach (LC-MS).

**Results, Conclusion and Discussion:**

Our results show that, out of 3 antiseizure drugs, carbamazepine had the strongest impact on the gut microbiota structure and metabolism. More specifically, carbamazepine exposure influenced the relative abundance of six genus-level phylotypes. We also observed that the 4 recovery cycles led the microbial community to appear more similar to the initial fecal-derived microcosms. After 7 cycles of exposition to carbamazepine, metabolites such as dicarboxylic acid and dipeptides were decreased. Moreover, carbamazepine was biotransformed to secondary metabolites by all 4 fecal-derived microcosms.

Chronic exposure to carbamazepine might affect the gut microbiome dynamics and key metabolic functions. Understanding how the antiseizure drugs change the gut microbiota can help develop strategies, to modulate the response of the microbiota after treatment to mitigate the consequences for the host.

*Mots clés* : Antiepileptic - Microbiota - Metabolism - Biodiversity.

## M-P Microbiote

M-P07

Microbiote

**Protective effects of dairy Propionibacteria on the intestinal epithelial barrier**

Marine Mantel<sup>1</sup> (marine.mantel.mm@gmail.com), Ségolène Pernet<sup>1</sup>, Julie Beaudeau<sup>1</sup>, Tony Durand<sup>1</sup>, Nassima Illikoud<sup>1</sup>, Nicolas Cénac<sup>2</sup>, Michel Neunlist<sup>1</sup>, Gwénaél Jan<sup>3</sup>, Malvyne Rolli-Derkinderen<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U1235 TENS INSERM, Nantes, France

<sup>2</sup> UMR 1220 Inserm IRSD, Toulouse, France

<sup>3</sup> UMR STLO INRAe, Rennes, France

**Introduction:**

Intestinal epithelial barrier (IEB) integrity plays a central role in the pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD). There is a growing interest in dietary compounds that can strengthen IEB. First, candidate strains of dairy propionic bacteria such as *Propionibacterium freudenreichii* are able to reduce inflammation and improve barrier strength. Knowing that certain products of omega-6 polyunsaturated fatty acid (n-6 PUFA) metabolism also reinforce IEB, and that bacteria can modulate the bioavailability of host lipid compounds, this project aims to identify strains of *P. freudenreichii* that could protect against colitis by strengthening IEB and increasing the bioavailability of certain n-6 PUFA.

**Methods:**

Ascreening of thirty-three strains of *P. freudenreichii* was performed based on the following criteria: 1) characterization of the ability to induce production of anti-inflammatory cytokines (IL-10) by stimulation of human PBMCs 2) identification of surface proteins (S-layer protein) responsible for anti-inflammatory properties 3) measurement of their ability to increase the bioavailability of certain n-6 PUFAs, such as conjugated linoleic acids (CLAs). The ability of the selected fermented products to prevent the inflammation-induced increase in permeability of an IEB was then studied.

**Results:**

All strains are able to induce IL-10 production and release CLAs. Ten strains show an anti-inflammatory S-layer profile. Some fermented products significantly prevent the inflammation-induced increase in permeability, and may involve surface proteins and bioactive lipids.

**Discussion:**

These results will allow the selection of strains with anti-inflammatory as well as pro-repair potential to be tested *in vivo* to reduce colitis, with or without n-6 PUFA supplementation.

**Mots clés :** Inflammatory bowel disease - Dairy propionibacteria - n-6 polyunsaturated fatty acids - Intestinal epithelial barrier.

**M-P Microbiote**

M-P08

Microbiote

**Diversity of ethanolamine utilization by commensal *Escherichia coli***

Maria Inês Moreira de Gouveia (maria-ines.moreira-de-gouveia@inrae.fr), Julien Daniel, Annie Garrivier, Annick Bernalier-Donadille, Grégory Jubelin

UMR 454 MEDiS, INRAe, Saint-Gènes-Champagnelle, France

Ethanolamine (EA) is a substrate found in abundance in the human gastrointestinal tract as it is released from membranes of desquamated epithelial cells. In the literature, EA has been largely described as a nutrient used by several bacterial pathogens to gain a competitive advantage over the gut microbiota and to establish infection. However, few studies described the capacity of gut commensals to utilize EA. Our work evaluated the ability of 40 *Escherichia coli* strains isolated from fecal samples of healthy individuals to catabolize EA. Whereas 5 strains cannot grow with EA as a sole nitrogen or carbon source in minimal media, 32 isolates were able to use EA as a nitrogen source and 3 were able to use EA both as nitrogen and carbon sources. We then selected strains representative of each profile, and performed genomic analysis of the *eut* operon required for EA utilization and analyzed *eut* gene expression by qRT-PCR. The inability of isolates to use EA was explained either by a phage insertion within the *eut* locus, SNPs leading to premature stop codons, or by a defect in *eut* gene transcription in presence of EA. Finally, we demonstrated by competition assays the importance of EA utilization for an optimal fitness of commensal *E. coli in vivo*. Our study provides new insights on the diversity of commensal *E. coli* strains to utilize EA as a nutrient in the gut and opens the way for new research in the field of interactions between host, gut microbiota and pathogens.

**Mots clés :** Ethanolamine - Eut operon - Human gut - Commensal *E. coli* - Nutritional competition.

## M-P Microbiote

M-P09

Microbiote

**Impact of dietary fibres combined with a fibre-degrading probiotic candidate on ex-vivo dysbiotic gut model**

Serigne Inssa Ngom<sup>1</sup> (serigne-inssa.ngom@inrae.fr), Soufiane Maski<sup>2</sup>, Bahia Rached<sup>3</sup>, Taha Chouati<sup>3</sup>, Lydie Oliveira Correia<sup>4</sup>, Catherine Juste<sup>1</sup>, Elmostapha El Fahime<sup>5</sup>, Mohamed Amar<sup>2,3</sup>, Christel Béra-Maillet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Micalis Institute, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Jouy-en-josas, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, Maroc

<sup>3</sup> Collections Coordonnées Marocaines de Microorganismes, Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, Maroc

<sup>4</sup> Micalis Institute, PAPPSO, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Jouy-en-josas, France

<sup>5</sup> Plateforme de biologie moléculaire et de Génomique Fonctionnelle, Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, Maroc

**Introduction:**

Trillions of bacteria colonize our gastrointestinal tract and maintain a symbiotic relationship with the host. Disturbance in the balance of intestinal microbiota-host interactions plays a role in the onset of several metabolic diseases. The microbiota composition is influenced by our diet, particularly dietary fibres found in human food like fruits, vegetables, legumes, and cereals (Sonnenburg & Bäckhed, 2016).

Unlike the human genome, the gut microbiota has a large repertoire of CAZymes capable of breaking down complex dietary carbohydrates into sugars fermented by bacteria which thus produce short-chain fatty acids (SCFA). Inflammatory bowel disorders are sometimes associated with impaired production of SCFA and depletion of fibre-degrading-SCFA-producing bacterial members (Zhao et al., 2018). Modulation of the gut microbiota through fibre-degrading probiotics is a promising approach to restore gut homeostasis.

The main objective of this work was i) to assess the fibrolytic activities of different *Bacillus* strains and, *in fine* propose candidate fibre-degrading probiotics; ii) to evaluate the impact of diversified complex purified fibers and/or a fibrolytic probiotic on the composition and abundance of intestinal bacteria and the end-products of fermentation.

**Material and Methods:**

Functional screening of *Bacillus* strains from the Coordinated Collection of Moroccan Microorganisms (CCMM) for dietary fibre degradation activities was performed using a minimal medium with complex purified fibres as the only carbon source. Enzymatic activities were quantified using the reducing sugars method. Fecal bacteria from obese donors were cultivated in fermenters supplemented with various complex purified fibres representative of dietary fibres. Short chain fatty acids (SCFAs) were quantified by gaz chromatography. Their composition of the intestinal bacteria was investigated using shotgun metagenomics.

**Results and Discussion:**

Nine of 40 *Bacillus* strains showed multiple Glycoside Hydrolase (GH) activities quantified in pure cultures with different dietary fibres. A cartography of the genes encoding putative GHs established from the *Bacillus* genome revealed strain-dependent enzymatic systems.

Genomic predictions and proteomic analyses highlighted the fibre degradation potential for several strains proposed as candidate fibre-degrading probiotics. The ability of DF and DF/Probiotic to restore the gut bacteria equilibrium was characterized by the abundance of fibre-degrading-SCFA-producing bacterial members and SCFA production, and discussed.

**Mots clés :** Dietary fibers - Probiotics fibrolytics - Gut microbiota - CAZymes - Bacillus.

**Références :**

1. Sonnenburg, J. L., & Bäckhed, F. (2016). Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature*, 535(7610), 56–64.
  2. Sonnenburg, J. L., & Bäckhed, F. (2016). Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature*, 535(7610), 56–64. <https://doi.org/10.1038/NATURE18846>
- Zhao, L., Zhang, F., Ding, X., Wu, G., Lam, Y. Y., Wang, X., Fu, H., Xue, X., Lu, C., Ma, J., Yu, L., Xu, C., Ren, Z., Xu, Y., Xu, S., Shen, H., Zhu, X., Shi, Y., Shen, Q., ... Zhang, C. (2018). Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science*, 359(6380), 1151–1156.

## M-P Microbiote

M-P10

Microbiote

**Early intestinal transit in preterm infants is associated with microbiome functional signatures at 1 month of age**

Constance Patin<sup>1</sup> (constance.patin@inrae.fr), Karine Le roux<sup>1</sup>, Jean-christophe Roze<sup>2</sup>, Marie-José Butel<sup>3,4</sup>, Pierre-Yves Ancel<sup>4,5</sup>, Patricia Lepage<sup>1</sup>

<sup>1</sup> MICALIS, INRAE, Université Paris-Saclay, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

<sup>2</sup> Neonatal Department, INSERM-CHU Clinical Investigation Center 1413, UMR-INRA1280, Université de Nantes, Nantes, France

<sup>3</sup> UMR-S INSERM U1139, 3PHM, Université de Pharmacie de Paris, Paris, France

<sup>4</sup> FHU PREMA « Fighting prematurity », Paris, France

<sup>5</sup> Center for Epidemiology and Statistics/CRESS U1153/EPOPé Team, Université de Paris Cité, Paris, France

**Introduction:**

Slower intestinal transit has been observed in preterm infants which may be associated with delay in enteral feeding in these neonates and health consequences. We previously reported the existence of six specific microbial profiles (i.e. enterotypes) in the gut microbiome of very preterms and established a robust link between belonging to these enterotypes and the infants clinical and neurodevelopmental outcome [1]. Microbial functions associated with these outcomes has not been studied so far. The objective of the present work is to evaluate a potential association between intestinal transit and gut microbiome in very-preterm infants.

**Material and Methods:**

Very preterm infants (median gestational age = 28 weeks; n=60) were selected from the EPIPAGE2 French national cohort with more than 40 clinical variables referenced including regular ( $\geq 1$  stool each day after the first stool in the first week of life; n=31) or irregular (n=29) intestinal transit in these children. Fecal samples at 1 month of age were analyzed for microbiome composition, diversity (via 16S rRNA gene sequencing) and metabolomes (global approach via LC/MS) and compared between regular and irregular transit groups.

**Results, Discussion and Conclusion:**

Overall microbial composition and diversity did not differ between both intestinal transit groups yet several species were significantly more abundant in children with regular transit than in irregular transit. These OTUs related to Enterobacteriaceae and *Clostridium neonatale*. Overall 1,040 metabolites were detected and 856 were annotated. Fifty metabolites significantly differed between infants with regular and irregular intestinal transit. Main affected metabolic pathways related to amino acid metabolism (higher in the regular transit group; padj=2.52e-11) and carbohydrate metabolism (higher in the irregular transit group; padj=7.6e-03). At 1 month of age, the microbiome of very preterm infants may still present hallmarks of early intestinal transit defect. How this relates with other variables such as nutrition is under investigation.

**Mots clés :** Gut microbiota - Transit - Preterm.

**Références :**

1. Rozé, J. C., Ancel, P. Y., Marchand-Martin, L., Rousseau, C., Montassier, E., Monot, C., et al. 2020. Assessment of Neonatal Intensive Care Unit Practices and Preterm Newborn Gut Microbiota and 2-Year Neurodevelopmental Outcomes. JAMA network open, 3(9).

## M-P Microbiote

M-P11

Microbiote

**Sialic acid metabolism and interactions in the vaginal microbiota**Marie Vasse<sup>1</sup> (marie.vasse@ird.fr), Nicola Mayrhofer<sup>2</sup>, Remy Froissart<sup>1</sup>, Sylvain Godreuil<sup>3</sup>, Ignacio Bravo<sup>1</sup><sup>1</sup> CNRS, Montpellier, France<sup>2</sup> ETH, Zurich, Suisse<sup>3</sup> CHU, Montpellier, France

Bacterial vaginosis (BV) is a polymicrobial syndrome that modifies vaginal secretions and increases risks of reproductive complications and most sexually transmissible infections. This syndrome is associated with a shift in vaginal microbiota composition from lactic-acid producing bacteria to specific bacterial communities. Concomitant with such shift, sialidases can be detected in vaginal secretions where they release sialic acids (SA), sugar molecules that some bacteria can use as a nutrient source and to escape host's immunity. While the presence of sialidases is used as a BV diagnosis method, we still know little about SA metabolism in the species associated with BV, and even less about SA-related interactions in the community. Using clinical isolates, we investigated the genetic and functional diversity of SA metabolism and associated intra- and interspecific interactions among the three most prevalent BV-associated bacteria: *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia* and *Atopobium vaginae*. We characterized the presence and diversity of genes associated with sialidase activity in the clinical strain collection and assessed sialidase activity of bacterial cultures from growth on a spatially structured medium. We found a great diversity of sialidase activity levels both within and between species, including in *P. bivia* for which no data were previously available to the best of our knowledge. Preliminary analyses showed that sialidase activity in cocultures can strongly diverge from expectations based on monoculture data, supporting the hypothesis that interactions likely play a key role in SA-related bacterial functions.

*Mots clés* : Vaginal microbiota - Metabolism - Diversity - Function - Interactions.

## MA-P Microbiologie des aliments

MA-P01

**Diversité phénotypique et capacité bioprotectrice de *Metschnikowia* sp. en œnologie**

Julie Aragno (julie.aragno@inrae.fr), Carole Camarasa, Audrey Bloem

UMR SPO, INRAe, Montpellier, France

**Introduction et objectifs :**

La flore microbienne positive mais aussi la flore négative peuvent se développer à tous les stades de l'élaboration des vins. Les risques d'altération microbienne sont accrus entre la récolte et le démarrage de la fermentation, d'autant plus dans un contexte de réduction des intrants comme le SO<sub>2</sub>. Pour préserver la qualité des moûts, il est apparu que la bioprotection pouvait être une alternative durable au sulfitage. Cette pratique consiste à utiliser des microorganismes bioprotecteurs pour inhiber la croissance des flores contaminantes des moûts. Toutefois, la connaissance sur cette pratique reste empirique, ce qui peut limiter son efficacité. Ce projet vise donc à aborder de façon systémique la bioprotection des moûts de raisin par *Metschnikowia*. Il s'agira d'évaluer la généralité de ce caractère ainsi que la diversité phénotypique de ces souches en œnologie.

**Matériel, méthodes, discussion et conclusion :**

Les capacités fermentaires de 50 souches de levures appartenant au genre *Metschnikowia*, dont l'origine varie (fruits, fleurs, arbres, boissons), ont été étudiées ainsi que leurs capacités bioprotectrices. Des fermentations ont été réalisées en moût synthétique mimant le moût de raisin (200 g de sucre, pH 3.3, 200 mg/L d'azote assimilable) et les métabolites issus du métabolisme carboné central ont été quantifiés en HPLC, ainsi que les arômes en GC/MS. En parallèle, les capacités bioprotectrices des souches de *Metschnikowia* vis-à-vis des bactéries d'altération (la lactique, *Lactobacillus hilgardii* et l'acétique, *Gluconobacter oxydans*) ont été évaluées dans du jus de raisin par microbiologie classique, par étalement sur milieu spécifique jusqu'à 7 jours de fermentation, en lien avec la production d'acide pulcherriminique. Ce travail a permis d'obtenir une vision globale de la diversité phénotypique des souches de *Metschnikowia* en œnologie ainsi que leurs capacités bioprotectrices. Cet état des lieux permettra d'identifier les souches les plus efficaces afin d'étudier les mécanismes sous-jacents à la bioprotection et d'évaluer la capacité des souches à l'échelle pilote.

**Mots clés :** Bioprotection - *Metschnikowia* - Jus de raisin - Œnologie.

## MA-P Microbiologie des aliments

MA-P02

**Cheese spoilage expression caused by *Pseudomonas spp.* using a soft lactic cheese model**

Abirami Baleswaran (abirami.baleswaran@purpan.fr), Christel Couderc, Jean Dayde, Hélène Tormo, Gwenaëlle Jard

*Equipe Sciences Agroalimentaire et nutrition, Université de Toulouse, INP-Purpan, Toulouse, France*

**Introduction and Objectives:**

*Pseudomonas spp.* is a well-known food spoiler psychrotrophic, due to its extreme adaptability and metabolic. In cheese, they are responsible for defects in appearance, texture, taste, and smell, leading to cheese non-marketing and even their destruction. Despite preventive actions establishment, problems linked to *Pseudomonas spp.* are difficult to control by the lack of knowledge and control of these contaminants during the cheese manufacturing. Aims of this study were i) a genetic and phenotypic characterization of *Pseudomonas spp.* strains and ii) an identification of factors influencing the cheese spoilage expression using a soft lactic cheese model.

**Material and Methods:**

Twenty-three strains of *Pseudomonas spp.*, isolated from meat and dairy environments were genetically affiliated to subgroups level by sequencing the *16S rRNA*, *rpoB*, *rpoD* and *recA*. Phenotypic characterization of strains was done by evaluating pigments production and fluorescence, enzymatic activities (proteolytic, lipolytic and lecithinase) and growth at different pH of interest in lactic cheese process (between pH 4-6.6). Five strains were selected, according to their spoilage potential and were spot-inoculated on a factory curd surface to simulate a late-stage contamination. A soft lactic cheese model was developed in our laboratory to accurately reflect the processes observed throughout a production in a cheese factory. In this cheese model, the best spoiler was inoculated in milk (early-stage contamination) and on curd surface. The expressions of cheese spoilage were evaluated by pigment presence and by *Pseudomonas spp.* levels, at 7 and 20 days of ripening.

**Results and Discussion:**

A diversity on genotypic and phenotypic characteristics was observed: different *Pseudomonas fluorescens* subgroups identified, 15/23 strains able to produce yellow fluorescent pigment and different enzymatic activities. None of the strains grow at  $\text{pH} \leq 4.4$ . Few strains (2/5) caused defects on factory cheese after 20 days of ripening. On early and late-stage contaminations in the cheese model, the spoilage expression was not observed with the best spoiler. The acidification kinetic and the pH raised during ripening did not allow the growth of the *Pseudomonas* strain. Subsequently, other pH profiles representing low acidification will be studied in the model to evaluate the effect on cheese spoilage expression.

*Mots clés* : Acidification - *Pseudomonas spp.* - Spoilage - Soft lactic cheese - Model.



## MA-P Microbiologie des aliments

MA-P03

**Impact of environmental factors on the viability state of *Listeria monocytogenes* detected by Raman microspectroscopy, molecular biology and microbiology techniques**

Sylvain Trigueros<sup>1,2</sup> (sylvain.trigueros@anses.fr), Tommy Dedole<sup>2</sup>, Thomas Brauge<sup>1</sup>, Sabine Debuiche<sup>1</sup>, Véronique Rebuffel<sup>2</sup>, Sophie Morales<sup>2</sup>, Pierre Marcoux<sup>2</sup>, Graziella Midelet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory for Food Safety, B3PA, ANSES, Boulogne-sur-Mer, France

<sup>2</sup> LETI, Minatec-Campus, CEA, Grenoble, France

*Listeria monocytogenes* is a foodborne pathogen and the etiological agent of human listeriosis, a rare but frequently fatal disease. This persistence of this bacteria in the food-processing environments may be due to environmental factors, which can stress and induce a viable but non-culturable (VBNC) state in bacteria. Food-processing plants are a hostile environment for bacteria, which are exposed to various stresses, such as osmotic, nutritional, alkaline, acid, thermal, chemical and oxidative stress. These stresses can cause some of the bacterial population to enter the VBNC state such as during the cleaning and disinfection procedures. Once in this metabolic state, the bacteria are no detectable by the cultural media methods, which mainly target bacteria in a viable cultivable (VC) state. Raman microspectroscopy has emerged as one of the most innovative tools in the research and characterization of bacteria. Coupled with deuterium isotope probing (Raman-DIP), this technique allows to measure the metabolism of a bacterium and to evaluate its viability.

We evaluated the impact of different stressful environmental factors presents in the seafood processing industry such as low food storage temperatures, salting step, and biocide procedures on *L. monocytogenes* populations. We treated the suspensions of *L. monocytogenes* with these different stresses, alone or combined. Then, we detected their metabolism by Raman-DIP microspectroscopy and we quantified the total, viable and VC population respectively by qPCR, PMA-qPCR and plate count agar.

After biocide treatment, the total population was in VBNC state for *L. monocytogenes* with a low C-D peak observed by Raman microspectroscopy. For salt and temperature treatment, the total population was in VC state with a high C-D peak. For a combined stress between low incubation temperature and biocide treatment, we observed an antagonistic effect where bacterial population was more photoresistant to the laser beam of the Raman microspectroscope when they were stressed separately. We were able to measure the impact of environmental factors on the viability state of *L. monocytogenes* and by Raman microspectroscopy with a better accuracy than molecular biology and microbiology techniques, which will allow us to test this technique to other stresses.

**Mots clés :** *L. monocytogenes* - Raman-DIP - Metabolism - Environmental factors - Viability detection.

## MA-P Microbiologie des aliments

MA-P04

**Dynamic changes in Champagne mycobiota from vine to wine and the potential link to volatile compound production in wine**

Adrien Destanque<sup>1,2</sup> (adestanque@moethennessy.com), Alexis Commereuc<sup>1</sup>, Flora Pensec<sup>1</sup>, Adeline Picot<sup>1</sup>, Sylvie Treguer-Fernandez Treguer-Fernandez<sup>1</sup>, Marion Hervé<sup>2</sup>, Emmanuel Coton<sup>1</sup>, Monika Coton<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, Univ Brest, INRAe, Plouzané, France

<sup>2</sup> Centre de Recherche Robert-Jean de Vögué Moët Hennessy, MHCS, Oiry, France

**Introduction:**

Champagne is a well-known wine region in Northern France which typicity is influenced by grape varieties and various terroirs. Like any vineyard, wine quality is highly linked to microbiological characteristics of raw materials. However, the Champagne grape microbiota, especially its fungal component and its potential impact on wine organoleptic properties, has yet to be fully characterized. In this context, our study focused on describing the mycobiota from vine to wine as well as determining whether certain fungal species can induce potential off-odors in the final product.

**Methodology:**

We sampled grape berries from 33 vineyards at five different stages: fruit set to wine. For wine, grapes were crushed to obtain must samples, then micro-vinifications were performed, followed by sensorial analyses to evaluate product quality. Culture-dependent and -independent (metagenetic) approaches were applied to identify mycobiota diversity at each stage. A physiological study was then conducted with 18 isolates, belonging to 5 species able to produce off-odors *in vitro*, to determine the impact of two abiotic factors on growth in liquid must medium by laser nephelometry. Radial growth and volatile compound production profiles (TD-GC-MS) were determined for the same isolates, individually or in confrontation experiments, using different media or grapes.

**Results and Conclusion:**

Fungal counts increased during berry ripening concomitantly to a decrease in acidity and increase in total sugar. Grape berries from fruit set to veraison were dominated by *Cladosporium* and *Aureobasidium* spp. while *Penicillium* spp. populations increased during harvest. After grape crushing, fungal counts decreased while *Penicillium* spp. were the most dominant molds in must. Based on physiological data, *Botrytis cinerea* isolates presented the fastest growth rates, followed by *Penicillium crocicola*, while *Cladosporium subtilissimum* and *Penicillium brevicompactum* were the slowest. Preliminary data on volatile profiles showed that *B. cinerea*, *P. crocicola*, *Penicillium bialowiezense* and *Clonostchys rosea* produced off-odors with higher production of two compounds when these species were tested in confrontation experiments directly on grapes. Overall, this study provided novel knowledge about the diversity and specificities of Champagne vineyard mycobiota and highlighted that some species can produce undesirable compounds. Metagenetic data is currently being analyzed and will provide insight about this complex ecosystem.

**Mots clés :** Mycobiota - Off-odor - Growth models - Cardinal values - TD-GC-MS.

## MA-P Microbiologie des aliments

MA-P05

**La formation de biofilm par *Brochothrix thermosphacta*, une bactérie majeure de l'altération des aliments**

Antoine Gaillac<sup>1</sup> (antoine.gaillac@inrae.fr), Romain Briandet<sup>2</sup>, Elodie Delahaye<sup>1</sup>, Julien Deschamps<sup>2</sup>, Evelyne Vigneau<sup>3</sup>, Philippe Courcoux<sup>3</sup>, Emmanuel Jaffrès<sup>1</sup>, Hervé Prévost<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SECALIM, INRAe, Nantes, France

<sup>2</sup> Micalis, INRAe, Jouy-en-Josas, France

<sup>3</sup> StatSC, Oniris, Nantes, France

**Introduction et objectifs :**

Les biofilms jouent un rôle important dans la résidence et la persistance des microorganismes dans l'environnement agroalimentaire industriel. *Brochothrix thermosphacta* est considérée comme une bactérie majeure de l'altération des aliments (Illikoud et al., 2019). Cette bactérie a été récemment identifiée dans des biofilms sur de multiples surfaces d'une usine de transformation de viande (Wagner et al., 2021, 2020). L'objectif de ce travail est d'évaluer la capacité de formation de biofilm par des souches de *B. thermosphacta* et d'explorer leurs structures. Ceci afin de mieux maîtriser les contaminations des aliments à partir des surfaces industrielles des ateliers de production.

**Matériels et méthodes :**

La diversité de formation de biofilm sur du polystyrène d'une collection de 30 souches de *B. thermosphacta* cultivées dans du BHI à 25°C a été caractérisée en utilisant le Biofilm Ring Test (BRT), la coloration au cristal violet (CV) et la microscopie confocale à balayage laser (MCBL). Les images ont été analysées par le logiciel BiofilmQ.

**Résultats :**

Les souches ont été classées en 4 groupes de production de biofilm précoce (BRT). Seules deux souches apparaissent comme fortes productrices de biofilm à 4h de culture. Les résultats de coloration CV montrent la présence de 6 groupes statistiques. Sept souches réparties dans 5 groupes sont considérées comme productrices de biofilm mature. Ces 7 souches sont également classées comme moyennes et fortes productrices de biofilm précoce par le BRT. L'analyse des images de MCBL a permis de définir parmi les 30 souches trois clusters. Les souches déjà catégorisées comme productrices de biofilm montrent des paramètres structuraux de valeurs plus élevées (nombre de cellules, aire de la surface du biofilm et volume du biofilm par exemple).

Cette étude est à notre connaissance la première décrivant la formation de biofilm chez la bactérie *Brochothrix thermosphacta* et démontre une diversité importante dans la capacité de formation de biofilm chez cette espèce. Elle montre également l'intérêt de l'outil BiofilmQ pour l'analyse d'image par microscopie confocale.

**Mots clés :** Biofilm - *Brochothrix* - Aliments - Bactérie - Altération.

## MA-P Microbiologie des aliments

MA-P06

**Formation de biofilm par la bactérie d'altération des aliments *Brochothrix thermosphacta* sur différents matériaux, en culture continue dans un bioréacteur**

Antoine Gaillac<sup>1</sup> (antoine.gaillac@inrae.fr), Claire Gourin<sup>1</sup>, Laurence Dubreil<sup>2</sup>, Romain Briandet<sup>3</sup>, Emmanuel Jaffrès<sup>1</sup>, Hervé Prévost<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SECALIM, INRAE, Nantes, France

<sup>2</sup> PAnTher, INRAE, Nantes, France

<sup>3</sup> Micalis, INRAE, Jouy-en-Josas, France

**Introduction :**

Les biofilms jouent un rôle important dans la résidence et la persistance des microorganismes dans l'environnement agroalimentaire industriel. *Brochothrix thermosphacta* est considérée comme une bactérie majeure de l'altération des aliments. Elle a été identifiée dans des biofilms sur de multiples surfaces d'une usine de transformation de viande (Wagner et al., 2021, 2020). Récemment nous avons isolé des souches de *B. thermosphacta* fortes productrices de biofilm. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'impact de la nature du matériau sur la cinétique de formation et la structure de biofilms. Afin de s'affranchir de la perturbation occasionnée par les cellules planctoniques et de la variabilité de la composition du milieu, les biofilms ont été cultivés dans un bioréacteur à biofilm conduit en continu (BBCC).

**Matériels et méthodes :**

Une souche de *Brochothrix thermosphacta* fortement productrice de biofilm a été cultivée dans du milieu BHI pendant 36h à 25°C dans un BBCC sur des coupons d'acier inoxydable, de polycarbonate et de polystyrène. La croissance des bactéries planctoniques et sessiles a été quantifiée par dénombrement sur milieu gélosé et par qPCR spécifique (Bouju-Albert et al., 2021). La structure des biofilms sur les différents matériaux a ensuite été analysée par microscopie confocale à balayage laser (MCBL). Les images ont été traitées par le logiciel BiofilmQ.

**Résultats :**

Les cinétiques de formation de biofilms sur les différents matériaux montrent qu'un biofilm mature est obtenu après 18h et 24h de culture (7,2 log CFU/cm<sup>2</sup>). Aucune différence de cinétique de croissance n'a été observée entre les 3 types de matériaux. L'analyse des images de MCBL montre des différences de surfaces entre les trois types de matériaux. Celles-ci ne semblent pas affecter la structure des biofilms observés en MCBL qui présentent les mêmes caractéristiques de hauteur, surface et de densité cellulaire.

Cette étude montre que les matériaux étudiés n'ont pas d'impact sur la formation de biofilms de *B. thermosphacta*. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus chez *Flavobacterium psychrophilum* où la formation de biofilm était plus importante sur l'acier inoxydable que sur les autres matériaux (Vidal et al., 2020).

**Mots clés :** Biofilm - Brochothrix - Bioréacteur - Bactérie - Altération.

## MA-P Microbiologie des aliments

MA-P07

**Mise au point d'une méthode d'extraction de particules virales à partir de légumes fermentés à des fins d'analyse de métaviromes.**

Julia Gendre<sup>1</sup> (julia.gendre@inrae.fr), Claire Le-Hénaff-Le-Marrec<sup>2</sup>, Marie-Agnès Petit<sup>3</sup>, Sophie Landaud<sup>4</sup>, Eric Dugat-Bony<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SayFood, INRAE, Thiverval Grignon, France

<sup>2</sup> UR Oenologie, INRAE, Bordeaux, France

<sup>3</sup> MICALIS, INRAE, Jouy-en-josas, France

<sup>4</sup> Say, INRAE, Thiverval Grignon, France

**Introduction :**

Les légumes fermentés abritent divers microorganismes. Leur développement se fait séquentiellement au cours de la fermentation, avec une première phase hétérofermentaire, dominé par *Leuconostoc mesenteroides*, et une seconde homofermentaire, assurée par *Lactiplantibacillus plantarum*. Les bactériophages, des virus infectant des bactéries, jouerait un rôle dans cette dynamique microbienne. Cependant la communauté virale des végétaux fermentés est peu décrite dans la littérature. L'objectif de ce travail est de la caractériser à l'aide des techniques actuelles de métagénomique virale. Pour cela, la mise au point d'une méthode d'extraction de la fraction virale à partir de légumes fermentés a été entreprise.

**Méthodes :**

La procédure d'extraction de particules virales à partir de végétaux fermentés comprend 3 étapes : 1.dilution de la matrice dans du tampon salin afin de permettre le décrochage d'un maximum de particules virales, 2.centrifugation et filtration pour retirer les cellules microbiennes puis 3.précipitation au polyéthylène glycol (PEG) afin de concentrer la fraction virale extraite. Pour valider les différentes étapes de cette procédure, nous avons réalisé du spiking (= inoculation volontaire) dans des échantillons de choucroute à l'aide de phages de morphotypes différents. Ces phages ont été dénombrés à l'issue de la procédure d'extraction par la méthode en surcouche. Une fois la fraction virale extraite à partir du légume fermenté, une évaluation de la charge virale des échantillons est réalisée par microscopie à épifluorescence puis les acides nucléiques sont extraits des virus en vue d'être analysés par une approche de métagénomique virale.

**Résultats :**

Les résultats montrent que la quantité d'échantillon et la porosité des filtres utilisés pour l'étape de filtration sont critiques pour permettre une bonne récupération des particules virales présentes dans l'échantillon. La filtration sur des filtres de porosité 0.22 µm engendre la perte massive des myophages et siphophages (3% et 2% de récupération, respectivement) mais pas celle des podophages (98% de récupération). L'utilisation de filtres de porosité 0.45 µm permet une meilleure récupération des particules virales, quel que soit le morphotype du phage considéré. L'utilisation de la procédure optimisée sur des échantillons de choucroute a permis d'estimer la charge virale à environ 10<sup>8</sup> particules par gramme dans ce système.

**Mots clés :** Bactériophages - Légumes Fermentés - Microscopie à epifluorescence - Métagénomique virale.

**MA-P Microbiologie des aliments**

MA-P08

**Dynamiques microbiennes et métaboliques au cours de la lactofermentation de légumes**

Bernard Hezard<sup>1</sup> (b.hezard@aerial-crt.com), Sylvie Dumoulin<sup>2</sup>, Laura Febvay<sup>1</sup>, Rodéric Gohier<sup>1</sup>, Lysiane Omhover-Fougry<sup>1</sup>, Raphaël Recht<sup>1</sup>, Dalal Werner<sup>1</sup>, Marie-Hélène Desmots<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Aerial, Illkirch, France

<sup>2</sup> Le Labo Dumoulin, Bischwiller, France

**Introduction et objectifs :**

La consommation de légumes naturellement lactofermentés est de plus en plus répandue. Hormis la choucroute, peu d'informations sont actuellement disponibles pour les légumes ainsi produits en Europe. Afin de maîtriser cette production, il est nécessaire de décrire le processus microbiologique en lien avec les modifications physico-chimiques des produits. Ainsi, l'objectif de cette étude est de comprendre et de suivre la fermentation naturelle de quatre légumes (carotte, chou blanc, chou rouge et mélange chou blanc-panais).

**Matériel et méthodes :**

La fermentation des 4 légumes a été conduite sous deux scénarii : (1) 21 jours à 20 °C et (2) 7 jours à 20°C puis 14 jours à 4°C. Au cours de ces fermentations, les modifications physico-chimiques des légumes ont été suivies par la mesure du pH, le dosage de l'acidité titrable par potentiométrie, la quantification des sucres présents par HPLC-RI ainsi que l'analyse non ciblée des profils métaboliques par RMN. La diversité bactérienne des légumes a été décrite par microbiologie culturale couplée à la métagénomique 16S.

**Résultats et perspectives :**

Dès trois jours à 20°C une baisse de pH est observée (de 5,5 à environ 3,5). Les sucres présents sont consommés, le saccharose préférentiellement puis le fructose. Du glucose est toujours quantifié après 21 jours de fermentation, mais les spectres RMN mettent en évidence la présence de mannitol (dont le signal peut se confondre avec celui du glucose par HPLC-RI). Cette consommation de sucres a conduit à l'augmentation de l'acidité titrable, liée à la production d'acides lactique et acétique, en quantités variables selon le type de légumes. Ces changements métaboliques sont le fruit du développement de la flore microbienne. La richesse bactérienne des légumes est importante en début de fermentation (détection de 28 à 88 OTUs en début de fermentation) avec prédominance des Entérobactéries. Dès deux jours de fermentation, les flores lactiques deviennent majoritaires en nombre (quantifiées par les numérations) et en diversité (décrites par métagénomique 16S). Les approches mises en œuvre s'avèrent complémentaires pour mieux appréhender la fermentation naturelle des légumes et optimiser les procédés de production.

**Mots clés :** Fermentation naturelle - Profil métabolique - Diversité microbienne.

## MA-P Microbiologie des aliments

MA-P09

**The dairy bacterium *Propionibacterium freudenreichii* against colitis and mucositis: a key role of the surface layer protein SlpB**

Gwénaél Jan<sup>1,2</sup> (gwenael.jan@inrae.fr), Benoit Foligné<sup>3</sup>, Fillipe Luis Rosa DO CARMO<sup>1,4</sup>, Houem Rabah<sup>1</sup>, Vasco Azevedo<sup>4</sup>, Eric Guédon<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup> UMR STLO, INRAe, Rennes, France

<sup>2</sup> Institut Agro, Rennes, France

<sup>3</sup> U1286-INFINITE-Institute for Translational Research in Inflammation, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Lille, France

<sup>4</sup> Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brésil

<sup>5</sup> umr, INRAe, Rennes, France

**Introduction and Aim:**

Gut inflammation constitutes a growing health concern in developed countries. It may consist in spontaneous ailments of the gut, involving both the host immune system and microbiota, such as inflammatory bowel diseases. It may be caused by a medical treatment, such as mucositis induced by cancer chemotherapy and/or radiotherapy. It coincides with a dysbiosis including a lack of anti-inflammatory bacteria. As an example, propionibacteria are lacking in the microbiota of newborns that develop necrotizing enterocolitis. We thus focused on the immunomodulatory properties of GRAS propionibacteria as tools to remediate gut inflammation.

**Methods and Results:**

Selected strains of *Propionibacterium freudenreichii* induced the regulatory IL-10 cytokine in human immune cells, depending on surface proteins. Mutation of the *slpB* gene suppressed this immunomodulatory effect and the resulting *DslpB* mutant induced a rather proinflammatory response [1]. Consumption of wild-type *P. freudenreichii* protected from colitis induced by both TNBS and by DSS. It alleviated severity of symptoms, modulated local and systemic inflammation, as well as colonic oxidative stress and epithelial cell damages [2]. Accordingly, consumption of *Lactococcus lactis* NCDO 2118 harboring pXIES-SEC:slpB and expressing the propionibacterial SlpB reduced severity of colitis, lowered weight loss, disease activity index, shortening of the colon length, and histopathological score, compared with mice treated with *L. lactis* NCDO 2118 wild-type strain [3].

In the context of mucositis induced by the chemotherapy 5-FU, *P. freudenreichii* prevented weight loss, reduced inflammation and consequently intestinal damages. It regulated key markers, including Claudin-1 and IL-17a genes, as well as IL-12 and IL-1 $\beta$  cytokines levels [4]. Mutant strain *DslpB* displayed opposite regulatory effect on *clid1* expression and on IL-12 levels, and failed to afford protection towards 5-FU-mucositis [5].

**Conclusion:**

This work emphasizes the importance of SlpB in *P. freudenreichii* ability to reduce both mucositis and colitis inflammation. It opens perspectives for the development of probiotic products aimed at decreasing side effects of chemotherapy and at helping treatment of colitis, thanks to GRAS bacteria.

**Mots clés :** Probiotic - Cheese - Inflammation - Colitis - Mucositis.

.../...

**MA-P Microbiologie des aliments**

.../...

## Références :

1. Deutsch, S.-M.; Mariadassou, M.; Nicolas, P.; Parayre, S.; Le Guellec, R.; Chuat, V.; Peton, V.; Le Maréchal, C.; Burati, J.; Loux, V.; 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, doi:10.1038/srep46409.
2. Rabah, H.; do Carmo, F.L.R.; Carvalho, R.D. de O.; Cordeiro, B.F.; da Silva, S.H.; Oliveira, E.R.; Lemos, L.; Cara, D.C.; Faria, A.M.C.; Garric, G.; et al. Beneficial *Propionibacteria* within a Probiotic Emmental Cheese: Impact on Dextran Sodium Sulphate-Induced Colitis in Mice. *Microorganisms* 2020, 8, 380, doi:10.3390/microorganisms8030380.
3. Belo, G.A.; Cordeiro, B.F.; Oliveira, E.R.; Braga, M.P.; da Silva, S.H.; Costa, B.G.; Martins, F.D.S.; Jan, G.; Le Loir, Y.; Gala-García, A.; et al. SlpB Protein Enhances the Probiotic Potential of *L. Lactis* NCDO 2118 in Colitis Mice Model. *Front Pharmacol* 2021, 12, 755825, doi:10.3389/fphar.2021.755825.
4. Cordeiro, B.F.; Oliveira, E.R.; Silva, D.; H, S.; Savassi, B.M.; Acurcio, L.B.; Lemos, L.; Alves, J. de L.; Carvalho Assis, H.; Vieira, A.T.; 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, doi:10.3389/fmicb.2018.02035.
5. do Carmo, F.L.R.; Rabah, H.; Cordeiro, B.F.; da Silva, S.H.; Pessoa, R.M.; Fernandes, S.O.A.; Cardoso, V.N.; Gagnaire, V.; Deplanche, M.; Savassi, B.; et al. Probiotic *Propionibacterium Freudenreichii* Requires SlpB Protein to Mitigate Mucositis Induced by Chemotherapy. *Oncotarget* 2019, 10, 7198–7219, doi:10.18632/oncotarget.27319.



**MA-P Microbiologie des aliments**

MA-P10

**Diversité de la levure *Debaryomyces hansenii* révélée à l'aide de marqueurs microsatellite**

Jean-Luc Legras<sup>1</sup> (jean-luc.legras@inrae.fr), Cecile Grondin<sup>1</sup>, Noémie Jacques<sup>2</sup>, Marine Lucas<sup>2</sup>, Colin Tinsley<sup>2,3</sup>, Serge Casaregola<sup>2</sup>

<sup>1</sup> SPO, INRAe, Montpellier, France

<sup>2</sup> Institut Micalis, INRAe, Jouy-en-Josas, France

<sup>3</sup> Institut Micalis, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

Le typage des souches est une démarche essentielle pour la sélection, le contrôle ou l'étude de la diversité des levures. Cette diversité a été explorée pour de nombreuses espèces de levures à l'aide d'empreintes moléculaires peu résolutive et peu robuste. Depuis 20 ans des marqueurs microsatellites ont été utilisés avec succès pour la caractérisation de souches de quelques espèces de levures comme *Saccharomyces cerevisiae* ou *Torulasporea delbrueckii*. Alors que l'espèce de levure *Debaryomyces hansenii* est rencontrée dans de nombreux environnements comme l'eau de mer, les fromages ou le vin ; il n'existe pas d'étude de diversité menée à l'aide de marqueurs génétiques robustes. Nous présentons ici un set de 15 marqueurs microsatellite pour la caractérisation de la diversité des levures *Debaryomyces hansenii*. Ce set de marqueurs nous permet de proposer une première vision de la structure de population chez cette espèce de levure, et met en évidence pour la première fois une structuration liée à l'origine des souches.

**Mots clés :** *Debaryomyces hansenii* - Microsatellite - Diversity - Typage.

**MA-P Microbiologie des aliments**

MA-P11

**Variabilité du microbiote de levains ambiants utilisés en fabrication Comté selon la fromagerie et la saison**

Jade Lutin<sup>1</sup> (j.lutin@comte.com), Franck Dufrene<sup>2</sup>, Philippe Guyot<sup>1</sup>, Romain Palme<sup>2</sup>, Christine Achilleos<sup>2</sup>, Yvette Bouton<sup>1</sup>, Solange Buchin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unité R&D, Bât. INRAE URTAL F-39800, CIGC, Poligny, France

<sup>2</sup> URTAL F-39800, INRAE, Poligny, France

**Introduction et objectifs :**

Le microbiote des fromages traditionnels au lait cru tels que le Comté présente une diversité résultant d'interactions entre les populations microbiennes endogènes du lait et les populations microbiennes apportées au cours du procédé de fabrication, cas des levains lactiques<sup>[1]</sup>. En technologie fromagère Comté, des levains artisanaux préparés à température ambiante par culture naturelle sur lactosérum cru issu de la fabrication de la veille et appelés levains ambiants sont encore utilisés et connaissent un regain d'intérêt.

Ces travaux ont pour objectif de décrire la diversité microbienne de deux levains ambiants utilisés en technologie fromagère Comté à deux saisons.

**Matériels et méthodes :**

Des échantillons de levains ambiants ont été collectés dans deux fromageries sur trois jours consécutifs en été et en hiver. Leur caractérisation a été réalisée par une double approche : une approche culture-dépendante pour quantifier les populations cultivables sur différents milieux de culture et évaluer la diversité génotypique des souches des populations thermophiles (REP-PCR/ERIC-PCR)<sup>[2]</sup> et une approche PCR (qPCR/viabilité-qPCR) pour quantifier les populations thermophiles viables. La viabilité microbienne globale des levains a également été estimée par microscopie à fluorescence.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les lactobacilles thermophiles (7,0 à 8,2 log ufc/ml) et les streptocoques thermophiles (8,3 à 8,8 log ufc/ml) constituent les populations microbiennes cultivables dominantes des levains ambiants. Leur niveau est similaire entre les deux fromageries quelle que soit la saison. Des différences entre fromageries sont toutefois observées pour plusieurs populations sous-dominantes, principalement en été. Au sein d'une même fromagerie, il existe un effet saison pour plusieurs populations. La quantification des populations thermophiles par qPCR permet de distinguer les espèces *L. delbrueckii* et *L. helveticus* présentes dans des proportions spécifiques à chaque fromagerie. Les résultats de diversité génotypique des populations thermophiles seront détaillés lors de la présentation.

La viabilité globale des microorganismes varie de 98,4 à 99,8 %. Des différences de viabilité entre les deux fromageries sont observées pour *L. delbrueckii* et *L. helveticus*.

Un travail similaire est en cours dans quatre autres fromageries. Des analyses de *metabarcoding* viendront compléter la caractérisation de la diversité microbienne des levains ambiants.

**Mots clés :** Fromages Comté - Levains ambiants - Diversité microbienne - Viabilité cellulaire.

**Références :**

1. Montel MC, Buchin S, Mallet A, Delbes-Paus C, Vuitton DA, Desmasure N, et al. Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology*. 2014 May;177:136–54.
2. Bouton Y, Guyot P, Beuvier E, Tailliez P, Grappin R. Use of PCR-based methods and PFGE for typing and monitoring homofermentative lactobacilli during Comté cheese ripening. *International Journal of Food Microbiology*. 2002 Jun;76(1–2):27–38.

**MA-P Microbiologie des aliments**

MA-P12

**Contamination et Hygiène des Lignes, Evaluations environnementales et Amélioration de la Nettoyabilité (RMT ACTIA CHLEAN)**

Graziella Midelet ([graziella.midelet@anses.fr](mailto:graziella.midelet@anses.fr))

*Anses, Boulogne-sur-Mer, France*

Le RMT Actia Chlean est un réseau français d'expert en nettoyage, désinfection et conception hygiénique des lignes au service des industriels de l'agro-alimentaire. Cette collaboration d'acteurs clés du développement, du transfert, de la recherche et de l'enseignement constitue un réseau unique dans le domaine de la conception hygiénique des équipements. La mise en commun de leurs compétences, laboratoires et moyens d'essais permet d'apporter aux entreprises et aux collectivités une expertise unique visant à promouvoir l'innovation et la qualité dans les filières alimentaires. Animé par le CTCPA, le RMT Actia Chlean regroupe 12 partenaires : ANSES, INRAE unité Médis et Umet, BioDyMia, AgroParisTech, Université de St Brieuc, ENIL Mamirolle, Actalia, Adrianor, IFIP, IFV, CRITT PACA.

Le RMT Actia Chlean souhaite aider les entreprises agroalimentaires dans leur démarche de performance, en tenant compte des évolutions économiques et sociétales, afin qu'elles puissent :

- garantir et contrôler la sécurité et la qualité des aliments ;
- limiter l'utilisation d'intrants chimiques, notamment lors du nettoyage et de la désinfection ;
- diversifier leur gamme de produits tout en maîtrisant le risque de contamination croisée.

Les travaux de recherche sont répartis en 4 axes animés par des coordinateurs issus des structures membres du réseau.

Axe 1 : La détection des contaminations microbiologiques et chimiques animé par Aurélie Hanin, [a.hanin@actalia.eu](mailto:a.hanin@actalia.eu) Actalia,; Thomas Brauge, [thomas.brauge@anses.fr](mailto:thomas.brauge@anses.fr); ANSES ;

Axe 2 : Les méthodes de prévention de ces contaminations et des outils de correction afin de garantir la sécurité sanitaire de l'environnement de travail et limiter l'impact environnemental animé par Thierry Bénézech, [thierry.benezech@inrae.fr](mailto:thierry.benezech@inrae.fr), INRAE; Nicolas Bélaubre, [nbelaubre@ctcpa.org](mailto:nbelaubre@ctcpa.org) , CTCPA.

Axe 3 : le développement d'un réseau européen pour porter des projets à envergure internationale animé par Graziella Midelet, [graziella.midelet@anses.fr](mailto:graziella.midelet@anses.fr); Christophe SOUMET, [Christophe.SOUMET@anses.fr](mailto:Christophe.SOUMET@anses.fr); ANSES ; Bastien Fremaux Bastien.[fremaux@ifip.asso.fr](mailto:fremaux@ifip.asso.fr)IFIP ;

Axe 4 : La Diffusion des travaux sous forme de publication, de colloque, de guides, d'ouvrage ou de formation animée par Sylvie PERRET [Sylvie.perret@crittiaa-paca.com](mailto:Sylvie.perret@crittiaa-paca.com) Critt PACA ; Jean-Louis BERNER, [jean-louis.berner@educagri.fr](mailto:jean-louis.berner@educagri.fr)ENIL MAMIROLLE ; Catherine STRIDE, [cstride@ctcpa.org](mailto:cstride@ctcpa.org)CTCPA

*Mots clés* : Réseau - Contamination - Formation - Industries agro-alimentaires - Hygiène.

**MA-P Microbiologie des aliments**

MA-P13

**Drivers of microbial communities dynamic in sourdough**

Thibault Nidelet<sup>1</sup> (thibault.nidelet@inrae.fr), Jennifer Mata-Orozco<sup>2</sup>, Stephane Guezenc<sup>1</sup>, Thérèse Marlin<sup>1</sup>, Marie-Françoise Samson<sup>1</sup>, Elodie Canaguier<sup>1</sup>, Teddy Godet<sup>1</sup>, Valérie Nolleau<sup>1</sup>, Diego Segond<sup>1</sup>, Frederic Bigey<sup>1</sup>, Delphine Sicard<sup>1</sup>, Lauriane Mietton<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ Montpellier, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

<sup>2</sup> Univ de Technologie de Compiègne, Compiègne, France

Bread is an important staple food, that plays an important role in many cultures. There are two primary ways of making bread, either using commercial yeast or using sourdough, a mixture of flour and water naturally fermented by yeasts and bacteria. While commercial yeasts have been consciously selected for bread making and sold all over the world, sourdough microbial communities are propagated by local bakers through the addition of flour and water. Previous studies revealed the role of the house microbiota on sourdough microbial species diversity. The role of grain milling has been less explored. Using a participatory research approach, we tested the effect of milling technics on the dynamic of microbial community during the establishment of new sourdoughs in four bakeries. A strong parallelism of the dynamic of bacteria and yeast installation was found. Interestingly, LAB and yeast colonization reached rapidly their carrying capacity with bacteria being faster. Each bakery was associated to a specific sourdough microbial community whatever the milling practice. Bread aroma compounds were mostly impacted by the microbial community composition while the bread protein content was also partly impacted by the milling technic. These results highlighted the importance of local food chain in the conservation of microbial species diversity.

*Mots clés* : Sourdough - Yeast - Bacteria - Participatory research.

## MA-P Microbiologie des aliments

MA-P14

**Screening of exopolysaccharide production and evaluation of biofilm formation capacity in *Aspergillus* strains isolated from stored peanut seeds**

Rachel Moyen<sup>1</sup> (rmoyen@yahoo.fr), Joel Prince Bidounga<sup>1</sup>, Christoffer Mounkala<sup>2</sup>, Saturnin Nicaise Mokemiabeka<sup>1</sup>, Etienne Nguimbi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Biologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques Université Marien NGOUABI, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

<sup>2</sup> *Laboratoire National de Santé Publique, Faculté des Sciences et Techniques Université Marien NGOUABI, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

<sup>3</sup> *Biologie Cellulaire et Moléculaire, IRSN, Faculté des Sciences et Techniques Université Marien NGOUABI, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

The preservation and conservation of foodstuffs are steps that ensure better food safety. Indeed, in our countries, the storage of fruits, vegetables and seeds maintain temperature and humidity conditions favorable to the emergence of several microorganisms including molds. These moulds develop mechanisms that allow them to adapt to the support and the food stored. In order to assess the food safety of stored peanut seeds, peanut samples were analyzed for molds in their microbiological quality. Four strains of moulds of the genus *Aspergillus* isolated were analysed in their capacity of production of exopolysaccharides and the formation of biofilms. The production of exopolysaccharides was detected by colorimetric methods by culturing the moulds on Sabouraud medium with Congo Red added. Screening of biofilms was carried out on microplate wells by staining with crystal violet of the culture. Quantification of biofilm production was done by following the kinetics by spectrophotometric method. The results obtained from the phenotypic screening showed exopolysaccharide production in all strains. The kinetics of biofilm formation showed a better quantity in the sucrose supplemented medium. The adaptive mechanisms developed by molds in food can be the cause of the formation of toxic compounds that constitute a public health problem, hence the need to take preventive measures for the conditions of food preservation and storage.

**Mots clés :** Peanut - Mould - Adaptation - Food safety - Health.

**Références :**

1. Cortesao, M. 2020. Growth and biofilm formation of penicillium chrysogenum in simulated microgravity. American Society for Gravitational and Space Research.
2. Diakitè A. D. et al. 2017. Determination of Aflatoxin B1 contamination of peanut paste consumed by the population in Côte d'Ivoire: interest of Thin Layer Chromatography. International Journal of Biological and Chemical Science.
3. Mejrhit, H. T. 2015. Evaluation of the hygienic quality of Peanuts at the level of Fez city - Morocco. International Journal of Innovation and Applied Studies, 3.
4. Kaiser T. D. et al. 2012. Modification of the Congo red agar method to detect biofilm production by *Staphylococcus epidermidis*. Hindawi-Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.
5. Ferreira A. A. et al. 2014. Detection of exopolysaccharide production and biofilm-related genes in *Staphylococcus* spp. isolated from a poultry processing plant. Food Science and Technology.

**MA-P Microbiologie des aliments**

MA-P15

**Réseaux d'interactions bactériennes au sein du microbiome des produits de la mer en vue d'un procédé de biopréservation raisonnée**

Delphine Passerini (delphine.passerini@ifremer.fr), Laetitia Kolypczuk, Françoise Leroi

MASAE/EM3B, IFREMER, Nantes, France

**Introduction et objectifs :**

La biopréservation est une méthode de conservation des aliments qui s'appuie sur les compétitions bactériennes. Elle consiste à inoculer des bactéries lactiques ou des molécules issues de leur métabolisme dans la matrice alimentaire afin d'empêcher le développement de microorganismes indésirables. Plusieurs exemples ont montré l'efficacité de la biopréservation des produits de la mer, notamment pour cibler le pathogène *Listeria monocytogenes*. Cependant, cette approche est plus complexe quand plusieurs espèces sont ciblées pour empêcher la dégradation organoleptique. Aujourd'hui, la biopréservation reste une méthode empirique, où les mécanismes sous-jacents restent peu connus. Chaque matrice et chaque condition de stockage nécessite la sélection de souches protectrices appropriées, probablement car leur efficacité dépend de la composition du microbiote endogène et de sa dynamique. Le projet ANR JCJC SEABIOMIC a pour objectif de décrire les réseaux d'interactions bactériennes du microbiome du saumon dans sa globalité, afin de comprendre les effets de l'addition de souches protectrices sur la dynamique du microbiome. L'étude des voies de biosynthèse de molécules antimicrobiennes et de leur régulation, permettront de mieux comprendre les facteurs déclenchant les compétitions bactériennes au cours de la conservation du produit.

**Matériels et méthodes :**

Cent souches isolées de microbiote de saumon, représentant 28 genres bactériens, ont été sélectionnées dans la collection du laboratoire. Des inhibitions croisées 2 à 2 ont été réalisées par des méthodes miniaturisées en milieu solide et en milieu liquide. En parallèle, le génome de chaque souche a été séquencé, assemblé et annoté. Les clusters de gènes pouvant être impliqués dans la synthèse de composés antimicrobiens, en particulier les peptides antimicrobiens synthétisés ou non par voie ribosomique (bactériocines non modifiées, RiPPs, NRPs) ont été mis en évidence par l'analyse *in silico* des génomes.

**Résultats, discussion conclusion :**

Les inhibitions croisées des 100 souches sélectionnées et l'étude génomique ont permis de mettre en évidence un réseau d'interactions bactériennes et un important potentiel synthétique de molécules antimicrobiennes à l'échelle du microbiome. Cette première étape du projet a permis de sélectionner des couples de souches modèles pour étudier l'impact de facteurs biotiques et abiotiques sur les compétitions bactériennes par transcriptomique.

*Mots clés* : Compétitions bactériennes - Produit de la mer - Génomique - Composés antimicrobiens - biopréservation.

## MA-P Microbiologie des aliments

MA-P16

**Carbon metabolism in *Streptococcus thermophilus*: regulation and diversity within the species**

Françoise Suzanne Rul<sup>1</sup> (francoise.rul@inrae.fr), Cécile Gasser<sup>2</sup>, Peggy Garault<sup>3</sup>, Christian Chervaux<sup>3</sup>, Veronique Monnet<sup>1</sup>, Jean-Michel Faurie<sup>3</sup>

<sup>1</sup> UMR Micalis, INRAE, Jouy-en-Josas, France

<sup>2</sup> global-bioenergies, Evry, France

<sup>3</sup> Danone Nutricia Research, Palaiseau, France

The lactic acid bacterium *Streptococcus thermophilus* is widely used in food production, notably in yogurt fermentation. It evolved under highly specific ecological conditions, resulting in its ability to efficiently metabolize lactose, the main saccharide in milk. However, when used in sweetened dairy products or plant-based products, *S. thermophilus* may encounter other saccharides (i.e. alone or in mixtures). To date, the bacterium's metabolic capacities in such contexts have been poorly characterized. The research described here evaluated as a whole the sugar metabolism patterns of 39 *S. thermophilus* strains represented in industrial and public collections and investigated the regulatory mechanisms involved in sugar use.

Exploiting genomic, growth, and acidification data, we discovered that *S. thermophilus* uses a small number of sugars among lactose, sucrose, glucose, galactose, and fructose. While the strains displayed little genetic variability (in nucleotide sequences, synteny), they nonetheless differed in their abilities to utilise specific saccharides. Furthermore, we found that lactose and sucrose were co-consumed when supplied in saccharide mixes and that the ScrA transporter vehicles both sucrose and glucose [1].

In the LMD-9 strain, the expression of carbon metabolism (CM) genes was monitored via a transcriptional fusion approach, both in single and mixes of saccharides. We discovered that lactose and glucose repressed promoter activity for several CM genes (*lacS*, *scrA*, *ccpA*, *fruR*, and *yxfA*), including the promoters of their own transport-encoding genes. We determined that CcpA played a key role in these regulations and that the glycolytic flux matches with CM operon activity.

Overall, we proposed a model of CM regulation where the catabolic repression of the CM genes *S. thermophilus* by glucose and lactose occurs via autoregulation (repression of LacS and ScrA transporters) and hierarchical use of saccharides (lactose repression of sucrose use and glucose repression of lactose use).

**Mots clés :** Biodiversity - Genomic comparison - Catabolic repression - Lactic acid bacteria - Saccharide consumption.

## Références :

1. Gasser C, Garault P, Chervaux C, Monnet V, Faurie J –M, and Rul F. Co-utilization of saccharides in mixtures: moving toward a new understanding of carbon metabolism in *Streptococcus thermophilus*. Food Microbio. Accepted for publication.

## MA-P Microbiologie des aliments

MA-P17

**Biodiversité microbienne et potentiel antimicrobien du kéfir de fruits, une boisson fermentée artisanale**

Corinne Teyssier<sup>1</sup> (corinne.teyssier@umontpellier.fr), Marine Belamy<sup>1,2,3</sup>, Les étudiants Master 1 IMHE<sup>4</sup>, Donika Krasteva<sup>2</sup>, Luis Portillo Lemus<sup>3</sup>, Frédéric Boudard<sup>1</sup>, Alyssa Carré-Mlouka<sup>5</sup>, Françoise Fons<sup>3</sup>, Vincent Chochois<sup>1</sup>, Virginie Bellet<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UMR 95 Qualisud, Univ Montpellier, CIRAD, Avignon Univ, Institut Agro, IRD, Université Réunion, Montpellier, France

<sup>2</sup> UMI 233 TransVIHMI, INSERM U1175, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> UMR 5175 CEFE, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>4</sup> Master 1 Biologie-Agrosciences, Interactions Microorganismes-Hôtes-Environnement, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>5</sup> UMR DGIMI, INRAE 1333, Université de Montpellier, Montpellier, France

**Introduction et objectifs :**

Le kéfir est une boisson fermentée acidulée et légèrement pétillante. Sa préparation artisanale se réalise à partir de grains blancs translucides, traditionnellement échangés entre familles. Les grains de kéfir contiennent une communauté microbienne symbiotique complexe constituée de bactéries lactiques, de bactéries acétiques et de levures, enchâssée dans une matrice exopolysaccharidique insoluble. Ces grains sont incubés avec du lait ou de l'eau sucrée additionnée de fruits, des solutions riches en sucres dont la fermentation permet la croissance microbienne, et aboutit à la production d'éthanol, d'acide lactique, d'acide acétique ainsi que de glycérol, de mannitol et de composés volatils participant à la texture et aux arômes de la boisson (1,2). Le kéfir est réputé pour ses effets bénéfiques sur la santé liés à la présence de microorganismes probiotiques. Des extraits de kéfir ont notamment démontré leur capacité à inhiber la croissance de pathogènes alimentaires grâce à la production de peptides antimicrobiens, les bactériocines (3). Les communautés microbiennes des grains de kéfir sont peu caractérisées, et peu d'études se sont focalisées sur le kéfir de fruits. Nous avons donc analysé la biodiversité microbienne et le potentiel antimicrobien d'échantillons de kéfir de fruits de différentes origines.

**Matériels et méthodes :**

Quinze échantillons de kéfir de fruits, collectés auprès de particuliers dans la région de Montpellier en 2022 et 4 échantillons commerciaux ont été étudiés. Les boissons ont été préparées à partir de grains de kéfir selon deux recettes traditionnelles. Tout au long du processus de production, les communautés bactériennes et fongiques ont été analysées par metabarcoding du gène de l'ARNr 16S et de l'ITS (MiSeq, Illumina) et par culture sur milieux sélectifs. Les activités antimicrobiennes vis-à-vis de bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*) et de levures (*Candida* spp.) ont été recherchées en déterminant les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et par antibiose sur milieux gélosés.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'analyse de la biodiversité microbienne montre des communautés bactériennes et fongiques complexes et variables selon la recette. Le potentiel antimicrobien semble faible mais des essais doivent être menés avec des concentrations en kéfir plus représentatives de la consommation journalière réelle de cette boisson.

**Mots clés :** Kéfir de fruits - Fermentation - Biodiversité microbienne - Metabarcoding 16S et ITS - Potentiel antimicrobien.

**Références :**

1. Fiorda FA, de Melo Pereira GV, Thomaz-Soccol V, et al. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. *Food Microbiol.* 2017;66:86-95. doi:10.1016/j.fm.2017.04.004
2. Laureys D, Vuyst LD. Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation. *Appl Environ Microbiol.* 2014;80(8):2564-2572. doi:10.1128/AEM.03978-13
3. Sindi A, Badsha MB, Nielsen B, Ünlü G. Antimicrobial Activity of Six International Artisanal Kefirs against *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis, and *Staphylococcus aureus*. *Microorganisms.* 2020;8(6):849. doi:10.3390/microorganisms8060849



**MA-P Microbiologie des aliments**

MA-P18

**Les biofilms mixtes : une nouvelle stratégie pour la conduite des fermentations du vin**Aurore Palud (aurore.palud@u-bourgogne.fr), Chloé Roullier-Gall, Hervé Alexandre, Stéphanie Weidmann-Desroche

VAIMIS, UMR A PAM, Dijon, France

**Introduction et objectif :**

Les biofilms bactériens ont été particulièrement étudiés dans l'industrie agroalimentaire notamment car ce phénotype est à l'origine de résistances accrues aux stress environnementaux. Dans le domaine de l'œnologie, une étude récente a démontré que sous forme de biofilm, des bactéries d'intérêt étaient capables de persister dans cet environnement drastique et de déclencher efficacement les fermentations malolactiques.

Certaines pratiques viticoles s'intéressent au déclenchement simultané des fermentations (i) alcooliques par les levures de l'espèce *Saccharomyces cerevisiae* et (ii) malolactiques par les bactéries de l'espèce *Oenococcus oeni*. Néanmoins aucune donnée n'est disponible sur la capacité de ces microorganismes à réaliser des biofilms mixtes et à déclencher ces fermentations.

**Matériels et méthodes :**

La capacité de *S. cerevisiae* et *O. oeni* à former des biofilms mixtes sur différents supports retrouvés en vinification a été analysée et des expériences de microscopie électronique à balayage ont permis de caractériser ces biofilms. Puis des expériences de microvinification ont permis d'analyser la capacité de ces biofilms à déclencher les fermentations. La comparaison des différents profils métaboliques obtenus dans les conditions physiologiques différentes (planctoniques versus biofilm sur bois) a été réalisée par LC-MS afin d'évaluer l'impact du mode de vie des ferments sur la qualité organoleptique des vins.

**Résultats, discussion et conclusion :**

*S. cerevisiae* et *O. oeni* sont donc capables de se développer en biofilm sur différents supports tels que l'acier ou le bois. L'utilisation de biofilms mixtes développés sur support bois ont permis de déclencher les fermentations avec une efficacité accrue certainement due à la résistance importante des cellules en biofilms aux stress environnementaux. Ces travaux ont également montré que les pratiques de vinification (ensemencement de bactéries planctoniques ou biofilm) modulent les profils métaboliques des vins.

**Mots clés :** Bactérie lactique - Levures - Biofilm - Fermentations - Vin.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P01

Microbiologie clinique

**L'observatoire du COL.BVH : 22 ans de surveillance de la résistance des bactéries isolées d'hémoculture**

Marlène Amara<sup>1</sup> (mamara@ch-versailles.fr), Olivier Gallon<sup>2</sup>, Pierre Lureau<sup>3</sup>, Jérémie Violette<sup>4</sup>, Patrick Pina<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de biologie médicale, Centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay Rocquencourt, France

<sup>2</sup> Laboratoire de biologie médicale, Centre hospitalier intercommunal Nord-Ardenne, Charleville-Mézières, France

<sup>3</sup> Laboratoire de biologie médicale, Centre hospitalier de Niort, Niort, France

<sup>4</sup> Groupement de Coopération Sanitaire de Saintonge - Laboratoire interhospitalier, Centre hospitalier de Saintonge, Saintes, France

<sup>5</sup> Equipe opérationnelle d'hygiène, Centre hospitalier de Bigorre, Tarbes, France

**Objectif :**

L'observatoire des résistances du COL.BVH participe à la surveillance de l'évolution des résistances des principales bactéries isolées d'hémocultures dans les hôpitaux non universitaires français.

**Méthodes :**

La résistance des souches d'hémocultures cliniquement significatives est collectée chaque année pendant le mois de novembre (44 à 102 laboratoires selon les années).

**Résultats :**

En 2021, les principales espèces bactériennes isolées sont *E. coli* (32%), *S. aureus* (13%), les *Staphylococcus non aureus* (7,3%) et *K. pneumoniae* (6,4%).

La sensibilité d'*E. coli* au céfotaxime est restée stable entre 2000 (98%) et 2006 (97%). Elle a diminué jusqu'en 2016 (88%), puis ré-augmente lentement (2021 : 92%).

Le pourcentage d'*E. coli* BLSE suit l'évolution inverse. Il passe de 0,6% (2000) à 10,5% (2016) puis 7,6% (2021).

L'évolution de la sensibilité de *K. pneumoniae* au céfotaxime a été comparable. Elle diminue entre 2000 (98%) et 2007 (93%), puis s'accélère jusqu'à 2016 (68%). Depuis, la sensibilité remonte légèrement (2021 : 77%). Le pourcentage de *K. pneumoniae* BLSE suit une évolution parallèle (2,1% en 2006 ; 33% en 2016 et 22,9% en 2020).

La sensibilité d'*E. coli* à la ciprofloxacine a suivi une évolution similaire à celle du céfotaxime : diminution régulière de 2000 (96%) à 2011 (83%), puis augmentation jusqu'en 2017 (89%) et stabilisation (2021 : 89%).

Les souches nosocomiales d'*E. coli* restent moins sensibles au céfotaxime et à la ciprofloxacine que celles communautaires (entre 2000 à 2021 : 90% vs 94% pour CTX,  $p < 0,001$  ; 84% vs 89% pour CIP,  $p < 0,001$ ). La proportion de BLSE est plus élevée pour les souches nosocomiales (8,7% vs 4,9%,  $p < 0,001$ ).

Pour *P. aeruginosa*, la sensibilité est stable pour la ceftazidime et l'imipénème (92% en 2001 et 2021), et augmente pour la ciprofloxacine (74% en 2001, 94% en 2021).

La sensibilité de *S. aureus* à la méticilline, restée stable de 2000 (64%) à 2005 (67%), a augmenté régulièrement (2021 : 92%).

**Conclusion :**

La sensibilité des entérobactéries, *P. aeruginosa* et *S. aureus* semble augmenter ces dernières années. A mettre en relation avec les politiques de maîtrise de la consommation des antibiotiques et de la transmission croisée.

**Mots clés :** Hémoculture - Céfotaxime - Ciprofloxacine - BLSE - SARM.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P02

Microbiologie clinique

**Epidemiology of French *Legionella longbeachae* isolates over 20 years**

Christophe Ginevra<sup>1,2,3</sup> (christophe.ginevra@chu-lyon.fr), Camille Allam<sup>1,2</sup>, Marine Ibranosyan<sup>1,2</sup>, Ghislaine Descours<sup>1,2</sup>, Laetitia Beraud<sup>1</sup>, Sophie Jarraud<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> CNR Legionella, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> Centre International de Recherche en Infectiologie, Legiopath, Inserm U1111, UCB Lyon 1, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, Lyon, France

<sup>3</sup> Plateforme Genepii, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Aim:**

Studying the epidemiology of *Legionella longbeachae* in France.

**Method:**

Whole genome sequencing of all French *L. longbeachae* isolated since 2003.

Downloading of all *L. longbeachae* reads from Sequence Read Archive of the NCBI database.

Comparative genomics of all sequences by assembling genomes and mapping sequences against NSW150 reference genome.

**Results:**

Between 2003 and 2022, 45 *L. longbeachae* were isolated and sequenced in France. Five were environmental isolates and 40 were clinical isolates. *L. longbeachae* were isolated from 28 towns all over the country. In the global analyses including SRA data, genomes shared 21 692 SNPs with 2 main clusters, the first one including most genomes with SNPs ranging from ~ 100 to 2000 SNPs. And the second cluster of 9 genomes with SNPs around 17000 SNPs. In this cluster, 2/9 genomes were from our dataset and one of them was the strain B3526CHC, a *L. longbeachae* serogroup 2 suggesting that this cluster of 9 isolates belong to serogroup 2. The other French genomes were scattered throughout the tree.

**Conclusions:**

Most of French *L. longbeachae* belong to serogroup 1 and displayed the same level of diversity than genomes from international database.

*Mots clés* : Legionella longbeachae - WGS - Epidemiology.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P03

Microbiologie clinique

**Amplicon-based next-generation sequencing revealed co-infections by several *Legionella* species**

Justine Lannes<sup>1</sup> (justine.lannes@free.fr), Laetitia Beraud<sup>1</sup>, Camille Allam<sup>1,2</sup>, Marine Ibranosyan<sup>1,2</sup>, Ghislaine Descours<sup>1,2</sup>, Sophie Jarraud<sup>1,2,3</sup>, Christophe Ginevra<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> CNR *Legionella*, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> Centre International de Recherche en Infectiologie, Legiopath, Inserm U1111, UCB Lyon 1, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, Lyon, France

<sup>3</sup> Plateforme Genepii, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Aims:**

To optimize our PCR method for identification of *Legionella* species from culture-negative specimens which remained sometimes unsuccessful due to unspecific cross reactions with human DNA and/or other microorganisms and/or other *Legionella*.

**Methods:**

Transfer of our PCR method targeting the 23S-5S intergenic spacer from a Sanger to an Illumina® sequencing method (NGS-PCR). Amplicon were generated from respiratory samples DNA extracts using high fidelity taq polymerase. Libraries were prepared using DNAPrep library preparation kit (Illumina®) and sequenced using 2x150bp paired-end technology. Data were analysed using a blast-based in-house bioinformatics pipeline.

**Results:**

Thirty-one samples with successful amplification but unsuccessful Sanger sequencing were analysed using NGS-PCR. Eight were negative, 20 were positive for one *Legionella* species and three were positive for two *Legionella* species: two co-infections *L. pneumophila* / *L. longbeachae* and one *L. pneumophila* / *L. micdadei*.

**Conclusions:**

23S-5S NGS-PCR allowed getting results from failed Sanger sequencing due to cross contaminations for 20 samples. It allowed identifying three Co-infections by two *Legionella*Species.

*Mots clés* : Targetted NGS - Co infection - Legionella.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P04

Microbiologie clinique

**Pharmacological activation of NRF2 has protective effects during *Mycobacterium abscessus* infection by promoting host defences and reducing inflammatory damage**

Audrey Bernut<sup>1,2</sup> (audrey.bernut@umontpellier.fr), Annemarie Fortuin<sup>1</sup>, Marion Lagune<sup>2</sup>, Maxence Frétaud<sup>3</sup>, Andres Floto<sup>4</sup>, Christelle Langevin<sup>3</sup>, Jean-Louis Herrmann<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Pathogen Host Interactions, UMR 5235, CNRS/UM, Montpellier, France

<sup>2</sup> Infection et Inflammation, UMR 1173, Inserm/UVSQ, Montigny-le-Bretonneux, France

<sup>3</sup> Infectiologie Expérimentale des Rongeurs et des Poissons, UE 0907, INRAe, Jouy-en-Josas, France

<sup>4</sup> MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, Royaume-Uni

**Introduction and Objectives:**

Pulmonary disease is the leading cause of morbidity in cystic fibrosis (CF), a genetic disease caused by mutations in the CF transmembrane conductance regulator (CFTR), and is characterised by a repetitive circle of infection and inflammation. Among the bacteria found in CF, the multidrug-resistant *Mycobacterium abscessus* (Mabs) is associated with severe infection and inflammatory lung damage, and are often refractory to antibiotic therapy. Therefore, we examined whether the immune-targeted compound Curcumine, an activator of NRF2, might provide a beneficial effect against Mabs infection in the context of CF.

**Methods:**

Herein, using CFTR-depleted zebrafish larvae as an innovative model of inflammation and infection, combined with human approaches, we sought to determine the effects of curcumine on host immune responses to Mabs infections in CF condition.

**Results, Discussion and Conclusion:**

Firstly, we show that curcumine exerts anti-inflammatory effects in neutrophilic inflammation induced by Mabs infection and/or injury in CFTR-depleted zebrafish. As a consequence, the reduced number of neutrophils at infected sites prevents tissue damage and abnormal tissue repair. Curcumine reduces overactive neutrophil trafficking and improves tissue repair by restoring NRF2 activity in CF animals. Our findings demonstrate that sufficient modulation of NRF2 function alleviate Mabs-induced inflammatory damage in CF context. Next, while curcumine has no direct antibacterial activity against Mabs, we found that treatment efficiently enhances intracellular bacterial killing of Mabs in THP1 macrophages. Moreover, our results indicated that curcumine improves the control of Mabs infections in CF zebrafish, correlating with reduced larval mortality and bacterial loads. We show that curcumine-driven NRF2 activation enhances the production of ROS in zebrafish professional phagocytes, demonstrating that NRF2 is instrumental to efficiently restrict the intracellular growth of Mabs, thereby preventing extracellular mycobacterial spread and more severe infection in CF. These results highlight the crucial role of NRF2 in the immune control of Mabs by mounting effective oxidative responses.

Our findings bring important new understanding of the immune-targeted action of curcumine and show that therapeutic strategies to normalise NRF2 activity might simultaneously enhance bacterial killing and promote inflammation resolution and tissue repair thus prevent infectious and inflammatory lung damage in CF.

**Mots clés :** *Mycobacterium abscessus* - Cystic fibrosis - nrf2 - Curcumine - Zebrafish.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P05

Microbiologie clinique

## Évaluation et retour d'expérience sur l'utilisation d'une PCR multiplex appliquée aux hémocultures

Hugo Boijout (hboijout@ch-lourdes.fr)

Laboratoire de biologie, Centres Hospitaliers de Tarbes et Lourdes, Lourdes, France

Le sepsis est une situation d'urgence nécessitant l'instauration rapide d'un traitement antimicrobien efficace. L'hémoculture est l'examen de référence pour documenter cette infection, identifier le germe en cause (bactérie ou levure) et déterminer sa sensibilité aux antibiotiques/antifongiques.

Les techniques classiques de microbiologie avec mise en culture et antibiogramme restent dépendantes du temps de pousse du germe en cause, d'abord dans le flacon puis en milieu de culture solide ou liquide. Un résultat déterminant pour la prise en charge clinique du patient peut être obtenu avant cette 2<sup>e</sup> étape de pousse, grâce à l'identification du germe et de certains gènes d'antibiorésistance par PCR multiplex sur le bouillon d'hémoculture. Nous présentons ici les performances de ce système de diagnostic multiplex Genmark sur plus de 2000 flacons d'hémoculture, soit le 1<sup>er</sup> flacon de chaque patient, dans le laboratoire du CH de Tarbes-Lourdes, de 2019 à 2021.

**ANNULÉ**

Le germe responsable du sepsis a été identifié dans 93% des cas par biologie moléculaire. Le taux de non-détection d'un germe inclus dans les cibles du panel est très faible (1,2%). Le ciblage des gènes *bla*<sub>ctx-M</sub> pour détecter les entérobactéries productrices de BLSE a permis d'identifier la production de BLSE dans 92% des cas (vs antibiogramme). La détection des gènes *mecA/C* a mis en évidence la méticillino-résistance de *Staphylococcus aureus* dans 100% des cas (vs antibiogramme).

Cette méthode de diagnostic microbiologique appliquée aux hémocultures permet une diminution rapide du délai de rendu d'un résultat cliniquement significatif. Les performances du système étudié sont satisfaisantes. Malgré un coût de l'analyse largement augmenté, un bénéfice sur la prise en charge globale du patient est attendu.

La performance et la simplicité de l'analyse engagent à mettre en œuvre ces techniques sur des sites périphériques non pourvus d'un laboratoire de microbiologie. Dans le contexte de notre laboratoire hospitalier bi-site, nous développons à présent cette approche afin d'incuber rapidement les hémocultures prélevées en période de permanence des soins et significativement réduire le délai de rendu.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P06

Microbiologie clinique

**Identification d'une marque épigénétique persistante suivant une infection par *Streptococcus pneumoniae***Christine Chevalier<sup>1</sup> (christine.chevalier@pasteur.fr), Justine Matheau<sup>1,2</sup>, Claudia Chica<sup>3</sup>, Melanie Hamon<sup>1</sup><sup>1</sup> Unité Chromatine et Infection, Département de Biologie Cellulaire et Infection, Institut Pasteur, Paris, France<sup>2</sup> Ecole doctorale 562 Bio Sorbonne Paris Cité, Université de Paris, Paris, France<sup>3</sup> Hub Bioinformatique et Biostatistique, Institut Pasteur, Paris, France**Introduction :**

L'expression des gènes chez les eucaryotes est régulée par des modifications de la structure de l'ADN au niveau de la chromatine, car celle-ci contrôlent l'accès de la machinerie transcriptionnelle aux régions promotrices. Des études ont montré que les modifications de la chromatine, au niveau des protéines d'histones, induites par des pathogènes bactériens interfèrent avec le programme transcriptionnel de l'hôte et favorisent l'infection <sup>1,2</sup>.

**Objectifs :**

Étant donné que les modifications de la chromatine peuvent être héréditaires ou persister après l'élimination du stimulus initial, nous émettons l'hypothèse que l'infection peut laisser des marques épigénomiques établissant une mémoire de l'infection.

**Matériel et méthodes :**

Nous utilisons comme modèle la bactérie *Streptococcus pneumoniae*, colonisateur naturel de l'épithélium respiratoire et pathogène opportuniste. En utilisant ce modèle en infection de cellules épithéliales, nous étudions les modifications d'histones induites par les bactéries et ne manière persistantes après traitement antibiotique.

**Résultats et conclusion :**

Nous avons identifié une diméthylation de l'histone H3 sur la lysine 4 (H3K4me2) comme maintenue 7 jours après infection. Cette marque est induite par une infection, détectée dès 2 jours post-infection et corrèle avec des différences transcriptomiques. Bien que le rôle de H3K4me2 dans l'infection soit actuellement à l'étude, il s'agit de la première preuve qu'une infection laisse une marque épigénomique après la clairance bactérienne, ce qui pourrait jouer un rôle dans la mémoire transcriptionnelle et la réponse à une seconde infection.

**Mots clés :** Infection - Interaction hôte - Pathogène - *Streptococcus pneumoniae* - Chromatine.

**Références :**

1. Connor, M., Arbibe, L. & Hamon, M. Customizing host chromatin: A bacterial tale. *Microbiol. Spectr.* 7, (2019)
2. Dong, W. & Hamon, M. A. Revealing eukaryotic histone-modifying mechanisms through bacterial infection. *Semin. Immunopathol.* (2020) doi:10.1007/s00281-019-00778-9.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P07

Microbiologie clinique

**Isoform-dependent regulation of a human stress-response factor upon *Listeria monocytogenes* infection**Morgane Corre (mcorre@bio.ens.psl.eu)

S2 - Equipe Infection et Devenir de l'ARN, IBENS, Paris, France

Upon infection with the bacteria *Listeria monocytogenes* (*Lm*), the gene expression of the host gets thoroughly reshuffled. To investigate which genes were affected at their RNA maturation level, our team generated long-read transcriptomes over the course of an infection [1]. Bioinformatic analyses pointed CIRBP as one of the most regulated genes. This key stress-response factor, involved in essential cellular processes, switches from one main mRNA isoform (CIRBP-201) to another (CIRBP-210) in the late stages of infection. These isoforms mainly differ in their 3'-UTRs, rendering the latter sensible to degradation and less stable for protein translation, hence an observed decrease in protein levels of CIRBP.

To investigate the isoform-specific impact on infection, both were respectively silenced in an epithelial cell line using isoform-specific siRNAs prior to infection, then the number of bacteria per cell was quantified for each condition. To identify the bacterial factor responsible for the switch, cells were infected with *Lm* mutant strains, which pointed to the Listeriolysin O (LLO), a pore-forming toxin, as a candidate. To validate its role in the switch, the LLO protein was purified along other pore-forming toxins, then the isoform switch was quantified by RT-qPCR on RNA from cells exposed or not to the toxin. Downstream of LLO, the human kinase CLK1 was expected to mediate the isoform switch, what was assessed using its specific inhibitor TG003. The identification of CIRBP targets was performed by RNA-immunoprecipitation followed by sequencing.

It was found that CIRBP switches as a consequence of the haemolytic activity of the main virulence factor from *Lm* — LLO— and can also be triggered by other pore-forming toxins of the same family. LLO-induced stress (infection-related or purified toxin-related) leads to the inhibition of CLK1, which has been shown to shift alternative splicing in favor of CIRBP-210 [2-3]. Infection rate assessment upon isoform silencing revealed that CIRBP-210 acts anti-bacterial whilst its counterpart CIRBP-201 acts pro-bacterial. CIRBP isoform switch could contribute to tuning the host defense response against *Lm*. Finally, CIRBP targets identification provides hints about the cellular pathways affected by this switch, and their role in sealing the fate of the infection outcome.

**Mots clés :** Infection - Alternative splicing - RNA - Stress - *Listeria monocytogenes*.

## Références :

1. Besic V, Habibolahi F, Noël B, Rupp S, Genovesio A, Lebreton A. Coordination of transcriptional and translational regulations in human epithelial cells infected by *Listeria monocytogenes*. *RNA Biol.* 2020 Oct;17(10):1492-1507.
2. Haltenhof T, Kotte A, De Bortoli F, Schiefer S, Meinke S, Emmerichs AK, et al. . A Conserved Kinase-Based Body-Temperature Sensor Globally Controls Alternative Splicing and Gene Expression. *Mol Cell.* 2020 Apr 2;78(1):57-69.e4.
3. Ninomiya K, Kataoka N, Hagiwara M. Stress-responsive maturation of Clk1/4 pre-mRNAs promotes phosphorylation of SR splicing factor. *J Cell Biol.* 2011 Oct 3;195(1):27-40.



## MC-P Microbiologie clinique

MC-P08

**Evolutionary and Functional Analysis of Fibronectin Binding-like proteins and related adhesion and internalization among the Staphylococci**

Deborah Crepin<sup>1</sup> (deborah.crepin@univ-lyon1.fr), Melanie Bonhomme<sup>1</sup>, Clara Sinel<sup>1</sup>, Allison Faure<sup>1</sup>, Alan Diot<sup>1</sup>, Frederic Laurent<sup>1, 2, 3</sup>, Jerome Josse<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup> Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Inserm U1111, UMR5308, ENS Lyon, UCBL1, Lyon, France

<sup>2</sup> Centre National de Référence des Staphylocoques, Institut des Agents Infectieux, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>3</sup> Centre Interrégional de Référence des Infections Ostéo-Articulaires complexes, (CRIOAc Lyon), Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Introduction and Objectives:**

*Staphylococcus aureus* internalization in non-professional phagocytic cells (NPPC) allows it to escape from antibiotics and immune system of the infected host. Its main internalization pathway into NPPCs is “fibronectin-binding protein (FnBP)-fibronectin-integrin  $\alpha 5\beta 1$ ” dependent [1]. The bacterial adhesin FnBP binds to fibronectin from the extracellular host matrix which itself binds to the host cellular receptor integrin  $\alpha 5\beta 1$ . Subsequently, the formation of this bacterial-host bridge induces a conformational change of the actin cytoskeleton leading to *S. aureus* internalization [2]. FnBP is composed of a N-terminus signal sequence, an A domain, fibronectin-binding repeats region which are tandemly arranged motifs and a C-terminus sorting signal.

The aim of our study was to i) investigate the capacity of staphylococci to internalize into NPPCs and ii) to decipher the FnBP-like protein acquisition through species evolution.

**Materials and Methods:**

A collection of reference strains representing 57 different staphylococcal species was used i) to perform *in silico* genome analysis to identify *fnb*-like homologs, ii) to explore the adhesion to fibronectin by *in vitro* assays, iii) to investigate internalization into NPPCs using osteoblasts MG63 using a gentamycin protection assays. *S. aureus* 8325-4 was used as positive control.

**Results, Discussion and Conclusion:**

*In silico* analysis highlighted 23 FnBP-like proteins harboring a range of 7 to 15 fibronectin-binding repeats in 17 species. Adhesion to fibronectin assays displayed 7 strains with a higher adhesion rate than the positive control, 19 strains with an adhesion level corresponding to 20 to 100 % of the control and 31 strains with lower or no fibronectin adhesion ability. The internalization experiments revealed that all the strains harboring at least one FnBP-like protein invade osteoblasts except for *S. intermedius* as its FnBP-like protein lacks a peptid-signal sequence. Surprisingly, *S. capitis* and *S. saprophyticus* were internalized while no *fnb*-like genes were detected in their genome suggesting a novel internalization pathway to be deciphered.

Our study is the first to propose a global overview of adhesion and internalization abilities within staphylococcal species. Our data showed that FnBP-like proteins are widespread among staphylococci and distributed in different clusters which suggests independent acquisition of *fnb*-like genes.

**Mots clés :** Staphylococcus non-aureus - Fibronectin-binding protein - Adhesion - Internalization - Evolution.

**Références :**

1. Josse J, Laurent F, Diot A. Staphylococcal Adhesion and Host Cell Invasion: Fibronectin-Binding and Other Mechanisms. *Front Microbiol.* 2017;8:2433.
2. Foster TJ. Surface Proteins of Staphylococcus aureus. *Microbiol Spectr.* 2019 Jul;7(4).

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P09

Microbiologie clinique

**Sequential culture of respiratory samples highlighted a triple infection by *Legionella pneumophila***

Christophe Ginevra<sup>1,2,3</sup> (christophe.ginevra@chu-lyon.fr), Marine Ibranosyan<sup>1,2</sup>, Laetitia Beraud<sup>1</sup>, Camille Allam<sup>1,2</sup>, Ghislaine Descours<sup>1,2</sup>, Sophie Jarraud<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> CNR Legionella, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> Centre International de Recherche en Infectiologie, Legiopath, Inserm U1111, UCB Lyon 1, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, Lyon, France

<sup>3</sup> Plateforme Genepii, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Sputa of a patient with positive urinary antigen test were sampled and cultured at day 1, day 2 and day 3 post diagnosis. Samples were all positive for *L. pneumophila* cross reacting with serogroup 6, 7 and 12 antibodies. Five colonies of each culture were stored in our strain collection. Three isolates were sequenced (one of each day) and two different STs sharing only two alleles were identified from WGS data highlighting a mix infection by several *Legionella pneumophila* strains. To evaluate the diversity of the Legionella population present in the patient's samples, all the 12 remaining stored isolates (four for each day) of this patient were sequenced. Among the 15 sequenced isolates, three STs were identified: ST1318, ST1136 and a new ST. At least two STs were isolated each day and the three STs were isolated from the same sample (Day 3).

Genotyping of only one isolate from one patient's sample may lead to under estimation of *Legionella pneumophila* co-infection. Systematic typing of several isolates (when available) or development of other alternative molecular methods should be of concern to evaluate the occurrence of co-infections by *Legionella*.

**Mots clés :** Legionella - Co infection - WGS.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P10

Microbiologie clinique

**Culture-free genome comparison using shotgun deep sequencing**

Christophe Ginevra<sup>1,2,3</sup> (christophe.ginevra@chu-lyon.fr), Laetitia Beraud<sup>1</sup>, Camille Allam<sup>1,2</sup>, Marine Ibranosyan<sup>1,2</sup>, Ghislaine Descours<sup>1,2</sup>, Sophie Jarraud<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> CNR Legionella, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> Centre International de Recherche en Infectiologie, Legiopath, Inserm U1111, UCB Lyon 1, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, Lyon, France

<sup>3</sup> Plateforme Genepii, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Aim:**

To perform epidemiological investigations in absence of *Legionella pneumophila* isolates.

**Method:**

Shotgun Illumina® sequencing of respiratory samples from Legionnaires' Disease (LD) patients with or without prokaryotic DNA enrichment using the NEBNext® Microbiome DNA Enrichment Kit (NEB).

**Results:**

Two respiratory samples from a culture-positive LD case were sequenced after prokaryotic DNA enrichment. The quality metrics of the assemblies from shotgun data were similar to those from the isolate data. Twelve samples were deeply sequenced without enrichment. At least one *Legionella* read could be obtained for eleven samples; only one complete genome could be assembled. It was a culture negative sample of a patient for whom two culture-positive samples were previously obtained. The quality metrics of the assembly from shotgun data were similar to those from isolates data of the previous samples. In both cases they were no SNPs between genomes from shotgun and isolates.

**Conclusions:**

Complete genomes could be assembled from shotgun sequencing. Prokaryotic DNA enrichment seems to improve the yield of *Legionella* specific reads.

*Mots clés* : Shotgun sequencing - Enrichment - Assembly.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P11

**Caractérisation phénotypique de l'interaction *Staphylococcus aureus*/*Helcococcus kunzii* dans un modèle de plaie chronique**

Benjamin Durand<sup>1</sup> (durand.b.pro@outlook.fr), Gwénaëlle Migne<sup>1</sup>, Alix Pantel<sup>1</sup>, Alain Lecoustumier<sup>2</sup>, Jean-Phillippe Lavigne<sup>1</sup>, Catherine Dunyach-Remy<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U1047 Département de Microbiologie et d'Hygiène Hospitalière, UM - CHU - INSERM, Nîmes, France

<sup>2</sup> Analyses Biologie Médicale, CH de Bigorre, Tarbes, France

Les plaies chroniques sont le siège d'interactions bactériennes. *Helcococcus kunzii*, un commensal de la peau, a la capacité d'interagir avec *Staphylococcus aureus* en modulant sa virulence.

L'objectif de ce travail est de caractériser phénotypiquement les interactions existantes entre ces deux bactéries en étudiant des souches cliniques de *S. aureus* et *H. kunzii* co-isolées de plaies chroniques.

A partir des souches cliniques de *S. aureus* et *H. kunzii*, des courbes de croissance ont été réalisées afin de comparer leur profil de croissance en mono et co-culture. Deuxièmement, une étude de la cinétique de formation du biofilm a été réalisée en mono et co-culture en se focalisant sur i) la phase précoce d'adhésion par biofilm Ring Test et ii) sur la formation du biofilm mature (test au cristal violet et dénombrement de la biomasse viable en biofilm jusqu'à 72h). Finalement, l'évolution de la tolérance de *S. aureus* à 4 antibiotiques en présence de *H. kunzii* a également été évaluée.

La comparaison des profils de croissance d'*H. kunzii* et de *S. aureus* en mono et co-culture montre que la croissance de *S. aureus* n'est pas impactée par la présence d'*H. kunzii*. La vitesse de multiplication d'*H. kunzii* est, quant à elle ralentie par la présence de *S. aureus*. D'autre part, la capacité à former du biofilm par *S. aureus* n'est pas modifiée en présence d'*H. kunzii* dans les phases précoces d'adhésion. En revanche, alors qu'*H. kunzii* adhère plus difficilement, il permettrait à *S. aureus* de former un biofilm plus dense lors de leur association. Enfin, le profil de tolérance de *S. aureus* aux antibiotiques semble évoluer en présence d'*H. kunzii* en particulier vis-à-vis de l'érythromycine.

Ces résultats montrent qu'alors que les caractères phénotypiques concernant la croissance chez *S. aureus* évoluent peu en présence d'*H. kunzii*, la formation d'un biofilm mixte plus dense associant *H. kunzii* et *S. aureus* pourrait favoriser la communication entre ces deux espèces et expliquer l'impact de celui-ci sur *S. aureus* en termes de virulence et de tolérance aux antibiotiques.

**Mots clés :** Cinétique de croissance - Biofilm - Antibiorésistance - Adhésion - Interactions bactérienne.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P12

Microbiologie clinique

A propos de 11 cas de bactériémies à *Rhizobium radiobacter*

Wasfi Fillali<sup>1</sup> (wasfi.fillali@chu-limoges.fr), Anne Cypierre<sup>2</sup>, Christian Martin<sup>1</sup>, Fabien Garnier<sup>1,3</sup>, Nadia Hidri<sup>1</sup>, Aurélie Chabaud<sup>1</sup>, Olivier Barraud<sup>1,3</sup>, Marie-Cécile Ploy<sup>1,3</sup>, Sylvain Meyer<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Limoges, Limoges, France

<sup>2</sup> Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Limoges, Limoges, France

<sup>3</sup> UMR INSERM 1092/RESINFIT, Université de Limoges, Limoges, France

**Introduction :**

*Rhizobium radiobacter* est un bacille à Gram négatif aérobic environnemental, associé à des bactériémies chez l'Homme [1]. Plusieurs études ont montré une diversité des profils de sensibilité aux antibiotiques [2-4]. L'objectif de notre étude a consisté à analyser les profils de sensibilité des souches de *R. radiobacter* isolées au CHU de Limoges.

**Matériel et méthodes :**

Notre étude rétrospective monocentrique réalisée au laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène du CHU de Limoges inclut la totalité des souches de *R. radiobacter* isolées d'hémocultures de 2015 à 2022. L'identification a été réalisée par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Vitek<sup>®</sup>MS ; bioMérieux). Les CMI ont été déterminées par la technique de diffusion d'un gradient d'antibiotique Epsilometer (E-Test<sup>®</sup> ; bioMérieux) en milieu gélosé pour les antibiotiques suivants : amoxicilline, ceftazidime, ceftriaxone, imipénème, ciprofloxacine et triméthoprime-sulfaméthoxazole. La CMI pipéracilline-tazobactam a été déterminée en milieu liquide (UMIC ; Biocentric). Les résultats ont été interprétés selon les paramètres PK/PD de l'EUCAST-CASFM 2022.

**Résultats :**

Onze patients, d'âge moyen 65 ans, ont présenté une bactériémie avérée à *R. radiobacter*. Dix étaient porteurs de matériel de type site implantable ou PICC-line dans l'indication d'un cancer solide (n=8), d'une hémopathie maligne (n=1) ou d'une antibiothérapie au long cours (n=1). La totalité des souches était sensible à dose standard à l'imipénème. Neuf souches étaient sensibles à fortes posologies à la pipéracilline-tazobactam (CMI à 16 mg/L). La résistance à la ceftriaxone (n=7) et à la ceftazidime (n=9) est fréquente. Les autres résistances, moins fréquentes, concernent l'amoxicilline (n=1), l'association sulfaméthoxazole-triméthoprime (n=1) et la ciprofloxacine (n=2). Huit patients ont bénéficié d'une antibiothérapie par pipéracilline-tazobactam (n=5) ou ciprofloxacine (n=3). Le retrait du matériel a été effectué pour sept patients. Aucun décès n'a été rapporté suite à l'épisode infectieux.

**Conclusion :**

Les bactériémies à *R. radiobacter* concernent essentiellement les sujets immunodéprimés ou âgés porteurs de sites implantables ou de cathéters centraux. Les souches isolées présentaient des profils de résistance variés aux différents antibiotiques testés. Les protocoles d'utilisation de la pipéracilline-tazobactam ou des céphalosporines de troisième génération chez les patients immunodéprimés ne semblent pas adaptés pour cette espèce bactérienne. La réalisation de CMI suivant les paramètres PK/PD de l'EUCAST-CASFM est recommandée.

**Mots clés :** Bactériémie - Rhizobium - Résistances - Antibiothérapie.

**Références :**

1. Detrait M, D'Hondt L, André M, Lonchay C, Holemans X, et al. Agrobacterium radiobacter bacteremia in oncologic and geriatric patients: presentation of two cases and review of the literature. Int J Infect Dis. 2008 Nov;12(6):e7-10.
2. Lai CC, Teng LJ, Hsueh PR, Yuan A, Tsai KC, et al. Clinical and microbiological characteristics of Rhizobium radiobacter infections. Clin Infect Dis. 2004 Jan 1;38(1):149-53.
3. Chen CY, Hansen KS, Hansen LK. Rhizobium radiobacter as an opportunistic pathogen in central venous catheter-associated bloodstream infection: case report and review. J Hosp Infect. 2008 Mar;68(3):203-7.
4. Christakis GB, Alexaki P, Alivizatos AS, Chalkiopoulos I, et al IK. Primary bacteraemia caused by Rhizobium radiobacter in a patient with solid tumours. J Med Microbiol. 2006 Oct;55(Pt 10):1453-1456.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P13

Microbiologie clinique

**Comparative whole-genome sequences of *Salmonella* Enteritidis strains isolated from human and animal sources in Tunisia during 2013 – 2014**Boutheina Ksibi<sup>1</sup> (Ksibi-taina@outlook.com), Sonia Ktari<sup>1</sup>, Simon Le Hello<sup>2</sup>, Adnene Hammami<sup>1,3</sup><sup>1</sup> Research Laboratory Microorganismes et Pathologie Humaine « MPH-LR03SP03 », Medical school Sfax-Tunisia, Sfax, Tunisie<sup>2</sup> Groupe de Recherche sur l'Adaptation Microbienne (GRAM 2.0, Normandie Univ, Caen, France)<sup>3</sup> Department of Microbiology, Habib Bourguiba University Hospital Sfax, Tunisia, Sfax, Tunisie**Background and Aim:**

*Salmonella* Enteritidis is the main serovar of *Salmonella enterica* isolated in Tunisia. It is an important cause of salmonellosis in animals and humans. In the current report, we compared the whole-genome of *Salmonella* Enteritidis isolates recovered from human and animal sources in order to investigate their phylogenetic relationships.

**Material and Methods:**

A total of 27 *Salmonella* Enteritidis isolates were recovered from human (n=19) and animal (n=8) sources, between 2013 and 2014 in Sfax (south of Tunisia). These isolates were whole-genome sequenced in Pasteur Institut Paris using Illumina NextSeq550 platform and analyzed (sequence type **ST**, core genome multi-locus sequence typing **cgMLST**, plasmid multi-locus sequence typing, and antimicrobial resistance genotypes) using the Center for Genomic Epidemiology tools. The phylogenetic relationship based on single nucleotide polymorphisms **SNPs** was constructed by mapping all the paired-end reads to the reference genome (GenBank: AM933172).

**Results, Discussion and Conclusion:**

All isolates belonged to ST11 and were classified into ten cgMLST profiles. 23 isolates were positive for a plasmid of the incompatibility group (*IncF*) belonging to FAB types [S1:A-B22] and [S-A-B22].

A phylogenetic tree based on SNPs showed that all isolates were clustered in a monophyletic cluster and one human singleton. Pairwise SNPs differences between the cluster isolates ranged from 1 to 37 SNPs while the singleton differed by 48 and 68 SNPs from clustered isolates. The cluster was divided into 4 subclusters and 6 human singletons. The results of SNPs analysis showed that the *Salmonella* Enteritidis isolates, characterized by the same cgMLST profiles, were subclustered together with less than 12 SNPs. WGS-based analysis revealed that *Salmonella* Enteritidis isolates, recovered from different sources, were grouped together and appeared to be closely related.

*in silico* analyses using ResFinder showed only a single mutation in the *gyrA* gene at codon 87 or 83 conferring resistance to quinolones in 14 human and 4 animal isolates. The isolates belonging to the same subcluster had a similar *gyrA* mutation.

In conclusion, WGS is a powerful tool for the phylogenetic analysis of *Salmonella* Enteritidis. Our study suggests a clonal relationship among the *Salmonella* Enteritidis isolates recovered from human and animal sources.

**Mots clés :** *Salmonella* Enteritidis - Whole genome sequencing - Phylogenetic relationship - Antimicrobial resistance genes.

**MC-P Microbiologie clinique**

MC-P14

Microbiologie clinique

**Fièvre de la vallée du Rift : diagnostic d'une arbovirose peu classique en France métropolitaine, à ne pas méconnaître !**Romain Legros<sup>1,2</sup> (R.Legros@chu-rouen.fr), Julie Gueudry<sup>3,4</sup>, Elodie Alessandri-Gradt<sup>1,2</sup><sup>1</sup> *Laboratoire de Virologie, CHU de Rouen, Rouen, France*<sup>2</sup> *UMR 1311 - Dynamicure, Université de Rouen, Rouen, France*<sup>3</sup> *Service d'Ophtalmologie, CHU de Rouen, Rouen, France*<sup>4</sup> *EA 7510 - ESCAPE, Université de Rouen, Rouen, France*

Nous rapportons le cas d'une patiente de 56 ans, sans antécédent, présentant des céphalées fébriles au retour du Burkina Faso. Elle consulte en ophtalmologie à J15 du retour, pour douleurs oculaires et scotome central bilatéral apparus depuis 5 jours. L'examen clinique révèle une uvéite postérieure bilatérale dont l'imagerie est caractéristique. Au vu du contexte de voyage et devant une lutte anti-vectorielle insuffisante lors du séjour, des sérologies sont réalisées à la recherche d'étiologies infectieuses virales. Les résultats de recherche d'anticorps dirigés contre les principales arboviroses Zika, Chikungunya, Dengue (technique ELISA maison, IRBA Marseille) se révèlent négative. Le tableau ophtalmologique, motive la recherche du virus de la fièvre de la vallée du Rift en 2ème intention, qui s'avère positif (présence d'IgM et IgG). De plus, la cinétique d'évolution sur un second prélèvement à 3 semaines est compatible avec une infection récente du fait de l'ascension du titre d'IgG et persistance des IgM.

La fièvre de la vallée du rift est une arbovirose, causée par un virus à ARN du genre Phlebovirus, essentiellement observée dans les réservoirs animaux bovins. La transmission humaine est rare et se produit par contact direct avec le bétail infecté ou plus rarement par voie vectorielle (piqûre de moustique). Le dernier épisode en France, en 2018, concernait une épidémie de 143 cas humains à Mayotte, en lien avec 126 foyers d'animaux infectés. Les cas d'importation en France métropolitaine sont rares. Les derniers décrits concernaient des militaires au retour du Mali en 2016. Ainsi, notre cas révèle l'émergence possible en métropole de diagnostics de fièvre de la vallée du Rift, diagnostic rare, mais à ne pas méconnaître.

*Mots clés* : Arboviroses - Ophtalmologie - Cas d'importation - Diagnostic sérologique.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P15

Microbiologie clinique

**Entérobactéries et bacilles à gram négatif non fermentaires et Résistances aux carbapénèmes dans les péritonites aiguës généralisées communautaires au CHU de Brazzaville**

Esther Nina Ontsira Ngoyi<sup>1</sup> (esther\_muller2003@yahoo.fr), Tanguy Mieret<sup>2</sup>, Caryne Mboutol Mandavo<sup>3</sup>, Lionnel Moudzele<sup>2</sup>, Marie Elombila<sup>4</sup>, Gilbert Fabrice Otiobanda<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de bactériologie-virologie, CHU de Brazzaville, Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien NGOUABI de Brazzaville, Brazzaville, Congo-Brazzaville

<sup>2</sup> Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien NGOUABI de Brazzaville, Brazzaville, Congo-Brazzaville

<sup>3</sup> Chirurgie pédiatrique, CHU de Brazzaville, Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien NGOUABI de Brazzaville, Brazzaville, Congo-Brazzaville

<sup>4</sup> Réanimation polyvalente adultes, CHU de Brazzaville, Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien NGOUABI de Brazzaville, Brazzaville, Congo-Brazzaville

**Introduction et objectifs :**

Déterminer La résistance aux carbapénèmes des entérobactéries et bacilles à Gram négatif non fermentaires.

**Matériels et méthodes :**

Etude transversale, du 16 décembre 2019 au 16 octobre 2020, chez les patients opérés de péritonite aiguë. Un prélèvement du liquide péritonéal était réalisé en per opératoire et transmis au laboratoire de bactériologie-virologie du CHU de Brazzaville. Culture sur géloses Eosine Bleu de Méthylène et Mueller Hinton. L'identification bactérienne était réalisée sur les galeries Api 20 E de bioMérieux®. L'antibiogramme était réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton et Mueller Hinton + cloxacilline, utilisant les disques Imipénème, Ertapénème, Ticarcilline-acide clavulanique, Témocilline, selon les recommandations du CA-SFM 2019. La confirmation de la présence de carbapénémase était réalisée par la recherche d'une synergie entre l'imipénème et l'acide clavulanique. L'analyse des données a été faite à l'aide du logiciel Epi info version 3.5.1.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'âge moyen des patients était de 27,8 ans  $\pm$  17,4 (extrêmes : 5 et 70 ans). On notait 45 hommes (71,4%) et 18 femmes (28,6%) (sex ratio : 2,5).

Sur les 63 analyses bactériologiques réalisées, 36 (57,1 %) étaient positives et 27 (42,9%) négatives. Les fréquences des bactéries isolées versus la production de carbapénémase : *Escherichia coli* (n : 21 ; 58,3 %/ n : 2 ; 9,5%), *Klebsiella pneumoniae* (n : 4 ; 11,2 %/ n : 3 ; 75%), *Proteus mirabilis* (n : 3 ; 8,4 %/ n : 0 ; 0 %), *Enterobacter cloacae* (n : 2 ; 5,5 %/ n : 1 ; 50%) *Citrobacter freundii* (n : 2 ; 5,5%/ n : 0 ; 0 %), *Pseudomonas aeruginosa* (n : 2 ; 5,5 %/ n : 0 ; 0 %), *Citrobacter koseri* (n : 1 ; 2,8 %/ n : 0 ; 0 %) et *Acinetobacter baumannii* (n : 1 ; 2,8 %/ n : 0 ; 0 %).

La production de carbapénémases était élevée chez *Klebsiella pneumoniae*. Une investigation sur la mise en évidence des carbapénémases grâce aux tests phénotypiques plus évoluées et aux tests moléculaires est recommandée.

**Mots clés :** *Klebsiella pneumoniae* - *Escherichia coli* - Résistance - Carbapénémases.



**MC-P Microbiologie clinique**

MC-P16

Microbiologie clinique

***Mycobacterium tuberculosis* et méningite lymphocytaire au CHU de Brazzaville**

Esther Nina Ontsira Ngoyi<sup>1</sup> (esther\_muller2003@yahoo.fr), Tanguy Mieret<sup>2</sup>, Docteur Mpandzou<sup>3</sup>, Paul Macaire Ossou-Nguiet<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de bactériologie-virologie, CHU de Brazzaville, Faculté des Sciences de la santé, Université Marien NGOUABI de Brazzaville, Brazzaville, Congo-Brazzaville

<sup>2</sup> Faculté des Sciences de la santé, Université Marien NGOUABI de Brazzaville, Brazzaville, Congo-Brazzaville

<sup>3</sup> Service de Neurologie, CHU de Brazzaville, Faculté des Sciences de la santé, Université Marien NGOUABI de Brazzaville, Brazzaville, Congo-Brazzaville

**Introduction et objectifs :**

Le diagnostic biologique de méningite tuberculeuse n'est pas aisé dans les pays en développement. Le but de l'étude a été de déterminer la prévalence de *Mycobacterium tuberculosis* dans les méningites lymphocytaires au CHU de Brazzaville.

**Matériels et méthodes :**

Une étude de type transversale était réalisée au CHU de Brazzaville, du 1er avril au 30 septembre 2021, soit sur une durée de 6 mois.

Elle a porté sur les différents prélèvements de liquide céphalo-rachidien d'aspect lymphocytaire reçus au laboratoire de bactériologie-virologie durant la période d'étude. L'extraction d'ADN a été réalisée en utilisant le Chelex-100® (Bio-Rad ; 100 Résine #1432832).

Les amorces et sondes ont permis d'amplifier la séquence d'ADN de 66 paires de base dans la séquence d'insertion IS6110 de *Mycobacterium tuberculosis*. La PCR en temps réel a été réalisée sur MiniOpticon (Biorad). Les analyses statistiques ont été faites avec le logiciel SPSS 25

**Résultats, discussion et conclusion :**

Durant la période d'étude, 142 Prélèvements de LCS présentaient un aspect macroscopique clair, dont 69 (48,6%) étaient à prédominance lymphocytaire. L'âge moyen des patients était de  $9,41 \pm 15,90$  ; avec une médiane de 1,21. Le sex ratio était de 1,03.

La glycorrachie et protéinorrhachie (moyenne et Ecart type) :  $0,38 \pm 0,12/3,63 \pm 0,95$ .

*Mycobacterium tuberculosis* a été retrouvé dans 5,8% des cas.

La méningite à liquide clair est une pathologie fréquente dans notre contexte. L'analyse cytologique et biochimique a mis en évidence un profil correspondant. Une protéinorrhachie élevée a été observée dans tous les cas, l'hypoglycorachie n'a concerné que *Mycobacterium tuberculosis*. L'amélioration du plateau technique par la systématisation des tests d'amplification génique grâce à la PCR multiplex recherchant de nombreux pathogènes bactériens et viraux sur un seul échantillon et en une seule réaction, permettra de garantir une meilleure recherche étiologique.

**Mots clés :** Liquide céphalo-rachidien - Prédominance lymphocytaire - *Mycobacterium tuberculosis*.

**MC-P Microbiologie clinique**

MC-P17

Microbiologie clinique

**La Rage Humaine : à propos de 51 cas**

Wafaà Salimi (drsalimiwafaa@gmail.com), Ahd Oulad Lahsen, Mustapha Sodqi, Latifa Marih, Hanane Badi, Kamal Marhoum El Filali

*Maladies Infectieuses, centre hospitalier universitaire Ibn Rochd, Casablanca, Maroc*

**Introduction :**

Notre pays déclare une moyenne annuelle de vingtaine de cas de rage humaine, malgré l'élaboration du programme national de lutte contre la rage.

Le but de notre travail est de mettre le point sur les caractéristiques épidémiocliniques et évolutives de cette anthroponose.

**Matériel et méthodes :**

Etude rétrospective descriptive menée au service des maladies infectieuses, décrivant les aspects épidémiologiques, cliniques et évolutifs des patients hospitalisés, entre janvier 2005 et décembre 2021, pour encéphalite rabique.

L'exploitation des données était faite à partir des dossiers médicaux et des registres du service de la médecine légale.

**Résultats :**

Cinquante et un cas de rage humaine étaient notifiés durant la période d'étude, avec une moyenne de 3 cas par an, dont 68,62% des cas étaient rapportés dans le milieu rural (35 cas). L'âge moyen des patients était de 43,74 ans (14-78 ans), avec une prédominance masculine sex ratio 2,64 (37H,14F). Le chien était l'animal en cause dans la majorité des cas (88,23%) et le chat dans 6 cas. La morsure étant le type d'exposition le plus fréquent dans notre étude (94,11%), intéressant préférentiellement les membres supérieurs (72,54%). Six patients ont bénéficié d'une vaccination anti-rabique, dont 3,92% complète et 7,84% incomplète. Un seul patient avait reçu les immunoglobulines. La durée moyenne d'incubation était de 32 jours (11 jours à 2 années). La forme furieuse était prédominante dans 98%. La recherche de l'antigène rabique par immunofluorescence directe et par PCR dans les liquides biologiques effectuée chez 40 patients, était positive dans tous les cas. L'encéphalite était mortelle dans tous les cas après une durée moyenne du séjour hospitalier de 3 jours.

**Conclusion :**

La rage reste un problème majeur de santé publique dans notre pays, son éradication est basée sur une large sensibilisation de la population avec une surveillance et contrôle sanitaire des animaux.

*Mots clés :* Rage - Humaine - Étude.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P18

Microbiologie clinique

***Mycobacterium abscessus* resists the innate cytotoxic response by surviving granzyme-mediated cell lysis of infected phagocytes**

Hamadoun Touré<sup>1</sup> (hamadoun.toure@uvsq.fr), Lee Ann Galindo<sup>1</sup>, Marion Lagune<sup>1</sup>, Simon Glatigny<sup>1</sup>, Isabelle Guéna<sup>2</sup>, Jean-Louis Herrmann<sup>1,3</sup>, Fabienne Girard-Misguich<sup>1</sup>, Sébastien Szuplewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup> U1173 Infection et Inflammation, Inserm/UVSQ, Montigny-le-Brétonneux, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Génétique et Biologie Cellulaire, UVSQ, Montigny-le-Brétonneux, France

<sup>3</sup> Hôpital Raymond Poincaré, APHP, Garches, France

*Mycobacterium abscessus*, an opportunistic human pathogen, is the most pathogenic species among fast-growing mycobacteria, which are predominantly saprophytic. This virulence is due to its ability to survive within the host, causing severe infections that are difficult to eradicate. How *M. abscessus* colonizes and infects the host and what could explain its pathogenicity remain poorly understood. Using primary murine cells and *Drosophila*, we demonstrate that intracellular *M. abscessus* is unaffected by the granzyme-mediated cytolysis of infected phagocytic cells by cytotoxic cells. Indeed, we show the existence of such a population in *Drosophila*, the thanocytes, which induce infected phagocytes apoptosis, depleting the main cell population capable of controlling the infection. *M. abscessus* systemic multiplication is thus favored since the observed antimicrobial peptides production is not required for infection control. These results demonstrate the propensity of *M. abscessus* to resist the host's cytotoxic innate response, reminiscent of that observed with strict pathogenic slow-growing mycobacteria such as *M. tuberculosis*.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P19

Microbiologie clinique

***Cutibacterium acnes* biofilm matrix in bone and prosthesis infection model**

Jennifer Varin Simon (jennifer.varin-simon@univ-reims.fr), Marius Colin, Frédéric Velard, Véronique Vernet Garnier, Céline Mongaret, Sophie Gangloff, Fany Reffuveille

EA4691 BIOS, Université Reims Champagne Ardenne, Reims, France

*Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) related to bone and prosthesis infection (BPI) are difficult to diagnose. In bone environment, *C. acnes* succeeds to escape from the immune system hypothetically by biofilm formation and the ability to be internalized by osteoblastic cells.

The aims of this study were to (i) describe the composition of biofilm matrix on different types of surfaces and (ii) to follow the modification of this biofilm composition after bacterial internalization in osteoblastic cells on titanium and in presence of bone environment factors.

Four *C. acnes* clinical isolates from BPIs and from healthy patients were compared during this study.

The quantity of adhered bacteria on raw or textured titanium was more important than on plastic support, for all strains (2 to 5-fold increase for raw titanium and 2 to 10-fold increase for textured titanium). These results were confirmed by scanning electron microscope.

Biofilm matrix composition was evaluated by specific fluorescent probes and confocal microscopy observations. Compared to biofilm formed on plastic support, the matrix formed on raw titanium was composed of more proteins for all strains (10-fold increase) and for biofilm developed on textured titanium, matrix was composed of more proteins (10-fold increase) and polysaccharides (3 to 12-fold increase), for BPI strains only.

The effect of bacteria internalization in host cells was studied. *C. acnes* liberated from osteoblast cells after their internalization were collected and their adhesion capacity was evaluated on plastic, on titanium supports and on mimicking-surfaces present during BPI : bone decellularized explants and fibronectin-recovered titanium. Regardless of the strain, post-internalized *C. acnes* demonstrated a higher number of adherent bacteria on bone explant (3 to 6-fold increase) compared to not internalized *C. acnes*. The preference for titanium was conserved (2 to 8-fold increase for raw titanium and 2 to 7-fold increase for textured titanium compared to plastic support) for 3 strains. We also observed a decrease of proteins in biofilm matrix compared to non-internalized bacteria on textured titanium (2-fold decrease).

These results showed the ability of *C. acnes* to adhere and develop biofilm on different supports and that *C. acnes* biofilm matrix formation is support- and strain-dependent.

**Mots clés :** *C. acnes* - Biofilm - Matrix - Titanium - Bone infection.

## MC-P Microbiologie clinique

MC-P20

Microbiologie clinique

**Angiopoietin-like 4 is a key vascular stabilization factor conferring protection to bacterial sepsis**

Jason Ziveri<sup>1</sup> (jason.ziveri@inserm.fr), Loïc Le Guennec<sup>1</sup>, Isabel Gomes<sup>1</sup>, Jean-Philippe Barnier<sup>2</sup>, Samuel Gerner<sup>3</sup>, Yasmine Smail<sup>1</sup>, Anne Gouge<sup>1</sup>, Haniaa Bouzinba-Segard<sup>1</sup>, Clemence Martin<sup>1</sup>, Nicolas Perriere<sup>4</sup>, Brigitte Izac<sup>1</sup>, Franck Letourneur<sup>1</sup>, Mathieu Coureuil<sup>2</sup>, Thomas Ratte<sup>3</sup>, Xavier Nassif<sup>2</sup>, Sandrine Bourdoulous<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université de Paris, Institut Cochin, Inserm, CNRS, Paris, France

<sup>2</sup> Université de Paris, Institut-Necker-Enfants-Malades, Inserm, CNRS, Paris, France

<sup>3</sup> CUBE - Division of Computational Systems Biology, Vienne, Autriche

<sup>4</sup> BrainPlotting, iPEPs - ICM/Brain and Spine Institute, Paris, France

**Introduction and Objectives:**

Despite high treatment expenditure, sepsis remains one of the most common deadly diseases worldwide. In sepsis, human vasculature is profoundly altered by microbial virulence factors and pro-inflammatory mediators. Most endothelium physiological functions are disturbed, leading to increased vascular permeability, activation of coagulation, increased inflammatory response, tissue hypoxia and organ failure. Severe endothelial dysfunction thereby plays a central role in the pathogenesis of sepsis. Protection of endothelial integrity is now recognized as a frontline approach to alleviating sepsis progression. Yet no effective agent for preserving endothelial integrity is available.

**Results, Discussion and Conclusion:**

The blood brain barrier, which constitutes a heavily restricting barrier to tightly regulate central nervous system homeostasis, has intrinsic cytoprotective features to protect the brain from invading pathogens that remain poorly described. To identify protective mechanisms involved in the maintenance of cerebrovascular integrity during infection, we have conducted a comparative RNA-sequencing analysis on both primary human dermal and brain microvascular endothelial cells infected *in vitro* with meningococci. Among genes specifically regulated in cerebral endothelial cells upon infection, we found ANGPTL4 (Angiopoietin-like 4), as a major barrier-stabilizing protein conferring protection to infected brain microvessels. We further demonstrated that, although non-brain microvessels poorly produce ANGPTL4, treatment with recombinant ANGPTL4 or derived peptides preserved vascular integrity, reduced intravascular coagulation, cytokine storm and vascular leakage in vital organs, and finally increased survival in mouse models of invasive meningococcal disease and endotoxemia-induced sepsis. We have unveiled the roles of derived peptides of ANGPTL4 in vascular protection during sepsis progression and provided a rationale for clinical testing of these peptide for treating sepsis in patients.

**Mots clés :** Sepsis - Meningococcal infection - Angiopoietin-like-4 - Vascular stabilization.

**ME-P Microbiologie environnementale****ME-P01**

Microbiologie environnementale

**A national survey for the evaluation of the French laboratories capacity to detect SARS-CoV-2 in wastewater**Ali Atoui (Ali.ATOUI@anses.fr), Thierry Chesnot, Benoît Gassilloud*Laboratoire d'Hydrologie de Nancy, ANSES, Nancy, France***Introduction and Objectives:**

Wastewater-Based Epidemiology (WBE) is an important tool for health authorities to monitor the progression of the current SARS-CoV-2 in the community. Monitoring SARS-CoV-2 in wastewater has been the subject of European recommendations (2121/472 EU March 2021). Since April 2020, many public and private laboratories in France have developed detection methods for surveillance projects aimed at monitoring SARS-CoV-2 circulation and its variants in wastewater from different WWTPs in the national territory. Therefore, this survey was carried out to assess the capacity of French laboratories implementing SARS-CoV-2 detection in wastewater.

**Materials and Methods:**

A questionnaire was sent to more than 200 French laboratories to assess their skills in testing of SARS-CoV-2 genome in wastewater according to different steps, more specifically on the wastewater sampling, sample handling and pre-treatment, SARS-CoV-2 concentration, viral RNA extraction, detection and quantification assay, and result expression.

**Results, Discussion and Conclusion:**

There were 38 out of more than 200 laboratories answered the developed questionnaire. We found that 26 of them were engaged in working on SARS-CoV-2 in wastewater. Some respondents indicated that they are part of laboratories networks that have been established for epidemiological monitoring of SARS-CoV-2 in wastewater in France. According to laboratories, wastewater samples were shown to be processed using different protocols which can be grouped in three major analytical approaches (direct method, ultrafiltration and ultracentrifugation). Moreover results showed that there is a specificity in France in that some protocols are carried out on small sample volumes. However, this study highlights the absence of information regarding the method's recovery efficiency and other validation data of SARS-CoV-2 concentration methods developed by French laboratories.

*Mots clés* : SARS-CoV-2 - Wastewater - Wastewater-Based Epidemiology - Laboratories assessment.

**ME-P Microbiologie environnementale****ME-P02****Development of an *in vitro* biofilm model for the study of the impact of fluoroquinolones on sewer biofilm microbiota**

Delphine Bibbal<sup>1</sup> (delphine.bibbal@envt.fr), Aude Ferran<sup>1</sup>, Pedro Imazaki<sup>1</sup>, Nathalie Arpaillange<sup>1</sup>, Camille Marcuzzo<sup>1</sup>, Maïna Vienne<sup>2</sup>, Sofia Demmou<sup>3</sup>, Felipe Ramon-Portugal<sup>1</sup>, Marlène Lacroix<sup>1</sup>, Claire Hoede<sup>2</sup>, Maialen Barret<sup>3</sup>, Véronique Dupouy<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INTHERES, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, Toulouse, France

<sup>2</sup> INRAE, Université de Toulouse, UR875 MIAT, Bioinformatics, PF GenoToulo Bioinfo, Castanet-Tolosan, France

<sup>3</sup> Laboratoire Ecologie Fonctionnelle et Environnement, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, France

**Introduction and Objectives:**

Biofilms covering internal walls of sewers are likely to constitute hot spots for accumulating antibiotic-resistant bacteria and genes. The objective of this study was to optimize culture conditions allowing to obtain an *in vitro* biofilm mimicking sewer biofilms.

**Materials and Methods:**

Sewer biofilm and wastewater were sampled at the entrance of a wastewater treatment plant. In the laboratory, *in vitro* biofilms were produced on coupons in CDC Biofilm Reactors<sup>®</sup>, continuously fed with nutrient (R2A broth) and inoculum (1/100 diluted wastewater), at 21°C. Different culture conditions were tested: (i) initial inoculum: diluted wastewater with or without sewer biofilm, (ii) coupon material: concrete vs polycarbonate, and (iii) time of culture: 7 vs 14 days. Bacterial counts, taxonomic composition and fluoroquinolone resistance of the microbiota from environmental samples and *in vitro* biofilms were characterized and compared.

**Results, Discussion and Conclusion:**

16S rRNA gene and bacteria quantification revealed that the biomass was the highest when *in vitro* biofilm was formed on concrete coupons. 16S rRNA gene sequencing and analysis revealed that the addition of sewer biofilm to the initial inoculum and that the material coupon did not affect the taxonomic diversity. The taxonomic composition of environmental samples differed: *Campylobacteres* dominated in wastewater, whereas they were in minority in the sewer biofilm. *In vitro* biofilms were dominated by *Enterobacterales*. Regarding fluoroquinolone resistance, the percentage of ciprofloxacin-resistant bacteria was below 10% in environmental samples. The percentage of ciprofloxacin-resistant bacteria collected from *in vitro* biofilms was below 2% whatever the tested conditions. Quantification of *qnrA*, *S*, *B* and *D* genes showed that the relative abundance of these genes was higher in *in vitro* biofilms than in sewer biofilm. Preliminary results obtained on 9 samples showed that the taxonomic affiliation obtained by Shotgun Metagenomic Sequencing and analyzing was globally consistent with that obtained by 16S rRNA gene analysis.

This study allowed determining the culture conditions to develop an *in vitro* model of sewer biofilm. It could be used to clarify the role of sewer biofilms in disseminating resistance to fluoroquinolones in the environment.

**Funding:** PNREST Anses, 2020/01/142

**Mots clés :** Sewers - Biofilm - Microbiota - Bioreactor.

**ME-P Microbiologie environnementale****ME-P03****Recherche d'une association entre la détection d'entérobactéries productrices de carbapénémase dans des siphons de points d'eau d'un service de réanimation et la composition du microbiote de ces siphons**

Matthieu Eveillard<sup>1,2</sup> (MaEveillard@chu-angers.fr), Carole Lemarié<sup>1</sup>, Méline Wery<sup>3</sup>, Coralie Marais<sup>4</sup>, Muriel Bahut<sup>4</sup>, Estelle Marion<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de bactériologie, CHU Angers, Angers, France

<sup>2</sup> INCIT - ATOMycA, Inserm, Angers, France

<sup>3</sup> SFR ICAT, Université d'Angers, Angers, France

<sup>4</sup> SFR QUASAV, Université d'Angers, Angers, France

**Introduction et objectifs :**

De nombreuses études ont montré la présence d'entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC) dans les siphons des points d'eau de services de réanimation (1,2). Certaines études ont permis d'avancer l'hypothèse du rôle d'éléments nutritifs ou de résidus d'antibiotiques. Notre objectif était de rechercher un lien entre la nature du microbiote et la présence d'EPC dans les siphons.

**Matériel et méthode :**

Trois siphons ont été comparés (28 prélèvements au total) entre octobre 2019 et octobre 2020. Un siphon (S17) était contaminé en permanence (13 prélèvements positifs), les deux autres (S31 et S32) de manière transitoire : 6 prélèvements dont 2 positifs pour R31, et 9 prélèvements dont 6 positifs pour R32. Les analyses métagénomiques ont ciblé la région v4 codant pour l'ARN ribosomal 16S. Pour chaque échantillon, l' $\alpha$ -diversité a été évaluée par l'indice de Shannon. Une analyse en composantes principales basée sur la distance UniFrac a été réalisée pour comparer la diversité entre les échantillons (b-diversité) positifs et négatifs. L'abondance relative (AR) des principaux taxa identifiés a été comparée entre les prélèvements positifs et les prélèvements négatifs par le test de Mann-Whitney.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'analyse de l'AR des principaux taxa et de l' $\alpha$ -diversité a montré de fortes variations des communautés microbiennes présentes dans le biofilm des siphons au cours du temps. Si l'on compare S31 et S32, siphons avec des échantillons positifs et négatifs, l'AR des *Entérobactériaceae* était significativement plus élevée dans les siphons positifs (31,54% vs. 13,78%,  $p < 0,05$ ). A l'inverse, les AR des *Pseudomonadaceae*, des *Moraxellaceae* et des *Xanthomonadaceae* étaient supérieures dans les siphons négatifs, mais la différence n'était significative que pour ce dernier taxon (34,10% vs. 14,90%,  $p < 0,05$ ). L'analyse de l' $\alpha$ -diversité dans S31 et S32 n'a pas montré de lien entre l'index de Shannon et la détection d'EPC. En revanche, l'analyse de la b-diversité a montré des différences entre les échantillons positifs et les échantillons négatifs des mêmes siphons.

Nos résultats montrent que les différences entre prélèvements positifs et prélèvements négatifs pourraient concerner à la fois les taxons majoritaires (AR) mais également les taxons de faible abondance (différences de b-diversité).

**Mots clés :** Siphon - Microbiote - Carbapénémase - Abondance relative - Beta-diversité.

**Références :**

1. Lemarié C, Legeay C, Mahieu R, et al. Long-term contamination of sink drains by carbapenemase-producing Enterobacterales in three intensive-care units: characteristics and transmission to patients. *J Hosp Infect* 2021;112:16-20.
2. Valentin AS, Santos SD, Goube F, et al. A prospective multicentre surveillance study to investigate the risk associated with contaminated sinks in the intensive-care unit. *Clin Microbiol Infect* 2021;27:1347.e9-1347.e14.



**ME-P Microbiologie environnementale**

ME-P04

**Les phoques : une source potentielle de contamination fécale bactérienne et virale du littoral ?**

Cécile Le Mennec<sup>1</sup> (cecile.le.mennec@ifremer.fr), Michèle Gourmelon<sup>2</sup>, Julien schaeffer<sup>1</sup>, Joelle Serghine<sup>2</sup>, Marion Desdouits<sup>1</sup>, Herlé Goraguer<sup>3</sup>, Soizick Le Guyader<sup>1</sup>

<sup>1</sup> MASAE/LSEM/Virologie, IFREMER, Nantes, France

<sup>2</sup> ODE/DYNECO/PELAGOS, IFREMER, Brest, France

<sup>3</sup> Délégation Saint Pierre et Miquelon, IFREMER, Saint-Pierre-et-Miquelon, France

**Introduction et objectif :**

A Saint-Pierre et Miquelon, les interactions croissantes entre les phoques, animaux sauvages protégés dont la population augmente de façon importante et les activités humaines constituent un sujet d'actualité. L'observation récurrente de contamination en *Escherichia coli*, bactérie indicatrice de contamination fécale, sur des sites colonisés par des phoques soulève des questions sanitaires, dans le contexte « One Health ». Ce projet présente une réelle opportunité pour la recherche de bactéries et virus dans les fèces de phoques, afin d'évaluer un impact éventuel sur les activités humaines (Conchyliculture, baignade, pêche récréative). Par ailleurs, mieux connaître les communautés microbiennes dans ces fèces, présente un intérêt considérant le peu de donnée disponible.

**Matériels et méthodes :**

Entre mai 2019 et mai 2020, 22 fèces de phoques ont été collectés à saint Pierre et Miquelon. Ces échantillons sont répartis en aliquotes et congelés immédiatement. Dès réception dans les différents laboratoires, les échantillons ont été analysés selon les protocoles optimisés en fonction de la cible (bactérie ou virus). Pour la diversité bactérienne, l'approche métabarcoding a été appliquée après extraction des acides nucléiques et amplification des ARN 16S. Pour les virus à ARN, après purification puis concentration les acides nucléiques ont été extraits et des triplicats de bibliothèques ont été préparés pour chaque échantillon pour une analyse par métagénomique. Les séquences ont été analysées en utilisant les outils développés et validés au laboratoire.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les communautés bactériennes se caractérisent par une abondance majoritaire des Firmicutes ainsi que des Bacteroidetes. Cette analyse a permis de décrire un marqueur bactérien associé à ces animaux, qui trouvera une application concrète sur différents sites marins pour évaluer l'impact de cette contamination par des fèces de phoques. L'analyse du virome a permis de caractériser de nouveaux génomes de virus proches de ceux détectés chez l'homme comme des virus de la famille des *Caliciviridae* ou *Astroviridae*, et pour lesquels un transfert zoonotique ne pourrait être exclu.

Décrire la diversité microbienne d'échantillons prélevés dans des sites exposés à des contaminations d'origine animale et humaine constitue un challenge important à relever pour les années futures.

**Mots clés :** Métagénomique - Virome - Phoque - Bactérie.

**ME-P Microbiologie environnementale**

ME-P05

**La formation intracellulaire de phases carbonatées est une fonction répandue chez les bactéries magnétotactiques**

Camille C. Mangin<sup>1</sup> (camille.mangin@cea.fr), Karim Benzerara<sup>2</sup>, Nicolas Menguy<sup>2</sup>, Romain Bolzoni<sup>1,2</sup>, Béatrice Alonso<sup>1</sup>, Neha Mehta<sup>2</sup>, Elodie Duprat<sup>2</sup>, Cynthia Travert<sup>2</sup>, Fériel Skouri-Panet<sup>2</sup>, Eric Viollier<sup>3</sup>, Didier Jézéquel<sup>4</sup>, Christopher T. Lefèvre<sup>1</sup>, Caroline L. Monteil<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Aix-Marseille, CNRS, CEA, UMR7265, Institut de Biosciences et biotechnologies Aix-Marseille (BIAM), CEA Cadarache, Saint-Paul-lez-Durance, France

<sup>2</sup> Sorbonne Université, UMR 7590 CNRS MNHN, Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie (IMPIC), Paris, France

<sup>3</sup> LSCE, CEA/CNRS/UVSQ/IPSL, Université Paris Saclay, Université Paris Cité, Gif-sur-Yvette, France

<sup>4</sup> Université de Paris-Cité, CNRS, Institut de Physique du Globe de Paris (IPGP), Paris, France

**Introduction et objectifs :**

La formation environnementale de carbonate par les bactéries, également appelée carbonatogenèse, a récemment fait l'objet d'une attention croissante, notamment en raison de son impact sur les cycles du carbone et du calcium. Ce processus peut se faire de manière extracellulaire dans des environnements sursaturés en phases carbonatées, mais également de manière intracellulaire dans des environnements sous-saturés comme chez certaines cyanobactéries et protéobactéries. Néanmoins, la diversité spécifique et fonctionnelle des microorganismes biominéralisant des carbonates intracellulaires, ainsi que les mécanismes impliqués restent peu explorés. Récemment, notre équipe a mis en évidence un groupe de bactéries magnétotactiques (MTB) capables de biominéraliser à la fois des cristaux ferrimagnétiques (i.e. magnétosomes) et des carbonates de calcium amorphes intracellulaires. Dans cette étude, nous avons voulu mieux connaître la diversité morphologique et génétique de ce groupe de bactéries dans les sédiments lacustres.

**Matériels et méthodes :**

Les populations de MTB des sédiments du lac Pavin (Massif central, France) ont été concentrées magnétiquement et caractérisées par une combinaison d'approches de microbiologie environnementale et de minéralogie sur des cellules triées avec un micromanipulateur au cours de plusieurs campagnes d'échantillonnage entre 2020 et 2022. Les analyses de l'ultrastructure et de la composition chimique ont été faites par les techniques de microscopies électroniques (SEM/STEM, XEDS). Le typage moléculaire a été réalisé avec le gène de l'ARNr 16S et les relations phénotype/taxonomie ont été validées par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH).

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'ensemble des données montrent l'existence de plusieurs populations d'*Alpha-* et *Gamma-proteobacteria* de morphologies et ultrastructures diverses (e.g. forme et taille des magnétosomes, granules et cellules). Par ailleurs l'exploration d'autres environnements suggèrent l'ubiquité de ces populations dans des sédiments aquatiques riches en matière organique. *In fine*, cette étude soutient que la carbonatogenèse intracellulaire semble être une fonction répandue chez les *Proteobacteria*.

**Mots clés :** Microbiologie environnementale - Biominéralisation - Bactéries magnétotactiques - Carbonatogenèse.

**ME-P Microbiologie environnementale**

ME-P06

Microbiologie environnementale

**Épidémie de bactériémies à *Mycolicibacterium mucogenicum* : Recherche d'un potentiel réservoir dans le réseau d'eau d'un Centre Hospitalo-Universitaire**Elise Roig (jerome.ory@chu-nimes.fr), Alix Pantel, Flore Compan, Catherine Remy, Jérôme Ory

Service de microbiologie et Hygiène hospitalière, CHU Nîmes, Nîmes, France

**Introduction :**

*Mycolicibacterium mucogenicum* est une Mycobactérie Non Tuberculeuse (MNT) rarement impliquée en pathologie humaine. En 2018 et 2021, cinq cas de bactériémies sur Voie Veineuse Centrale à *M. mucogenicum* ont été recensés au CHU de Nîmes. Une première investigation a identifié l'eau du réseau comme réservoir de ces MNT.

L'objectif de cette étude était de réaliser une cartographie complète du réservoir de MNT à travers une campagne environnementale à grande échelle.

**Matériels et méthodes :**

Le réseau d'eau est alimenté par 3 entrées d'eau : 3 bars, 8 bars et 12 bars. Le réseau 3 bars et 8 bars se déversent dans les bassins alimentant les services d'hématologie, pneumologie et gastroentérologie (bâtiment principal) où les patients infectés ont été hospitalisés. Du 24 avril au 3 juin 2022, 42 points ont été prélevés. Après 1 min d'écoulement, 250 ml d'eau ont été prélevés dans un flacon contenant du thiosulfate de sodium. 25 et 100 ml ont été filtrés sur membrane de 0,22 µm. Les filtres ont été déposés sur gélose Middlebrook 7H10. Après une incubation de 7 jours à 35 +/- 2°C, les colonies macroscopiquement caractéristiques des MNT ont été isolées sur Brucella blood Agar. Après 2 à 5 jours d'incubation, les colonies isolées ont été identifiées par spectrométrie de masse (VITEK® MS, bioMérieux) avec ou sans traitement par VITEK MS MYCOBACTERIUM/NOCARDIA KIT.

**Résultats :**

57,2% (n=24/42) des échantillons prélevés étaient positifs à *M. mucogenicum*, 21,4 % (n=9) à *M. chelonae*, 19% (n=8) à *M. fortuitum*. 4 échantillons étaient ininterprétables (flore associée trop importante). *M. mucogenicum* est retrouvée au niveau du compteur 3 bars (150 UFC/L), à la sortie des bassins (40 UFC/L) et dans plusieurs services du bâtiment principal (40 à > 15 000 UFC/L).

**Conclusions :**

Cette étude souligne l'importance de l'investigation environnementale du réseau de distribution d'eau, lors de cas groupés de bactériémies à MNT. La potentielle source est l'entrée du réseau 3 bars alimentant une zone de l'hôpital où les patients ont séjourné. Des investigations supplémentaires (prélèvements, séquençage et comparaison des souches) sont en cours pour confirmer cette hypothèse et élaborer un plan d'action.

**Mots clés :** Mycolicibacterium mucogenicum - Mycobactérie - Environnement - Réseau d'eau - Cartographie.

**ME-P Microbiologie environnementale****ME-P07****Peut-on détecter des norovirus dans l'eau de mer ?**

Sylvain Parnaudeau<sup>1</sup> (sylvain.parnaudeau@ifremer.fr), Jean Côme Piquet<sup>2</sup>, Cécile Le Mennec<sup>1</sup>, Marion Desdouts<sup>1</sup>, Soizick Le Guyader<sup>1</sup>

<sup>1</sup> MASAE/LSEM, Ifremer, Nantes, France

<sup>2</sup> ODE/LERBO, Ifremer, Concarneau, France

**Introduction :**

La contamination de l'environnement marin par les rejets humains est reconnue comme une voie de transmission pour les virus entérique humains. Ces virus, tels que les norovirus (NoV), présents dans les rejets de stations d'épurations peuvent contaminer les huîtres. Ces dernières se contaminent en filtrant des eaux soumises aux contaminations humaines. Cependant peu de données sont disponible sur la présence de virus dans les eaux. Notre étude avait pour objectif d'optimiser une méthode.

**Matériel et méthodes :**

La méthode comprend 2 approches :

- 1 litre d'eau de mer est filtrée sur une membrane d'esters de cellulose mixte chargée négativement (0,45 µm), permettant la récupération des particules sur lesquelles les virus sont adsorbés. Ces filtres sont rincés (H2SO4) puis élués avec du NaOH. Ce changement de pH permet de décrocher les virus du filtre.
- le filtrat obtenu est récupéré (avant le rinçage) et 200 µl de FeCl3 sont ajoutés. L'ensemble est agité pendant 2h pour favoriser la formation de floculats qui seront récupérés sur un filtre de polycarbonate (0.8 µm) puis élués par un tampon ascorbate. Après extraction les acides nucléiques obtenus sont réunis et analysés par RT-PCR quantitative. Ce protocole est testé sur des eaux artificiellement contaminé par du virus Tulane (TuV), substitut de NoV, ainsi que sur des eaux prélevées sur le littoral.

**Résultat :**

Des essais en laboratoire ont été réalisés sur quatre échantillons d'eau de mer différents, en triplicat. Des variations ont été observées, de 0,1 à 4%, avec une efficacité de récupération moyenne du TuV inoculé de 1%. Cette méthode a été appliquée à 59 échantillons collectés pendant 6 mois (période hiver- printemps). Parmi ces échantillons, 10 (17%) ont été détectés positifs par RT-PCR, mais avec des signaux tardifs supposant une faible contamination, ou confirmant la faible récupération virale.

**Discussion :**

La détection des NoV dans les eaux côtières présente différentes difficultés due à la faible concentration, la représentativité de l'échantillonnage et nécessite une étape de concentration. L'approche proposée montre que la détection des NoV est possible et peut trouver un intérêt en amont des zones conchylicoles, lors de rejets accidentels ou des zones sans coquillages.

*Mots clés* : Environnement marin - Norovirus - Littoral - Contamination humaine.

**ME-P Microbiologie environnementale****ME-P08****Surveillance de la COVID-19 dans les eaux usées : estimation de la variabilité de mesure dans la quantification du génome de SARS-CoV-2**

Veronica Roman (veronica.roman@anses.fr), Amandine Wilhelm, Alison Manele, Ali Atoui, Thierry Chesnot, Benoit Gassilloud

*Laboratoire d'Hydrologie de Nancy, ANSES, Nancy, France*

**Introduction et objectifs :**

La détection et la quantification de SARS-CoV-2 dans les eaux usées brutes (EUB) est un indicateur de choix dans le suivi de l'épidémie de COVID-19. Indépendamment des stratégies de dépistage, ce dispositif permet une analyse globale et à moindre coût des personnes infectées raccordées à une station d'épuration. Néanmoins, les eaux usées constituent une matrice complexe où entre autres, l'homogénéité de l'échantillon ainsi que la stabilité du génome dans le temps, pourraient entraîner une variabilité des mesures. Leur étude permettrait par exemple d'indiquer un délai maximum acceptable de mise en analyse, ou encore de définir le nombre de réplica nécessaire pour conclure sur le niveau de concentration de l'échantillon en génome de SARS-CoV-2.

**Matériels et méthodes :**

Dans ce contexte, plusieurs EUB naturellement contaminées en SARS-CoV-2 ont été analysées de manière répétée selon deux principes analytiques distincts d'extraction génomique (colonne vs billes magnétiques) afin de les comparer, à partir de prises d'essai de faible volume (5 mL). La quantification du génome a été opérée par RT-PCR à l'aide des cibles E et N1. Parallèlement une étude de stabilité a été réalisée pour évaluer l'impact de la conservation à 5+/-3°C sur la charge virale de l'échantillon.

**Résultats, discussion et conclusion :**

La comparaison des mesures obtenues, en condition de répétabilité à partir des deux principes analytiques testés, met en évidence une variabilité relativement proche malgré une différence de quantités exprimées par litre d'échantillon. De même, l'étude concernant l'homogénéité démontre une fluctuation de la quantité de génome considérée comme acceptable. L'ensemble des résultats obtenus suggère qu'une analyse issue d'une unique prise d'essai devrait être suffisante pour pouvoir conclure sur la concentration de génome viral dans un échantillon d'eau usée. Enfin, la conservation de l'échantillon à 5+/-3°C conduit à une stabilité de la quantité de génome jusqu'à une semaine après le prélèvement autorisant ainsi une analyse complémentaire en cas de nécessité.

*Mots clés :* SARS-CoV-2 - Répétabilité - Stabilité - Homogénéité.

**ME-P Microbiologie environnementale**

ME-P09

**Recherche de cyanobactéries toxiques dans le Lez**

Alyssa Carré-Mlouka<sup>1</sup> (alyssa.carre-mlouka@umontpellier.fr), Sylvia Abdelmalek<sup>2</sup>, Oussama Assaoui<sup>2</sup>, Julie Balland<sup>2</sup>, Ninon Besson<sup>2</sup>, Ines Boussiere<sup>2</sup>, Emilie Brivet<sup>2</sup>, Oceane Carpentier<sup>2</sup>, Adeline Dehail<sup>2</sup>, Laura Di Pietro<sup>2</sup>, Fiona Elmaleh<sup>2</sup>, Charly Engerbeau<sup>2</sup>, Magal Hiaumet<sup>2</sup>, Nais Lobo<sup>2</sup>, Pierre-Michel Marty<sup>2</sup>, Yanis Meyer<sup>2</sup>, Celia Pasternicki<sup>2</sup>, Arthur Planche<sup>2</sup>, Benjamin Prat<sup>2</sup>, Lucie Sanchez<sup>2</sup>, Justine Thorel<sup>2</sup>, Victoria Mariotti<sup>2</sup>, Étudiants 2022 du master 2 IMHE du master 2 IMHE<sup>2</sup>, Rutger De Wit<sup>3</sup>, Annick Méjean<sup>4</sup>, Corinne Teyssier<sup>5</sup>

<sup>1</sup> DGIMI, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> Master Biologie-Agrosciences, parcours IMHE, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> MARBEC, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>4</sup> LIED, Univ Paris Cité, Paris, France

<sup>5</sup> Qualisud, Université de Montpellier, Montpellier, France

**Introduction et objectifs :**

Les cyanobactéries sont des procaryotes photosynthétiques, fixatrices du CO<sub>2</sub> et producteurs primaires, longtemps associées au groupe des micro-algues. Ces bactéries à coloration Gram négative sont abondantes dans les milieux aquatiques environnementaux, où elles se développent dans la colonne d'eau et comme biofilm à la surface des substrats durs. Au printemps et l'été, les cyanobactéries peuvent proliférer massivement dans les plans d'eau eutrophisés (pollutions aux nitrates notamment), formant des efflorescences et de denses biofilms délétères pour la faune aquatique. Certaines souches productrices de toxines à tropisme neurologique ou hépatique, posent un problème de santé publique lorsqu'elles se développent dans des plans d'eau utilisés pour des activités récréatives. En septembre 2020, un chien ayant ingéré de l'eau du Lez, un fleuve de l'Hérault, est mort des suites de symptômes évocateurs de la présence de neurotoxines de cyanobactérie. Dans le cadre de leurs travaux pratiques d'écologie microbienne, les étudiants du master IMHE de l'Université de Montpellier ont prélevé des échantillons d'eau du Lez afin de rechercher la présence de cyanobactéries neurotoxiques.

**Matériels et méthodes :**

Lors de sorties terrains en bord de Lez, les étudiants ont recherché et prélevé 22 échantillons (12 en 2020, 10 en 2021) d'efflorescences de morphologie typique de cyanobactéries. La recherche de cyanotoxines de la famille des anatoxines a été réalisée par LC-MS. Une analyse par observation microscopique a été menée afin de détecter et d'isoler par repiquages successifs des cyanobactéries de morphologie filamenteuse, seules productrices de neurotoxines. L'ADN a été extrait, puis les gènes de l'ITS ainsi que les gènes impliqués dans les voies de biosynthèse des anatoxines ont été amplifiés par PCR.

**Résultats, discussion et conclusion :**

La présence de dihydroanatoxine-a et d'homoanatoxine-a a pu être mise en évidence par LC-MS dans une partie des échantillons. L'analyse de la séquence ITS a permis une assignation taxonomique des souches isolées. Cependant, aucun des gènes de biosynthèse des anatoxines n'a pu être amplifié par PCR.

*Mots clés* : Cyanobactéries - Efflorescences - Neurotoxines.

**ME-P Microbiologie environnementale**

ME-P10

Microbiologie environnementale

**Gen-directed re-sensitization of carbapenem-resistant microorganisms in biofilms**

Damien Tortuel<sup>1</sup> (damien.tortuel@uca.fr), Nicolas Charbonnel<sup>1</sup>, Ousmane Traoré<sup>2</sup>, Racha Beyrouthy<sup>3</sup>, Richard Bonnet<sup>3</sup>, Geneviève Bricheux<sup>1</sup>, Christiane Forestier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, Université Clermont-Auvergne/CNRS, Clermont-Ferrand, France

<sup>2</sup> Service d'hygiène hospitalière, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

<sup>3</sup> Laboratoire de Bactériologie & CNR de la résistance aux antibiotiques, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

**Introduction and Objectives:**

Antibiotic resistance is a major concern in public health. The control of environmental reservoirs is necessary to limit the spread of resistant bacteria and resistance genes. Hospital effluents are considered as hotspots of antibiotic-resistant bacteria, mainly within biofilm communities. CRISPR-Cas9 system can be used to specifically kill resistant bacteria within such complex communities or to re-sensitize them, when the resistance is plasmid mediated.

The goal of this work is to decrease the burden of carbapenem resistance in complex communities such as hospital effluents, by constructing a conjugative plasmid harboring CRISPR-Cas9 system targeting carbapenemase-encoding genes.

**Materials and Methods:**

A conjugative plasmid carrying the CRISPR-Cas9 system targeting carbapenemase-encoding genes was engineered. To construct this tool, the pB10 plasmid (64 508 bp, IncP-1 $\beta$  family) originally isolated from waste-water treatment plant, was chosen because of its environmental origin and its high conjugation frequency. The single guide RNA (sgRNA) specifically targeting the carbapenemase gene *oxa48* was designed based on about fifty *oxa48* conserved regions. The re-sensitization capacity of the CRISPR-Cas9 tool was then assessed using a recipient strain harboring a pOXA-48 plasmid by 3 hours conjugation on filters and within monospecies biofilms.

**Results, Discussion and Conclusion:**

Two large regions of pB10 encoding antibiotic resistance genes were initially removed and replaced by 1) a Cas9 encoding-gene and 2) the sgRNA targeting *oxa48* gene, a GFP encoding-gene and a spectinomycin-resistance cassette. The conjugative capacities of the resulting plasmid, pB10-CRISPR[*oxa48*] (47 522 bp) remained elevated (transfer rate of about 10<sup>-2</sup>). When mating was performed on filters, about 99.48% of the transconjugants (*i.e.* recipients harboring the pB10-CRISPR[*oxa48*] which represent 54% of the total recipient bacteria) were re-sensitized. When mating was performed with 24h pre-formed biofilm, only 0.006% of recipients received the pB10-CRISPR[*oxa48*], but 100% of them were re-sensitized.

The pB10-CRISPR[*oxa48*] conjugative plasmid engineered in this study showed a very high efficiency of re-sensitization toward carbapenem resistance recipient. Further experiments are necessary to improve the spreading capacities of this tool in biofilm communities, particularly in natural, multispecies biofilms formed in hospital sewage.

*Mots clés* : Antibiotic resistance - CRISPR-Cas9 - Biofilms.

**ME-P Microbiologie environnementale****ME-P11**

Microbiologie environnementale

**Détection de norovirus par échantillonnage passif à l'échelle d'un bassin versant en amont de sites ostréicoles**

Françoise Vincent-Hubert<sup>1</sup> (fvincent@ifremer.fr), Antoine Veron<sup>1</sup>, Sylvain Parnaudeau<sup>1</sup>, Candice Wacrenier<sup>1</sup>, Raoul Gabellec<sup>2</sup>, Jean-François Bouget<sup>2</sup>, Jean-Pierre Allenou<sup>2</sup>, Pascal Garry<sup>1</sup>, Jean-Côme Piquet<sup>3</sup>, Sophie Rocq<sup>1</sup>, Soizick Le Guyader<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LSEM/MASAE, IFREMER, Nantes, France

<sup>2</sup> LER/MPL, IFREMER, Lorient, France

<sup>3</sup> LER/BO, IFREMER, Concarneau, France

**Introduction :**

En milieu marin côtier, la présence de norovirus, principal agent de la gastroentérite non bactérienne, représente un risque économique pour la filière ostréicole et pour la santé des consommateurs suite à la consommation d'huîtres contaminées. La détection des norovirus en amont des sites ostréicoles permettrait d'identifier les secteurs contribuant à la contamination d'origine humaine afin de limiter leur impact par des mesures adaptées. L'échantillonnage passif de microorganismes est une méthode innovante qui permet d'intégrer la contamination de l'eau dans le temps en évitant l'échantillonnage ponctuel et la manipulation de grands volumes et qui a été récemment développé en environnement marin (1). Notre objectif ici est d'appliquer cette méthode pour identifier l'origine géographique de la contamination par les norovirus à l'échelle d'un bassin versant en amont de sites ostréicoles.

**Matériels et méthodes :**

L'échantillonnage passif de norovirus a été réalisé pendant 18 mois par des membranes nylon immergées pendant 48h sur 7 sites d'eau douce dans un bassin versant et 5 sites marins en zone ostréicole. Les membranes ont été déployées 2 fois par mois en période épidémique et 1 fois par mois le reste de l'année. Les norovirus GI et GII ont été détectés et quantifiés à partir des membranes par RT-qPCR.

**Résultats :**

Les norovirus ont été détectés sur 11 sites sur 12. La fréquence de membranes positives est plus élevée sur les sites d'eau douce que sur les sites marins côtiers pour les 18 mois de monitoring. La première période épidémique se caractérise par une fréquence élevée de membranes positives en NoV GI, alors que pour la deuxième période épidémique, la fréquence de membranes positives pour NoV GII est plus élevée. Enfin, la fréquence de sites positifs en NoVs est plus importante pendant la période épidémique.

**Conclusion et perspectives :**

L'échantillonnage passif a permis d'identifier les sites les plus fréquemment contaminés en norovirus en amont des zones ostréicoles et de confirmer la présence du virus pendant la période épidémique. Ces résultats montrent à nouveau l'intérêt de cette méthode. L'analyse par métagénomique ciblée permettra de déterminer la diversité des norovirus sur les sites contaminés.

**Mots clés :** Norovirus - Échantillonnage passif - Eau - Huître.

**Références :**

1. Vincent-Hubert, F., Wacrenier, C., Morga, B., Lozach, S., Quenot, E., Mege, M., Lecadet, C., Gourmelon, M., Hervio-Heath, D., Le Guyader, F. S. (2021) Passive Samplers, a Powerful Tool to Detect Viruses and Bacteria in Marine Coastal Areas. *Frontiers in Microbiology* 12.



**ME-P Microbiologie environnementale****ME-P12****Évaluation de la performance de l'ultrafiltration pour éliminer les norovirus de l'eau de mer**

Joanna Ollivier<sup>1</sup> (joanna.ollivier@ifremer.fr), Hugo Taligrot<sup>2</sup>, Mathias Monnot<sup>2</sup>, Mathias Gauffriau<sup>1</sup>, Pascal Garry<sup>1</sup>, Christophe Stravakakis<sup>3</sup>, Clémence Cordier<sup>2</sup>, Philippe Moulin<sup>2</sup>, Soizick F. Le Guyader<sup>1</sup>, présenté par Françoise Vincent-Hubert<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LSEM, IFREMER, Nantes, France

<sup>2</sup> M2P2/ Equipe Procédés Membranaires, Aix-Marseille Université, Marseille, France

<sup>3</sup> Plateforme expérimentale Mollusques Marins, IFREMER, Bouin, France

**Introduction et objectifs :**

La contamination des zones de production conchylicoles par des rejets humains est reconnue comme un problème important affectant la qualité sanitaire des mollusques bivalves. L'ultrafiltration, ayant démontré son efficacité pour retenir un virus pathogène de l'huître, a été utilisée dans cette étude pour éliminer les norovirus de l'eau de mer.

**Matériel et méthodes :**

L'ultrafiltration frontale utilisant des membranes de type fibre creuse avec un seuil de coupure compris entre 150 et 200 kDa, a été appliquée à des échantillons d'eau douce et d'eau de mer naturelle filtrée, inoculés avec le virus Tulane (TV) à concentrations de 10<sup>1</sup> à 10<sup>5</sup> copies d'ARN.mL<sup>-1</sup>. Différents paramètres d'ultrafiltration ont été testés pour évaluer la rétention du virus. Le taux de rétention a été évalué ensuite sur les échantillons d'eau de mer contaminés par des norovirus à des concentrations comprises entre 10<sup>2</sup> et 10<sup>6</sup> copies d'ARN.mL<sup>-1</sup>.

**Résultats et conclusions :**

L'efficacité de l'ultrafiltration pour éliminer les virus a été évaluée prenant en compte trois paramètres (i) le taux de rétention globale de la membrane, (ii) le taux de rétention moyen en considérant l'augmentation de la concentration du côté du rétentat, et (iii) le taux de rétention médian prenant en compte la variation de concentrations dans le perméat. Les taux de rétention moyens observés pour le TV étaient compris entre 2 et 6 log. Ces taux de rétention étaient plus élevés pour (i) les concentrations initiales plus fortes (agglomération) et (ii) l'eau de mer par rapport à l'eau douce (colmatage plus élevé). L'efficacité de l'ultrafiltration a été confirmée sur l'eau de mer contaminée par des norovirus, avec un taux de rétention allant jusqu'à 3,5 log. En conclusion l'ultrafiltration, avec une rétention élevée des virus montre un intérêt pour améliorer la qualité de l'eau de mer en cas de contamination du littoral. Cette approche pourrait de fournir aux professionnels de la conchyliculture une eau de mer de bonne qualité sanitaire afin d'alimenter des bassins de dépuración ou des bassins maintenus en circuit fermé permettant ainsi de préserver des coquillages.

Projet financé par : FEAMP N°509528

*Mots clés* : Norovirus - Ultrafiltration - Rétention virus.

**MF-P Microbiologie fondamentale**

MF-P01

**Etude préliminaire au développement de méthodes de coculture pour valoriser la diversité fongique et révéler le potentiel métabolique des champignons**

Fabio Meraihi<sup>1</sup> (quentin.albert@univ-amu.fr), Lila Gravagna<sup>1</sup>, David Navarro<sup>2,3</sup>, Isabelle Gimbert<sup>4</sup>, Stéphane Greff<sup>5</sup>, Charlotte Simmler<sup>5</sup>, Quentin Albert<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Aix Marseille Université, Marseille, France

<sup>2</sup> UMR 1163 BBF, INRAE, Marseille, France

<sup>3</sup> CIRMA-CF, INRAE, Marseille, France

<sup>4</sup> UMR 1163 BBF, Aix Marseille Université, Marseille, France

<sup>5</sup> UMR 7263 IMBE, CNRS, Marseille, France

**Introduction et objectifs :**

Le développement des approches omic et des méthodes OSMAC ont (re)démontré le potentiel des champignons comme réservoir de métabolites à hautes valeurs ajoutées. Des approches de génomique ont montré le caractère inductible de nombreuses voies de biosynthèse (par compétition nutritionnelle, stress) et des études métabolomiques ont montré l'augmentation importante de la diversité chimique en coculture.

Les méthodes de coculture apparaissent prometteuses pour comprendre et maîtriser ces voies de biosynthèse. Elles représentent aussi un défi technique et biologique, mais permettraient des avancées importantes dans de nombreux domaines fondamentaux (signalisation, interactions) et appliqués, comme la modulation d'activités antibactériennes.

Un essai préliminaire sur gélose a montré l'inhibition, par le mycélium de *Fomitopsis betulina*, d'*Escherichia coli*. Notre étude propose de tester différentes conditions de cocultures en milieu liquide afin d'identifier des paramètres permettant de moduler cette activité antibactérienne.

**Matériels et Méthodes :**

Quatre milieux de culture différents ont été utilisés, avec et sans agitation, ainsi qu'avec deux inocula bactériens ( $10^1$ ,  $10^6$  UFC/mg de mycélium sec) pour un total de 16 conditions. Un témoin avec seulement le champignon a été réalisé pour chaque condition. Chaque condition et leurs témoins ont été réalisées en triplicats. A la fin de la coculture, le surnageant a été filtré afin de réaliser des extraits par partition liquide/liquide (AcOEt). La composition chimique de ces extraits a été analysée par HPLC/MS et leur activité antibactérienne a été évaluée par diffusion sur gélose. La composition et l'activité de chaque extrait ont été comparées aux extraits témoins. L'ampicilline (10 $\mu$ g) a servi de référence pour les tests d'activité antibactérienne.

**Résultats, Discussion et conclusion :**

Les résultats suggèrent que la production de biomasse par le champignon est augmentée par l'inoculum bactérien, mais uniquement avec le milieu à l'extrait de malt. Les biomasses sont comparables en culture pure et en coculture pour les autres milieux. L'activité antibactérienne est principalement modulée par le milieu de culture et l'agitation. Avec l'extrait de malt et l'extrait de malt dilué, l'activité antibactérienne est comparable malgré des biomasses différentes. Des analyses complémentaires (plan d'expérience, RNASeq) sont nécessaires pour affiner ces résultats et comprendre les voies de régulation impliquées.

**Mots clés :** Fungi - Coculture - Antibacterial activity - Bacteria.

## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P02

**Identification d'un premier mécanisme de résistance au mercure chez les bactéries anaérobies : mise en évidence d'une autre voie que l'opéron *mer***

Sophie Barrouilhet<sup>1</sup> (sophie.barrouilhet@univ-pau.fr), Mathilde Monperrus<sup>2</sup>, Claire Gassie<sup>1</sup>, Maureen Le Bars<sup>1</sup>, Alain Dolla<sup>3</sup>, Bahia Khalfaoui-Hassani<sup>1</sup>, Rémy Guyoneaud<sup>1</sup>, Marie-Pierre Isaure<sup>1</sup>, Marisol Goñi-Urriza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> IPREM UMR5254, Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, CNRS, Pau, France

<sup>2</sup> IPREM UMR5254, Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, CNRS, Anglet, France

<sup>3</sup> LCB-UMR7283, Aix-Marseille Université, CNRS, Marseille, France

**Introduction et objectifs :**

Les mécanismes de résistance au mercure (Hg) chez les microorganismes aérobies sont bien caractérisés (opéron *mer*) et permettent d'appréhender la dissémination du Hg dans l'environnement. Cependant, aucun acteur moléculaire impliqué dans la résistance au Hg chez les bactéries anaérobies n'a été identifié. Pourtant, la compréhension des mécanismes mis en jeu par ces bactéries pour faire face au Hg apparait primordiale puisqu'elles possèdent la capacité à transformer le mercure inorganique (iHg) en méthylmercure (MeHg), une puissante neurotoxine. Une analyse de transcriptomique différentielle chez la bactérie anaérobie *Pseudodesulfobrio hydrargyri* BerOc1 a permis d'identifier un cluster de gènes surexprimés en présence d'iHg et présentant de fortes homologues de séquence avec un système d'efflux et un système senseur des métaux. Notre objectif est de déterminer l'implication de ces systèmes dans la résistance et la méthylation du Hg.

**Matériels et méthodes :**

Un mutant délété de l'opéron codant une partie du système d'efflux et du senseur a été généré afin de mener une analyse phénotypique comparative entre la souche sauvage et mutante. Nous avons déterminé i) leur capacité de résistance au iHg et au MeHg, ii) la production de MeHg et iii) les concentrations intracellulaires d'iHg par GC-ICP MS sur des cellules exposées à différentes concentrations d'iHg. De plus, la localisation cellulaire du Hg a été déterminée par nanofluorescence-X.

**Résultats, discussion et conclusion :**

A partir de 0.5  $\mu$ M d'iHg, la croissance, la production de MeHg et la concentration intracellulaire d'iHg sont affectées dans la souche mutante comparée à la souche sauvage. De plus, l'imagerie par nanofluorescence-X montre une localisation du Hg en périphérie de la cellule dans la souche sauvage mais homogène dans la souche mutante, suggérant que la sous-unité périplasmique du senseur (piégeant les métaux) joue un rôle déterminant dans la résistance au iHg. Cette étude met en évidence, pour la première fois, un mécanisme de résistance au Hg chez des bactéries anaérobies.

**Mots clés :** Mercure - Méthylmercure - Résistance aux métaux - Séquestration - Anoxie.

## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P03

**From antibiotic sensitizers to true efflux pump inhibitors: a long road that must pass through reconstituted efflux pumps**

Jean-Michel Bolla (jean-michel.bolla@univ-amu.fr), Marine Novelli, Jean Michel Brunel

U-1261, Faculté de Pharmacie, Marseille, France

Blocking efflux of antibiotics of multi-resistant bacteria is a real challenge that is even more difficult in Gram negative bacteria (GNB) considering their double membrane that impairs the diffusion of most of the molecules. One can consider decreasing sufficiently the minimal inhibitory concentration (MIC) of an antibiotic or several antibiotics to reach a MIC compatible with human or animal pharmacokinetics, blocking efflux of a reporter molecule such as a dye, affecting the assembly, function, selectivity, speed of efflux pumps reconstituted *in vitro*.

Each of these ways is full of hurdles and none is the perfect process. We have chosen to screen compounds on entire bacteria overexpressing efflux pumps, (AcrB for Enterobacteria, MexB for *Pseudomonas*). Compounds were selected for their potential ability to cross the membranes barrier of GNB. By screening, we found very effective molecules that significantly decreased the MIC of several antibiotics. The challenge was then to understand how these molecules work. We rapidly found they were predominantly membranotropic but not toxic on eucaryotic cells at the concentration used on bacteria. We also observed a difference in efficacy depending on the species tested, one hit being more efficient on *Enterobacter* and *Salmonella* and another one on *Pseudomonas*. Was it due to differences in the structure of the bacterial envelope or to the antibiotics tested? We demonstrated that our hits inhibited efflux, and we naturally concluded it was the reason for the decrease of MICs. We then found that they had a deleterious effect on the proton-motive force which could explain by itself their inhibition on the RND efflux pumps we challenged. This does not exclude that our compounds also interact with the pumps themselves. So, we wondered if amongst our compounds, there would be molecules directly interacting with efflux pumps and blocking their function. Whether they would be able to inhibit protein-protein interactions of the constituents of the pumps, direct energy usage, conformational changes, etc. This is only possible in a collaborative ongoing project, with *in vitro* reconstituted efflux pumps.

**Mots clés :** Efflux pumps - Inhibitors - All cells assay - Synergy.

## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P04

Development of a Tet repressor-based knock-down system in *Mycobacterium abscessus*

Yves-Marie Boudehen (yves-marie.boudehen@irim.cnrs.fr), Claire Hamela, Laurent Kremer

CNRS - UMR 9004, IRIM, Montpellier, France

**Introduction and Objectives:**

Gene regulation tools have largely contributed to study the function of essential and non-essential genes and for validation of drug targets in mycobacteria. *Mycobacterium abscessus* (Mab), a non-tuberculous pathogen, is responsible for a range of clinical manifestations, including lung diseases particularly in cystic fibrosis patients. Mab is naturally resistant to most clinically used antibiotics rendering the treatments very complicated. Mab studies are hampered by the lack of powerful genetic tools, particularly of regulatory systems allowing to study gene essentiality. Herein, we implemented the anhydrotetracycline (ATc) repression system in Mab and report its usefulness under various *in vitro* and *in vivo* conditions.

**Material and Methods:**

To assess the strength of gene repression in Mab, we designed a repressible mCherry fluorescent reporter plasmid and evaluated the decrease of fluorescence in Mab in the presence of ATc, which controls the Tet repressor accessibility to the repressible promoter. To validate the efficacy of this system, the HA-tagged *mmpL3* gene (assumed to be essential) was cloned under the control of the ATc-regulatory promoter. Expression of MmpL3 and viability of the cultures treated with ATc were monitored by Western blotting, OD600 measurement of the cultures and CFU determination. The repression strength was next addressed in Mab-infected THP-1 macrophages by CFU determination and immunofluorescence microscopy.

**Results, Discussion and Conclusion:**

ATc is not toxic for Mab, offering a wide panel of applications. First, ATc strongly repressed the expression of mCherry in a dose-dependent manner, on solid and liquid media. Second, ATc repressed *mmpL3* expression, leading to reduced MmpL3 production and bacterial growth, thus validating the efficacy of the repressible promoter in Mab. This demonstrates that *mmpL3* is essential in Mab, emphasizing MmpL3 as an attractive target for future therapeutic developments. Third, ATc negatively impacted mCherry expression after 2 days of infection in macrophages. Correlation between a decrease in the intracellular bacterial burden of the *mmpL3*-regulated strain is currently under study. Overall, this technology appears very helpful to investigate gene essentiality in Mab during infection. Future studies will consist to implement this system for *in vivo* use in the zebrafish model of infection.

*Mots clés* : *Mycobacterium abscessus* - Gene regulation - Knock-down - Macrophages - Infection.

**MF-P Microbiologie fondamentale**

MF-P05

Microbiologie fondamentale

**Implication de la couche S dans les propriétés de surface de *Bacillus cereus* AH187**Cécile Boutonnet (cecile.boutonnet@inrae.fr), Alice Chateau, Catherine Duport

UMR 408, Université Avignon - INRAe, Avignon, France

*Bacillus cereus* est un pathogène alimentaire provoquant des maladies principalement caractérisées par des syndromes diarrhéiques et émétiques. La souche émétique de *B. cereus* AH187 (F4810/72) est enveloppée d'une couche protéique paracrystalline, communément appelée couche S. Le rôle de la couche S n'a pas encore été étudié dans cette souche de *B. cereus*.

L'analyse du génome a identifié les protéines codées par BCAH187\_RS05210 (B7HXP4) et BCAH187\_RS05215 (EA1) comme étant les deux composants de la couche S de *B. cereus* AH187. Nous avons nommé ces protéines SL2 et EA1, respectivement. Nous avons montré que ces deux protéines sont localisées à la surface des cellules de *B. cereus* et que leur proportion à la surface des cellules dépend de la phase de croissance : SL2 est plus abondante que EA1 au début de la croissance exponentielle, tandis que EA1 est prédominante à la fin de la croissance. Nous avons construit une souche mutante dépourvue de SL2 et de EA1 ( $\Delta sl$ ), et avons examiné sa surface en utilisant la microscopie électronique. Nous avons montré que les cellules  $\Delta sl$  n'étaient pas entourées d'une couche S, contrairement aux cellules de type sauvage. Afin d'examiner le rôle de la couche S sur les propriétés de la surface de *B. cereus*, nous avons effectué des analyses phénotypiques et de microscopie à force atomique (AFM). Les résultats ont montré qu'en l'absence de couche S, la surface cellulaire de *B. cereus* est moins hydrophobe et moins élastique à la fin de la croissance, ce qui a un impact sur sa capacité à s'auto-agréger et à adhérer à une surface solide.

En conclusion, la couche S pourrait jouer un rôle important chez *B. cereus* en fin de croissance en favorisant sa capacité à coloniser des surfaces biotiques et abiotiques.

**Mots clés :** Couche S - *Bacillus cereus* - Surfaceome - Propriétés de surface.

**MF-P Microbiologie fondamentale**

MF-P06

Microbiologie fondamentale

**Nouvelle méthode de production des toxines TcdA et TcdB de *Clostridioides difficile***

Afi Akofa Diane Sapa<sup>1</sup> (afi-akofa-diane.sapa@universite-paris-saclay.fr), Anaïs Brosse<sup>1</sup>, Jeanne Malet-Villemagne<sup>1</sup>, Gauthier Pean de Ponfilly<sup>1,2</sup>, Thomas Candela<sup>1</sup>, Alban Le Monnier<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> UMR1319 Micalis, Université Paris Saclay - Faculté de pharmacie, Châtenay-Malabry, France

<sup>2</sup> Service de Microbiologie clinique, GH Paris Saint-Joseph, Paris, France

**Introduction et objectifs :**

*Clostridioides difficile* (*C. difficile*) est un pathogène nosocomial majeur responsable de près d'un demi-million d'infections digestives et de 25 000 décès chaque année aux États-Unis. L'infection à *C. difficile* (ICD) survient après une antibiothérapie qui induit une dysbiose du microbiote intestinal. Dans ce contexte de dysbiose, les spores de *C. difficile* acquises par l'environnement vont germer ; les formes végétatives vont pouvoir se multiplier dans le tractus digestif et produire les toxines TcdA et TcdB. L'action de ces deux toxines va provoquer une altération du cytosquelette et conduire au recrutement de nombreux neutrophiles favorisant ainsi le processus inflammatoire et conduisant aux manifestations cliniques d'ICD. L'étude des toxines est donc une étape cruciale dans le suivi de la virulence de ce pathogène. Actuellement, le processus de purification des toxines natives est soit laborieux chez *C. difficile*, soit réalisé chez des hôtes hétérologues (ex : *Bacillus megaterium*). Nous proposons donc une nouvelle méthode permettant de produire rapidement des toxines purifiées et fonctionnelles à partir d'une souche de *C. difficile*.

**Résultats et discussion :**

La construction des souches permettant la production des toxines recombinantes rTcdA et rTcdB a été réalisée en deux étapes. La première consiste à ajouter une étiquette histidine en C-terminal des gènes *tcdA* ou *tcdB* d'une souche de *C. difficile* 630 $\Delta$ *erm* par méthode d'échange allélique. Ces souches ont ensuite été utilisées pour générer deux nouvelles souches en remplaçant par le même procédé le promoteur respectif des toxines A et B par le promoteur Ptet inductible à l'anhydro-tétracycline (ATc).

A l'aide de ces souches, les protéines rTcdA et rTcdB peuvent être produites après induction à la tétracycline anhydre et purifiées sur résine de Nickel. Nous avons vérifié que cette nouvelle méthode permet d'obtenir des toxines fonctionnelles par observation d'une activité cytopathogène sur des tapis confluent de cellules VERO. Nous avons également validé leur utilisation en tant qu'antigène dans des tests ELISA quantitatif pondéral.

**Conclusion**

Ce nouveau protocole permet de produire rapidement et en quantité suffisante les deux toxines TcdA et TcdB tout en conservant leur activité. Il simplifie ainsi l'accès à cette ressource précieuse jusque-là difficile à produire.

**Mots clés :** Clostridioides difficile - Toxines - Purification protéique.

**MF-P Microbiologie fondamentale**

MF-P07

**Regulation of the virulence of pectinolytic bacteria by RsmC protein**

Typhaine Brual (typhaine.brual@gmail.com), Guy Condemine, Erwan Gueguen

Laboratoire MAP, UMR5240, Lyon, France

Pectinolytic bacteria are responsible for soft rot disease in plants. At the beginning of the infection, these bacteria multiply while evading the plant's immune system. When they are in sufficient numbers, they produce enzymes such as pectinases to digest the plant cell wall [1]. The timing of the onset of pectinases secretion is decisive and is finely regulated: if it occurs too early, the infection is not efficient. Motility is also crucial for host colonization an immobile mutant does not cause symptoms. The flagellum is also a target of the plant immune system, so its synthesis is highly controlled. Deciphering these regulatory mechanisms is important for understanding the development of virulence in these bacteria.

A previous work from my laboratory showed that a protein named RsmC would play a role in the control of virulence in *Dickeya dadantii*, a model organism of pectinolytic bacteria [2]. The *rsmC* gene is conserved only in *Pectobacteriaceae* and has been poorly studied. The structure of RsmC is unknown and only one study describes this protein as an "anti-FlhDC protein", i.e. a repressor of the FlhDC regulator, a complex regulating both motility and secretion of pectinases [3]. I have already shown that RsmC inhibits both motility and secretion of pectinases which confirms that this protein finely tunes the virulence of pectinolytic bacteria.

The objective of my work is to understand the role of RsmC in the regulation of virulence in *D. dadantii* using two approaches: 1) Defining the interactome of RsmC, to understand by which intermediary this protein exerts its function; 2) Deciphering the expression conditions of the *rsmC* gene to study when and how RsmC intervenes in the life cycle of *D. dadantii*.

**Mots clés :** Virulence - Regulation - Pectinolytic bacteria - *Dickeya dadantii* - Motility.

**Références :**

1. Hugouvieux-Cotte-Pattat N. et al., 2020. eLS John Wiley & Sons, Ltd : Chichester.
2. Royet K. et al., 2019. Molecular Plant Pathology, 20,287-306.
3. Chatterjee A. et al., 2009. Journal of Bacteriology, 191, 4582-4593.



## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P08

**The anchoring of the polysaccharide II is essential for *Clostridioides difficile* survival**

Malet Jeanne<sup>1</sup> (jeanne.malet@universite-paris-saclay.fr), Sandrine Denis-Quanquin<sup>2</sup>, Laurent Evanno<sup>3</sup>, Claire Janoir<sup>1</sup>, Thomas Candela<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Equipe BaPS, Institut Micalis-Université Paris-Saclay, Châtenay-Malabry, France

<sup>2</sup> CNRS UMR 5182, Laboratoire de Chimie, Université Lyon1, ENS de Lyon, Lyon, France

<sup>3</sup> CNRS, 92296, Biomolécules : Conception, Isolement et Synthèse (BioCIS) Université Paris-Saclay, Châtenay-Malabry, France

While toxins are described to be the major virulence factors in *C. difficile* infections, there is an increasing interest in the role of non-toxin factors in pathogenesis and virulence. In this study, we investigated the role of the two *lcp* genes, supposed to be non-redundant and known to be involved in the synthesis of the polysaccharide II (PSII) by anchoring filaments to the peptidoglycan [1]. In this study, we constructed single and double mutants of *lcp* genes. Surprisingly, we were unsuccessful to obtain the double mutant whereas the two single mutants were easily obtained by an allelic exchange technique. This suggests that *lcp* genes have indeed redundant functions. To delete both *lcp* genes, we developed a conditional lethal mutant technique. The first step was to construct a strain containing a second copy of *lcpB* in a chosen region of the chromosome, expressed under the control of an anhydrotetracycline inducible promoter, pTet. Then, we replaced the ORFs by a resistance cassette in the native locus and so deleted both *lcpA* and *lcpB*. In this conditional mutant, we were able to modulate the expression of *lcpB*. Thanks to this tool and the production of highly specific anti-PSII antibodies, we highlighted the essentiality of the PSII anchoring. Using immunofluorescence microscopy, we showed that in single mutants, the PSII layer is abnormal in comparison to the wild-type strain. It is discontinued and holed in the *lcpA* mutant but smooth and inhomogeneous in the *lcpB* mutant. In the double mutant with low *lcpB* expression, we observed ellipsoid cells. Complementation with *lcpA* or *lcpB* restores the rod-shape morphology and the normal abundance of PSII. Additional results show a defect of the S-layer anchoring in the conditional mutant strain. In conclusion, our results show the critical role of PSII anchoring in growth, elongation, and correct surface set-up of *C. difficile*. Our technique provides new opportunities to study essential genes in *C. difficile*.

**Mots clés :** Clostridioides difficile - Surface - Polysaccharides - Essentialité.

**Références :**

1. M. Chu et al., 2016, PLoS Pathog., vol. 12, no 10.

## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P09

Caractérisation de l'opéron glycosylasparaginase chez *E. faecalis* et de son rôle potentiel dans la virulence

Victor Combret (victor.combret@unicaen.fr), Nicolas Sauvageot, Nicolas Verneuil

Communication Bactérienne Stratégies Anti-infectieuses, Université de Caen, Caen, France

**Introduction et objectifs :**

*Enterococcus faecalis* est un agent bactérien pathogène responsable de nombreuses infections (endocardites, bactériémies, infections urinaires, ...). Le laboratoire CBSA a montré lors de plusieurs études (1,2) qu'un certain nombre de gènes impliqués dans l'utilisation de polysaccharides est induit en condition d'infection. Il a également été montré dans la littérature que certaines enzymes de type glycosylase jouent un rôle dans la virulence, par exemple en inactivant la fonction effectrice des IgG (3,4). Un gène possédant des homologies de séquences avec une glycosylasparaginase a été identifié chez *E. faecalis*. Ce gène est localisé dans un locus comprenant 5 autres gènes organisés en 1 ou 2 structures opéroniques. De par son activité enzymatique putative proche des glycosylases, un rôle potentiel dans la virulence de la bactérie a été envisagé. L'objectif de ce travail est donc d'étudier cet opéron et le rôle des différentes protéines codées par les gènes qui le compose dans la virulence.

**Matériels et méthodes :**

La capacité à utiliser le N-acetylglucosamine-L-asparagine (GlcNAc-L-asn), un substrat mimant le produit de déglycosylation de protéines comme source de carbone, a été réalisée par suivis de croissance. L'expression de l'opéron en présence de ce substrat a été mesurée par RT-qPCR. Des mutants ont été construits et analysés. L'organisation générale de ce locus et sa régulation ont été mis en évidence respectivement par RT-PCR et RT-qPCR. La fixation du régulateur a été étudiée par gel retard. Enfin, des suivies de mortalités ont été réalisés dans le modèle de larves *Galleria mellonella* pour les différents mutants obtenus.

**Résultats, discussion et conclusion :**

*E. faecalis* est capable d'utiliser le GlcNAc-L-asn comme source de carbone pour sa croissance. Le locus étudié est constitué de deux structures opéroniques régulés par un même répresseur se fixant au niveau des régions promotrices. La présence du substrat lève la répression et permet l'expression des opérons. La fixation du régulateur a été vérifiée par gel retard. Une plus faible mortalité des souches mutées a été observée par rapport à la souche sauvage en modèle *G. mellonella* confirmant le rôle de ce locus glycosylasparaginase dans la virulence de la bactérie.

**Mots clés :** *E. faecalis* - Métabolisme - Glycosylasparaginase - Régulation - Virulence.

## Références :

1. Muller C, Cacaci M, Sauvageot N, Sanguinetti M, Rattei T, Eder T, et al. The Intraperitoneal Transcriptome of the Opportunistic Pathogen *Enterococcus faecalis* in Mice. Lemos JA, éditeur. PLoS ONE. 15 mai 2015;10(5):e0126143.
2. Grand M, Aubourg M, Pikis A, Thompson J, Deutscher J, Hartke A, et al. Characterization of the gen locus involved in  $\beta$ -1,6-oligosaccharide utilization by *Enterococcus faecalis*. Mol Microbiol. déc 2019;112(6):174456.
3. Garbe J, Sjögren J, Cosgrave EFJ, Struwe WB, Bober M, Olin AI, et al. EndoE from *Enterococcus faecalis* Hydrolyzes the Glycans of the Biofilm Inhibiting Protein Lactoferrin and Mediates Growth. Cascales E, éditeur. PLoS ONE. 7 mars 2014;9(3):e91035.
4. Shadnezhad A, Naegeli A, Sjögren J, Adamczyk B, Leo F, Allhorn M, et al. EndoSd: an IgG glycan hydrolyzing enzyme in *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *dysgalactiae*. Future Microbiol. 2016;11:72136.

**MF-P Microbiologie fondamentale**

MF-P10

Microbiologie fondamentale

**Effet des photoproduits du DPA sur les spores de *Bacillus subtilis***

Jonathan Dikec<sup>1</sup> (jonathan.dikec@agrosupdijon.fr), Maxime Pacheco<sup>1</sup>, Matéo Lavaud<sup>1</sup>, Pascale Winckler<sup>1,2</sup>, Jean-Marie Perrier-Cornet<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> UMR PAM équipe PMB, Institut AgroDijon, Université Bourgogne, Dijon, France

<sup>2</sup> Dimacell Imaging Facility, Institut AgroDijon, Dijon, France

**Introduction et objectifs :**

Le DPA est une molécule spécifique des spores bactériennes et est essentielle dans leur résistance face à divers stress comme l'exposition aux ultraviolets (UV). Le DPA possède une photochimie particulière qui reste en grande partie inconnue. Il est notamment capable de former une grande variété de photoproduits (DPAP) dont seulement deux ont été isolés récemment [1]. Un de ces DPAP a été identifié comme photosensibilisateur face à une exposition à l'UVC. Cependant, les réactions photochimiques aboutissant aux DPAP restent encore pour la plupart très mal comprises. Dans cette étude, des DPAP ont été introduits artificiellement des spores d'une souche mutante de *Bacillus subtilis* ne produisant pas de DPA. Ces expérimentations montrent pour la première fois non seulement que certains DPAP peuvent avoir comme origine une forme instable du DPA mais également que certains DPAP peuvent jouer un rôle bénéfique pour la spore. Les bénéfices des DPAP pour la spore se traduisent à travers l'observation d'une amélioration de leur taux de germination, de leur croissance ainsi qu'une augmentation de leur résistance face à une exposition aux UVC.

**Matériels et méthodes :**

La souche mutante FB122 de *B. subtilis* n'étant plus capable de produire du DPA, elle a été complétée en DPAP en ajoutant du DPA irradié aux UVC dans son milieu de sporulation. Le taux de germination, la cinétique de croissance et la résistance aux UVC des spores ont été évalués. Des UFC ont été utilisés pour déterminer le taux de germination et la résistance de spores exposées aux UVC, le suivi de croissance a été réalisé à l'aide d'un spectromètre par mesure de densité optique.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Après avoir expliqué comment les DPAP ont pu être incorporées dans les spores de la souche FB122 à travers une forme instable du DPA, les tests de germination, le suivi de croissance et de résistance aux UVC seront présentés. Cette étude montre pour la première fois que non seulement les DPAP peuvent avoir un effet bénéfique sur les spores mais démontre également que les DPAP peuvent être formés après être passés par une forme instable du DPA internalisée par les cellules pendant la sporulation.

**Mots clés :** Spore Bactérienne - UV - DPA - Photoproduits - Photochimie.

**Références :**

1. G. Nardi, M. Lineros-Rosa, F. Palumbo, M. A. Miranda, and V. Lhiaubet-Vallet, "Spectroscopic characterization of dipicolinic acid and its photoproducts as thymine photosensitizers," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 245, p. 118898, 2021.

## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P11

**Understanding the molecular mechanisms involved in *Klebsiella pneumoniae* biofilm structure under dynamic conditions**

Ibrahima Dramé (ibrahima.drame@uca.fr), Damien Balestrino, Christiane Forestier

Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Biofilm development involves several steps: the bacterial adhesion to a surface is followed by formation of microcolonies and synthesis of extracellular matrix, giving rise to mature biofilm. The last step, probably the most poorly described, corresponds to biofilm dispersal. This genetically controlled process allows a subset of cells to leave the biofilm and colonize new environments. In the context of biofilm-related infections, dispersal is a key mechanism for the release of bacteria from biofilms formed on invasive medical devices or host tissues.

Biofilm dispersal is triggered in response to a wide range of physical and chemical signals. In response, sessile bacteria synthesize various effectors that, for some of which, alter biofilm structure and allow the release of individual cells or micro-aggregates. The objective of this work is to characterize the molecular mechanisms underlying the alteration of the biofilm structure formed by the opportunist pathogen *Klebsiella pneumoniae*.

In the Biofilm Ring Test<sup>®</sup> model, a *K. pneumoniae* biofilm shows a change of robustness, potentially related to the dispersal process, after 5-h of incubation. To understand the underlying molecular mechanisms, a library of 4032 insertional mutants was screened in this model for the loss of this robustness alteration over time. A second screening of the 60 preselected mutants was performed by confocal microscopy and 16 mutants were identified with stronger biomass compared to the wild-type strain.

The formation of biofilm by these mutants was analyzed in the BioFlux<sup>TM</sup> system, a microfluidic model allowing a precise regulation of the shear force. All mutants formed biofilm with a specific 3D structure and a higher robustness than that of the wild-type strain. The wild-type biofilm detached under a shear force of 2 dynes/cm<sup>2</sup> whereas some mutant biofilms resisted even at 10 dynes/cm<sup>2</sup>. The transposon insertion points inside the genome were determined by whole genome sequencing, and isogenic deletion mutants were constructed to confirm the role of each gene in the dynamic change of biofilm structure. This work will contribute to a better understanding of the molecular mechanisms that take place during *K. pneumoniae* biofilm development to modify the structure prior to the dispersal.

**Mots clés :** *K. pneumoniae* - Biofilm dispersion - Biofilm robustness - Microfluidic model - Shear force.

## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P12

Microbiologie fondamentale

## Une petite ORF présente dans la séquence d'insertion IS91 influence négativement sa transposition

Aurélien Fauconnier (aurelien.fauconnier@unilim.fr), Marie-Cécile Ploy, Thomas Jové, Cécile Pasternak

U1092, Univ. Limoges, INSERM, CHU Limoges, RESINFIT, Limoges, France

La multirésistance aux antibiotiques est principalement due aux transferts horizontaux d'éléments génétiques mobiles tels que les séquences d'insertions (IS), les transposons, les plasmides et les intégrons. L'élément IS91 est généralement associé aux gènes de virulence et de résistance aux antibiotiques, mais sa contribution à leur dissémination n'a pas encore été démontrée. IS91 appartient à une famille d'IS atypique dont les transposases sont des endonucléases HUH utilisant un mécanisme de transposition par cercle roulant<sup>1</sup>. Les IS de cette famille présentent deux extrémités fonctionnellement distinctes : la transposition débute à l'extrémité dite *oriIS* et se termine à l'extrémité *terIS*. Néanmoins, le *terIS* n'est pas toujours reconnu par la transposase, ce qui conduit à la mobilisation d'un fragment d'ADN adjacent, un phénomène appelé «*one-ended transposition*»<sup>2</sup>. Contrairement aux autres membres de la famille, IS91 contient en amont du gène de la transposase (*tnpA*), une petite ORF codant potentiellement un polypeptide de 121 acides aminés : l'ORF121<sup>2</sup>. Le codon de terminaison de l'ORF121 chevauche le codon d'initiation du gène *tnpA*, suggérant un couplage traductionnel pour l'expression des deux gènes.

Nous avons étudié le rôle de l'ORF121 dans la transposition *in vivo* d'IS91 en utilisant un système génétique basé sur la procédure de conjugaison chez *Escherichia coli*.

Nous avons montré que la co-expression de l'ORF121 (en *cis* ou en *trans*), en plus du gène de la transposase, diminuait fortement la fréquence de transposition d'IS91 et le taux de *one-ended transposition*. Ces résultats suggèrent donc que le polypeptide ORF121 exerce un effet négatif sur la transposition *in vivo* d'IS91 et qu'il pourrait être nécessaire à la reconnaissance et au clivage de l'extrémité *terIS*. Par ailleurs, en utilisant des fusions *lacZ*, nous avons aussi détecté dans IS91 un promoteur fonctionnel qui pourrait contrôler l'expression des gènes *ORF121* et *TnpA*. Enfin, la cartographie et le séquençage de plus de 200 insertions *in vivo* d'IS91 ont indiqué que la spécificité du site cible d'IS91 est indépendant de l'ORF121.

**Mots clés :** Transposition - Séquence d'insertion - IS91 - ORF121.

## Références :

1. Garcillán-Barcia, M. P., and al. «Mobile DNA II.» (2002): 891-904.
2. Bernales, and al. "Intramolecular transposition of insertion sequence IS91 results in second-site simple insertions." *Molecular microbiology* 33.2 (1999): 223-234.

**MF-P Microbiologie fondamentale**

MF-P13

**Utilisation de deux systèmes complémentaires de nomenclature bactérienne : Les codes MLSL (MultiLevel Single Linkage) et LIN (Life Identification Numbers)**

Mélanie Hennart (mhennart@pasteur.fr)

Institut Pasteur, Paris, France

**Introduction et objectifs :**

La grande majorité des espèces bactériennes comprend une grande variété de souches qui diffèrent par leur résistance aux antibiotiques, leur virulence ou leur potentiel de transmissibilité. Pour permettre une surveillance efficace en santé publique, une définition et une identification précises des souches sont nécessaires. Cependant si la classification et la nomenclature des procaryotes sont unifiées au rang des espèces et des taxons supérieurs, elles font largement défaut au rang des souches au sein des espèces, ce qui complique la communication en biologie des populations et surveillance épidémiologique.

**Matériels et méthodes :**

Nous proposons ici une approche de classification et de nomenclature génomique largement applicable aux souches bactériennes, en utilisant comme modèle *Klebsiella pneumoniae*, pathogène d'importance primordiale en santé publique. Sur la base d'un schéma « core genome multilocus sequence typing » (cgMLST), nous avons conçu un système de code-barres double qui combine le « MultiLevel Single Linkage » (MLSL) et les « Life Identification Numbers » (LIN).

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les analyses phylogénétiques et de regroupement de plus de 7000 séquences génomiques ont permis de saisir des discontinuités dans la structure des populations, qui ont été utilisées pour guider la définition de 10 seuils de dissimilarité génétique infraspécifique. La nomenclature très utilisée du « multilocus sequence typing » (MLST) à 7 gènes a été cartographiée sur les lignées et groupes clonaux définis par MLSL afin d'assurer une compatibilité rétroactive de la nomenclature.

La taxonomie des souches proposée combine deux systèmes de codes-barres informatifs sur le plan phylogénétique qui offrent une stabilité totale (codes LIN) et une continuité nomenclaturale avec la nomenclature précédente (MLSL). Cette stratégie de double code-barres spécifique à l'espèce est largement applicable pour la taxonomie génomique des souches microbiennes et devrait faciliter la communication sur l'émergence et la microévolution des pathogènes bactériens.

**Mots clés :** Nomenclature des souches - Classification génomique - Microévolution.

**Références :**

1. Melanie Hennart, Sebastien Bridel, Julien Guglielmini, Martin C.J. Maiden, Keith A. Jolley, Alexis Criscuolo, Sylvain Brisse. 2021. bioRxiv 2021.07.26.453808; doi: <https://doi.org/10.1101/2021.07.26.453808>

**MF-P Microbiologie fondamentale**

MF-P14

Microbiologie fondamentale

**Impact de l'acétylation des glycopeptidolipides dans la virulence de *Mycobacterium abscessus***

Morgane Illouz<sup>1</sup> (morgane.illouz@irim.cnrs.fr), Louis-David Leclerc<sup>2</sup>, Wassim Daher<sup>1</sup>, Yann Guerardel<sup>2</sup>, Laurent Kremer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier/ UMR 9004/ CNRS, Montpellier, France

<sup>2</sup> Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, UMR 8576 CNRS, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lille, Villeneuve-d'Ascq, France

**Introduction et objectifs :**

*Mycobacterium abscessus* (*Mab*) est un pathogène opportuniste qui se caractérise par sa multirésistance aux antibiotiques et la richesse de sa paroi en lipides complexes, incluant notamment les glycopeptidolipides (GPL). Ces derniers distinguent les deux morphotypes de *Mab* (lisse et rugueux, présentant ou non des GPL, respectivement). Les GPL sont impliqués dans la formation des biofilms, la motilité de la bactérie et les interactions avec l'hôte. Une récente étude<sup>1</sup> a montré que l'absence du 6-desoxy-talose sur les GPL induisait un changement morphologique comparable à la souche rugueuse de référence. Le 6-desoxy-talose étant coiffé de deux groupements acétyles dont les fonctions biologiques demeurent inconnues, nous avons entrepris une étude pour comprendre si ces modifications sont uniquement causées par l'absence du 6-desoxy-talose ou si les acétyles contribuent à ces effets.

**Matériels et méthodes :**

Pour appréhender le rôle des groupements acétyles, nous avons généré une batterie de mutants ( $\Delta MAB_{4106c}$ ;  $\Delta MAB_{4110c}$  et  $\Delta MAB_{4106c}$ ,  $MAB_{4110c}$ ) par double recombinaison homologue. Leur caractérisation a consisté en une analyse structurale des GPL par chromatographie sur couche mince, spectrométrie de masse et RMN. Des changements morphologiques ont été observés sur Tryptic Soy Agar. L'internalisation et la survie intramacrophagique ont été évaluées sur des monocytes humains différenciés en macrophages.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'analyse structurale des mutants  $\Delta atf1$  et/ou  $\Delta atf2$  a révélé la présence des acétyles, suggérant que d'autres acétyltransférases (Atf) localisées en dehors du locus GPL peuvent compenser l'absence d'Atf1 et d'Atf2 chez *Mab*. Une analyse bioinformatique a permis d'identifier deux acétyltransférases paralogues, dont l'une est codée par un prophage. Après délétion, des modifications morphologiques ont été observées et l'analyse biochimique de ces mutants a révélé l'absence des groupements acétyles, confirmant l'implication de ces Atf. Des changements additionnels concernant la glycosylation et la méthylation des GPL ont été observés. Des études *in cellulo* en cours suggèrent des changements dans la survie intramacrophagique de ces mutants. Afin de valider le rôle des acétyles dans les interactions avec le macrophage, nous utiliserons des billes enrobées de GPL acétylés et désacétylés. A terme, cette étude permettra de déterminer l'impact de l'acétylation dans la physiologie et la virulence de *Mab*.

**Mots clés :** *Mycobacterium abscessus* - Acétyltransférases - Glycopeptidolipides.

**Références :**

1. Daher, W. et al. Glycopeptidolipid glycosylation controls surface properties and pathogenicity in *Mycobacterium abscessus*. *Cell Chemical Biology* 29, 910-924.e7 (2022).

## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P15

**De l'étude de CmpX à l'étude d'autres canaux ioniques mécanosensibles régulés par le facteur Sigma à fonction extracytoplasmique SigX**

Emeline Maillot Bouffartigues (emeline.bouffartigues@univ-rouen.fr), Clarisse Labbé, Audrey David, Olivier Maillot, Jordane Omnes, Sylvie Chevalier

UR 4312 CBSA, Université de Rouen Normandie, Évreux, France

Les canaux ioniques mécanosensibles (MSCs) sont des protéines ubiquitaires dont l'ouverture sous l'effet de contraintes membranaires permet le passage d'ions ou de molécules selon la sélectivité de celui-ci. Chez *Escherichia coli*, le canal de faible conductance MscS est l'un des plus étudiés. Il est impliqué dans la régulation de la pression de turgescence lors d'un abaissement brusque de l'osmolarité du milieu. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, CmpX est une protéine de fonction encore très méconnue. Nous avons montré que son gène fait partie avec *cfrX* d'une unité transcriptionnelle localisée directement en aval de *cmaX* et amont de *sigX* et d'*oprF*. SigX est un facteur sigma à fonction extracytoplasmique (ECF) de réponse au stress d'enveloppe activé en condition d'hypoosmolarité, qui contrôle de manière directe l'expression de *cfrX-cmpX*. Les produits de cet opéron sont impliqués dans la régulation de SigX. Huit autres MSCs sont codés chez *P. aeruginosa* dont le PA4925, un autre homologue de MscS d'*E. coli*. Nous avons montré chez la souche H103 que si CmpX fait partie des MSCs les plus exprimés, PA4925 reste peu exprimé en milieu LB. Pour préciser le rôle de CmpX, un mutant de délétion et une souche de surexpression ont été a été construit et ont été étudié en milieu LB. Nous avons observé que l'absence de CmpX provoque des altérations de l'enveloppe en phase stationnaire de croissance et une activation au stress dépendante de SigX. Inversement nous avons montré que la surexpression de *cmpX* chez la souche H103 réduit l'expression de *cfrX*, PA5174 (*fabY*) et d'*oprF*, trois gènes cibles de SigX. De manière similaire à *cmpX*, l'expression de PA4925 est augmentée en condition d'hypoosmolarité, suggérant l'implication de SigX dans sa régulation. De plus, l'activité promotrice de PA4925 est réduite dans un mutant *sigX*. De manière intéressante la surexpression de PA4925 réduit l'expression de *cmaX*, le gène localisé en amont de *cfrX-cmpX* codant pour un transporteur de cations divalents. Dans l'ensemble ces données permettent de mettre en évidence un lien entre l'expression de ces deux MSCs et (i) la régulation des membres de l'opéron *cmaX-cfrX-cmpX*, (ii) l'activité de SigX et (iii) la réponse au stress d'enveloppe.

**Mots clés :** Stress d'enveloppe - Facteur sigma ECF - Canaux ionique mécanosensibles - *P. aeruginosa* - Perception-transduction du signal.



## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P16

**Antibiofilm properties of antiseptic agents on Diabetic Foot Ulcer isolated *Pseudomonas aeruginosa* biofilm**

Koko Barrigah Benissan<sup>1</sup> (jerome.ory@chu-nimes.fr), Jérôme Ory<sup>1</sup>, Catherine Remy<sup>1</sup>, Jean Philippe Lavigne<sup>1</sup>, Albert Sotto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Service de Microbiologie et hygiène hospitalière, CHU Nîmes, Nîmes, France

<sup>2</sup> Service de Maladies Infectieuses et tropicales, CHU Nîmes, Nîmes, France

**Introduction:**

In diabetic foot ulcer (DFU), biofilm delays wound healing delay and promotes wound chronicity. Antibiofilm strategies as antiseptic agents are increasingly recommended to treat DFU. There is however a lack of evidence for recommending one antiseptic over others. Antibiofilm properties of 4 antiseptic agents were evaluated with 2 static and 1 dynamic biofilm models.

**Material and Method:**

Sodium Hypochlorite (SH), PolyVinylPyrrolidone Iodine (PVPI), PolyHexaMethylene Biguanide (PHMB) and Octenidine were assessed on biofilms from 3 DFU isolated and 1 reference *Pseudomonas aeruginosa* strains. Anti-aggregation effect was evaluated with Biofilm Ring Test (BRT)<sup>®</sup> static model. Antibiofilm properties on mature biofilm was evaluated with a quantitative microbial load reduction static model. 1:2 to 1:2048 antiseptic dilutions were used in the static models. Bioflux<sup>®</sup> dynamic model media was used in assessing the antiseptic effect on a 72H biofilm under flow conditions. The chronic wound media (CWM), a new in vitro biofilm study media model was coupled with the quantitative microbial load reduction and the Bioflux<sup>®</sup> model to mimic a wound-like micro-environment.

**Results and Discussion:**

Very low dilutions of commercial solutions were required for anti-aggregation effect with BRT<sup>®</sup> model; respectively 1:8; 1:20; 1:40 and 1:40 for SH, PVPI, PHMB and Octenidine. Higher dilutions were required for a 10log reduction of the mature biofilm (1:3; 1:8; 1:100 and 1:50 for SH, PVPI, PHMB and Octenidine respectively). Biofilm formation and biofilm maturation were enhanced in CWM; resulting in a heavier and denser biofilm. Therefore, in CWM, higher concentrations were required for the same effect for PVPI, PHMB and Octenidine (respectively: 1:2, 1:50 and 1:40). SH showed no media dependent effect for mature biofilm reduction. With Bioflux<sup>®</sup> model, SH and PHMB were the most effective antibiofilm against 72h mature biofilm. Octenidine showed a strain dependent and media dependent effect. PVPI could not be evaluated using Bioflux<sup>®</sup> model due to the solution correlation.

**Conclusion:** SH and PHMB seem antiseptic candidates for antibiofilm wound care. Since DFU biofilm is composed of multispecies communities, these results will be completed with the analysis of antiseptic antibiofilm properties on a polymicrobial biofilm.

*Mots clés* : Antiseptic - Biofilm - *Pseudomonas aeruginosa* - Diabetic foot ulcer - Dynamic model.

## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P17

**Les analogues de Cyclophostines et Cyclipostins : des molécules aux multiples facettes pour lutter contre les infections à *Mycobacterium abscessus***

Morgane Sarrazin<sup>1</sup> (msarrazin@imm.cnrs.fr), Christopher Spilling<sup>2</sup>, Jean-Louis Herrmann<sup>3</sup>, Laurent Kremer<sup>4</sup>, Jean-François Cavalier<sup>1</sup>, Stéphane Canaan<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LISM, CNRS, Marseille, France

<sup>2</sup> Université du Missouri-St. Louis, Saint-Louis, États-Unis

<sup>3</sup> UVSQ, INSERM UMR1173, Versailles, France

<sup>4</sup> IRIM, INSERM/CNRS, Montpellier, France

Les mycobactéries sont à l'origine de maladie bien connu comme la tuberculose ou la lèpre mais certaines, moins connu, sont des pathogènes émergents qui peuvent être responsable d'infections sévères, chronique et persistante. Parmi eux, *M. abscessus* peut-être à l'origine d'infection pulmonaire chez des individus présentant une pathologie sous-jacente comme la BPCO ou la mucoviscidose. Chez ces derniers, la colonisation des poumons par *M. abscessus* affecte significativement la fonction pulmonaire entraînant une forte détresse respiratoire. Entre traitement lourd, avec de nombreux effets secondaires, apparition de souches résistantes et échec thérapeutique, le traitement des infections à *M. abscessus* représente aujourd'hui un réel déficit. Il y a donc une recherche constante de nouvelles molécules pour traiter ces infections et détecter sa présence pour déterminer rapidement une voie thérapeutique spécifique. Dans ce contexte, nous avons découvert une famille de composés, les analogues de Cyclophostines et Cyclipostins (CyC), qui représentent des outils utiles pour aborder la question des nouveaux traitements et diagnostics. Ainsi, nous avons caractérisé le potentiel thérapeutique des CyC par de nombreuses techniques multidisciplinaires (antibiogramme, synergie, microscopie, identification des cibles par spectrométrie de masse, etc...).

Ces composés possèdent une activité antibactérienne sur plusieurs mycobactéries pathogènes incluant *M. abscessus* dont l'efficacité est similaire aux meilleurs antibiotiques de référence déjà utilisés en clinique. Nous avons pu ensuite valider l'efficacité des CyC sur plusieurs souches cliniques qui présentaient différents profils de sensibilité aux antibiotiques directement isolées de patients infectés par *M. abscessus*. D'autre part, la bactérie est incapable de déclencher des mécanismes de résistance vis-à-vis des CyC. Ceci est particulièrement encourageant car cela peut éviter l'apparition de bactéries résistantes et donc l'échec thérapeutique. De plus, nous avons montré que les CyC ne sont pas toxiques pour l'animal et qu'ils sont capables de cibler spécifiquement *M. abscessus*. D'ailleurs la sélection de *M. abscessus* par les CyC nous encourage à étendre l'utilisation de ces composés comme outil de diagnostic pour des infections à ce pathogène. Enfin, nous avons pu montrer que les CyC peuvent être également associés aux antibiotiques déjà utilisés pour soigner ces infections et que l'association des deux permet une meilleure efficacité de l'activité antibactérienne.

**Mots clés :** Infection - Mucoviscidose - *M. abscessus* - Antibiorésistance - Traitement.

## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P18

**Relation entre le métabolisme et la virulence chez les entérocoques : l'antitermineur BglG d'*Enterococcus faecalis* contrôle l'expression d'un facteur de virulence**

Diane Soussan (diane.soussan@unicaen.fr), Marine Salze, Nicolas Sauvageot, Alain Rincé, Cécile Muller-Pujol

Unité de Recherche Communication Bactérienne et Stratégies Anti-infectieuses, Université de Caen Normandie, Caen, France

**Introduction et objectifs :**

Les entérocoques sont des pathogènes opportunistes retrouvés dans la flore intestinale de l'Homme, qui peuvent provoquer des infections associées aux soins (principalement *Enterococcus faecalis*). De nouvelles stratégies de traitements sont recherchées pour lutter contre ces infections car les entérocoques présentent de nombreuses résistances aux antibiotiques et des capacités de survie aux stress environnementaux exceptionnelles. Les gènes codant des protéines impliquées dans le métabolisme, dont celui des  $\beta$ glucosides, représentent une cible intéressante car ils subissent d'importants changements d'expression *in vivo* en condition de colonisation (1). Le métabolisme des  $\beta$ glucosides est régulé chez *E. faecalis* par l'opéron *bglGnagE* codant respectivement un antitermineur de la transcription et une enzyme EII d'un système phosphotransférase spécifique du Nacetylglucosamine ( $\beta$ glucoside) (2). BglG est une protéine régulatrice qui se fixe sur des séquences spécifiques des ARNm de ses gènes cibles permettant leur expression. L'objectif de ce travail est d'étudier les gènes cibles de BglG pouvant expliquer le rôle du métabolisme des  $\beta$ glucosides dans la pathogénicité d'*E. faecalis*.

**Matériels et méthodes :**

Les cibles de BglG ont été identifiées par la recherche de la séquence consensus de fixation de BglG sur le génome, puis confirmées par transcription *in vitro* et thermophorèse. Les rôles de BglG et de ses gènes cibles ont ensuite été analysés par la construction de mutants et des analyses physiologiques dont l'analyse de la dégradation des glycosaminoglycans en milieux gélosés (3) et la formation de biofilms par coloration au crystal violet. Le modèle *Galleria mellonella* a été utilisé pour étudier l'importance des gènes étudiés dans la virulence de la bactérie.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nous avons montré que BglG est capable de réguler sa propre expression et celle de la hyaluronidase HylA, qui est impliquée dans la dégradation de l'acide hyaluronique (constituant de la matrice extracellulaire de l'hôte), la formation de biofilms et la pathogénicité. Ainsi, BglG est le premier antitermineur d'*E. faecalis* qui a été montré comme possédant un régulon plus vaste que sa seule expression. L'étude du régulon de BglG est une perspective intéressante dans l'intention de mieux comprendre les mécanismes de colonisation des entérocoques et leur lien avec le métabolisme.

**Mots clés :** *Enterococcus faecalis* -  $\beta$ -glucoside - Antitermineur - Régulon - Virulence.

**Références :**

1. Muller C, Cacaci M, Sauvageot N, Sanguinetti M, Rattei T, Eder T, et al. 2015. The intraperitoneal transcriptome of the opportunistic pathogen *Enterococcus faecalis* in mice. Lemos JA, éditeur. PLOS ONE. 10(5):e0126143.
2. Keffeler EC, Parthasarathy S, Abdullahi ZH, Hancock LE. 2021. Metabolism of poly- $\beta$ 1,4-N-Acetylglucosamine substrates and importation of N-Acetylglucosamine and glucosamine by *Enterococcus faecalis*. Federle MJ, éditeur. J Bacteriol. 203(21):e00371-21.
3. Kawai K, Kamochi R, Oiki S, Murata K, Hashimoto W. 2018. Probiotics in human gut microbiota can degrade host glycosaminoglycans. Sci Rep. 8(1):10674.

**MF-P Microbiologie fondamentale**

MF-P19

**Impact des modifications post-transcriptionnelles des ARN sur la virulence de *Staphylococcus aureus***

Chloé Teixeira<sup>1</sup> (chloe.teixeira@univ-lyon1.fr), Florence Couzon<sup>1</sup>, Pauline François<sup>1</sup>, Karen Moreau<sup>1</sup>, François Vandenesch<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> CIRI, Centre International de Recherche en Infectiologie, Inserm, U1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> Centre National de Référence des Staphylocoques, Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Introduction et objectifs :**

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) est un pathogène humain majeur capable de provoquer une large diversité d'infections. La plupart des souches possèdent l'arsenal de pathogénie mais produisent différentes quantités de facteurs de virulence grâce à une régulation fine à différents temps et lieux de l'infection via de nombreux systèmes de régulation dont fait partie le niveau d'efficacité de traduction. Dans certaines conditions, des modifications post-transcriptionnelles des ARN (ARNt, ARNr, ARNm, ARNs) peuvent moduler l'efficacité de traduction en influant sur la structure des ARN, le biais d'usage des codons ou encore l'efficacité d'action des ribosomes. Ces modifications, réalisées par des enzymes spécifiques, pourraient influencer l'expression des facteurs de virulence et être un nouveau levier d'orchestration du programme de virulence bactérien.

**Matériels et méthodes :**

Afin de comprendre comment ces modifications des ARN peuvent réguler le programme de virulence bactérien, nous étudions dans un premier temps leurs impacts sur la survie et l'adaptation de *S. aureus* en comparant la physiologie d'une souche sauvage avec celles de souches mutantes déficientes pour les enzymes de modification. Dans un second temps, une analyse de la conservation des enzymes et de leurs niveaux d'expression dans une collection de 300 souches cliniques (issues de patients atteints de bactériémies, endocardites et pneumonies) est menée à bien afin de les corrélérer avec le niveau de virulence de *S. aureus*.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'inactivation de certaines enzymes de modification impacte la résistance de *S. aureus* à différents stress (oxydatif et antibiotique) ainsi que sa capacité à produire du biofilm, des toxines ou encore sa persistance intracellulaire. Pour autant, les effets sont différents selon les enzymes et les modifications impliquées.

Par ailleurs, les séquences protéiques des enzymes de modification sont fortement conservées au sein des souches cliniques, supposant que les différences de profils de modifications des ARN pourraient résulter d'une expression variable des enzymes, hypothèse qui sera par la suite explorée.

A terme, ce projet permettra de relier les variations de motifs de modifications post-transcriptionnelles des ARN avec les profils d'expressions des facteurs de virulence pour comprendre l'impact des modifications sur la virulence de *S. aureus* et les pathologies associées.

**Mots clés :** *S. aureus* - Modifications post-transcriptionnelles - ARN - Virulence - Régulation.

## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P20

**Identification des gènes essentiels *in vitro* de *Pseudomonas aeruginosa* OprD mutant résistant aux carbapénèmes**

Cléophee Van Maele<sup>1</sup> (cleophee.van-maele@univ-reims.fr), Ségolène Caboche<sup>2,3</sup>, Thomas Blanchot<sup>1,4</sup>, Audrey Brisebarre<sup>1</sup>, Christophe Audebert<sup>3,5</sup>, Anaëlle Muggeo<sup>1,4</sup>, Thomas Guillard<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Inserm UMR-S 1250 P3Cell, Université de Reims Champagne-Ardenne, SFR CAP-Santé, Reims, France

<sup>2</sup> U1019-UMR 8204-CIIL-Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Univ Lille, CNRS, Inserm, CHU de Lille, Institut Pasteur de Lille, Lille, France

<sup>3</sup> Pegase-Biosciences, Institut Pasteur de Lille, Lille, France

<sup>4</sup> Bactériologie-Virologie-Hygiène Hospitalière-Parasitologie-Mycologie, CHU Reims, Hôpital Robert Debré, Reims, France

<sup>5</sup> Gènes Diffusion, Douai, France

**Introduction et objectifs :**

*Pseudomonas aeruginosa* (PA) OprD mutant est une souche résistante aux carbapénèmes par perte fonctionnelle la porine OprD. Elle présente une pathogénicité augmentée vis-à-vis de l'épithélium des voies aériennes en contrebalançant la réponse oxydative antibactérienne. Pour tenter d'appréhender ce phénomène, nous avons cherché à déterminer les gènes essentiels de PA14 OprD mutant par TnSeq (Transposon Sequencing).

**Matériels et méthodes :**

La construction de la banque de mutant PA14 $\Delta$ oprD a été réalisée par intégration d'un transposon au niveau des sites thymine-adénine (TA) du génome de façon aléatoire et unique et inactivant ainsi dans chaque bactérie constituant la banque, un gène de l'ensemble du chromosome. Les banques PA14 WT et PA14 $\Delta$ oprD ont ensuite été cultivées en milieu LB et l'ADN génomique bactérien a été extrait, purifié, digéré par l'enzyme de restriction Mmel, ligaturé à des adaptateurs, amplifié par PCR puis séquencé à haut débit en « single-read » sur Nextseq 500. L'analyse des données de TnSeq n'étant pas standardisée, différentes méthodes et paramètres d'analyses ont été comparés pour déterminer les gènes essentiels avec les logiciels TRANSIT et FiTnEss. Les gènes identifiés ont ensuite été annotés avec leurs fonctions et les résultats obtenus pour les deux souches ont été comparés.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Avant de déterminer les gènes essentiels, les métriques des différents échantillons ont été contrôlées et ont permis la validation des deux banques. Après comparatif des méthodes d'analyse, c'est le logiciel FiTnEss qui a été utilisé. Nous avons ainsi établi une liste de 510 gènes essentiels pour PA14 $\Delta$ oprD en milieu LB versus 609 gènes essentiels pour PA14 WT. Quatre-vingt-six gènes étaient spécifiques de PA14 WT et 31 gènes étaient spécifiques à la PA14 $\Delta$ oprD. Les 31 gènes spécifiques de PA14 $\Delta$ oprD ont été annotés à l'aide des bases de données existantes. L'essentialité de ces 31 gènes, en comparaison avec PA14WT, est donc la résultante de la perte de la porine OprD. Ils pourraient donc intervenir dans l'augmentation de la pathogénicité du mutant vis-à-vis de l'épithélium des voies aériennes. Pour renforcer les résultats de séquençage, l'essentialité des gènes déterminés va être vérifiée biologiquement.

**Mots clés :** *Pseudomonas aeruginosa* - Épithélium des voies aériennes - Résistance aux antibiotiques - Infection - OprD.

## MF-P Microbiologie fondamentale

MF-P21

**Décoder le polymorphisme présent dans 61,157 génomes d'*Escherichia coli***

Lucile Vigué<sup>1</sup> (lucile.vigue@inserm.fr), Giancarlo Croce<sup>2,3</sup>, Marie Petitjean<sup>1</sup>, Olivier Tenaillon<sup>1</sup>, Martin Weigt<sup>4</sup>

<sup>1</sup> IAME, Université Paris Cité et Université Sorbonne Paris Nord, Inserm, Paris, France

<sup>2</sup> Ludwig Institute for Cancer Research Lausanne, Département d'Oncologie, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse

<sup>3</sup> Swiss Institute of Bioinformatics - SIB, Lausanne, Suisse

<sup>4</sup> Institut de Biologie Paris Seine, Computational and Quantitative Biology - LCQB, Sorbonne Université, CNRS, Paris, France

**Introduction et objectifs :**

Caractériser l'effet des mutations est capital pour comprendre l'évolution des protéines. Le Direct-Coupling Analysis (DCA) est une méthode qui permet d'inférer l'effet des mutations non-synonymes, à partir d'alignements d'homologues distants d'une même protéine, en prenant en compte l'épistasie entre paires de résidus. Nous proposons d'employer le DCA pour prédire le polymorphisme observé chez *E. coli* et quantifier la contribution du contexte génétique dans ces prédictions.

**Matériels et méthodes :**

Les mutations non-synonymes observées dans le core génome de plus de 61,000 génomes d'*E. coli* ont été rassemblées. Les différences fixées entre *E. coli* et des espèces apparentées telles que *Yersinia pestis* sont également recensées.

En comparant le niveau de variabilité d'un site protéique, tel que prédit par le DCA, à la réalité observée, nous évaluons le pouvoir prédictif du DCA. En mettant ces prédictions en regard avec celles d'un modèle ignorant l'épistasie (IND), nous identifions les résidus qui ne peuvent pas muter du fait d'interactions épistatiques.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nous montrons que le DCA prédit les sites polymorphiques chez *E. coli* nettement mieux que l'IND. De plus, 30% à 50% des sites protéiques sont contraints par des interactions épistatiques qui réduisent drastiquement leur capacité à tolérer des polymorphismes chez *E. coli*. L'étude du contexte génétique d'espèces apparentées à *E. coli* suggère que le contexte génétique se construit graduellement par accumulation de nombreux couplages épistatiques faibles. Nous montrons ainsi que des approches bio-informatiques qui reposent sur l'analyse d'espèces très éloignées peuvent nous informer sur la variabilité au sein d'une espèce donnée. Nous démontrons également les capacités prédictives du DCA et l'importance de considérer le contexte génétique dans lequel une mutation apparaît pour en prédire l'effet.

Nos travaux ont des implications hors de l'étude d'*E. coli*, par exemple chez l'humain pour détecter des mutations causatives de maladies génétiques.

**Mots clés :** *Escherichia coli* - Polymorphisme - Evolution - Effet des mutations - Epistasie.

**MF-P Microbiologie fondamentale**

MF-P22

Microbiologie fondamentale

**Adaptation génomique de *Pseudomonas aeruginosa* ST299 au réseau d'eau en cuivre de réanimation médicale d'un CHU**

Maxine Virieux-Petit<sup>1,2</sup> (maxine.virieuxpetit@orange.fr), Fabien Aujoulat<sup>1</sup>, Sara Romano-Bertrand<sup>1,2</sup>, Estelle Jumas-Bilak<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Equipe Pathogènes Hydriques Santé et Environnement, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> Equipe d'Hygiène Hospitalière, Centre Hospitalier Universitaire de Montpellier, Montpellier, France

**Introduction et objectif :**

*Pseudomonas aeruginosa* (PA) est un pathogène opportuniste caractérisé par un large core-génome soutenant ses capacités d'adaptation et sa résistance aux antibiotiques/biocides. Sa structure de population comprend des génotypes à haut risque épidémique à succès dans les infections associées aux soins (IAS). Les caractères génomiques impliqués dans l'adaptation et la survie de PA dans les réseaux d'eau hospitaliers restent peu décrits mais leur compréhension est nécessaire pour prévenir les IAS à PA. La dynamique adaptative et l'évolution longitudinale de PA particulièrement étudiée dans les poumons des patients atteints de mucoviscidose, est peu décrite dans un réseau d'eau cuivré d'un service de réanimation médicale.

**Matériels et méthodes :**

Le réseau d'eau en cuivre de la réanimation médicale d'un CHU a été colonisé par une population de PA séquence type (ST) 299, dès son ouverture pendant 29 mois. Soixante-treize isolats hydriques et 12 isolats responsables d'infection ou colonisation chez des patients hospitalisés au sein de ce service durant cette période, ont été séquencés. Plusieurs approches ont été utilisées pour explorer l'adaptation génomique de PA au réseau cuivré : l'étude des polymorphismes nucléotidiques uniques (SNP), des réarrangements génomiques et du pangénome.

**Résultats, discussion et conclusion :**

La population ST299 est apparue très homogène avec un clade A majoritaire réunissant 79 isolats. Parmi un core-SNP de 46896 bases, les 6 isolats divergents présentaient 28036 SNP alors que les 79 autres ne différaient que par < 2 SNP en moyenne. Les analyses de pulsotypes n'ont pas permis d'identifier de réarrangement. Le profil de sensibilité aux antibiotiques prédit par les analyses génomiques est apparu stable. L'analyse pangénomique a identifié au sein du clade A un opéron de résistance au cuivre ainsi que d'autres gènes de résistance aux métaux et des pompes d'efflux à spectre large. Ces éléments soutiennent la survie de la population clonale dans l'environnement hostile du réseau d'eau de l'hôpital.

La grande stabilité génomique de PA ST299 colonisant le réseau d'eau en cuivre contraste avec la plasticité génomique habituelle décrite chez PA. Les approches génomiques constituent une première étape dans la description de l'adaptation bactérienne mais ne sont pas suffisantes pour comprendre les comportements bactériens dans des environnements complexes.

**Mots clés :** *Pseudomonas aeruginosa* - Séquençage du génome entier - Plasticité génomique - Réseau d'eau.

**MF-P Microbiologie fondamentale**

MF-P23

Microbiologie fondamentale

**Lien entre la structure tertiaire de la protéine de stress Lo18 et son rôle de lipochaperon moléculaire**

Tiffany Bellanger<sup>1</sup> (tiffany.bellanger@u-bourgogne.fr), Sophie Combet<sup>2</sup>, Paloma Fernandez-Varela<sup>3</sup>, David . da Silva Barreira<sup>1</sup>, Fabrice Neiers<sup>4</sup>, Aurélie Rieu<sup>1</sup>, Stéphanie Weidmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Equipe VAIMIS, UMR A PAM 02.102, Dijon, France

<sup>2</sup> Laboratoire Léon-Brillouin, UMR 12 CEA-CNRS, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France

<sup>3</sup> Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, Institute for Integrative Biology of the Cell, Gif-sur-Yvette, France

<sup>4</sup> : Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation (CSGA), Univ. Bourgogne Franc, Dijon, France

**Introduction et objectif :**

L'expression de small heat shock protein (sHSP) est une des stratégies majeures de réponse au stress développées par les bactéries. Toutes les sHSPs ont la caractéristique commune d'avoir une activité de chaperon moléculaire c'est-à-dire de protéger les protéines cellulaires de l'agrégation suite au stress. Certaines d'entre elles ont, en plus, la particularité d'exercer, un rôle de lipochaperon en interagissant avec les lipides membranaires afin de maintenir une fluidité membranaire optimale nécessaire à la survie des cellules. Bien que cruciale dans la réponse au stress, cette activité lipochaperon chez les sHSP reste peu décrite dans la littérature. Malgré une forte hétérogénéité de séquence, la présence de domaines hautement conservés, pourrait jouer un rôle clé dans l'établissement de cette activité.

**Matériels et méthodes :**

Une analyse bioinformatique des séquences primaires de différentes sHsp de bactéries lactiques a été réalisée afin d'identifier des domaines fortement conservés pour les sHSP ayant une activité lipochaperon. Une analyse *in silico*, de ces domaines, a ensuite été effectuée afin d'observer leur implication dans la structure tertiaire de la protéine. En parallèle, des mesures *in vitro*, permettant de caractériser la structure de la sHSP Lo18 ont été faites par dichroïsme circulaire en fonction de la température (rampe de 20°C à 65°C). Enfin, l'impact de la température sur le maintien de la fluidité membranaire et a été mesuré par spectrofluorimétrie avec des liposomes modèles et une protéine Lo18 purifiée.

**Résultats, discussion et conclusion :**

L'étude des séquences primaires des sHSP ayant une activité lipochaperon a mis en lumière la présence de cinq résidus fortement conservés. L'analyse, *in silico*, de ces résidus suggère que quatre d'entre eux joueraient un rôle important dans la structure de la protéine. Les résultats de dichroïsme circulaire indiquent une modification de la structure secondaire de la protéine dès 45°C. Cette température de 45°C correspond par ailleurs à la mise en place de l'activité lipochaperon de Lo18, comme le suggère aussi la spectrofluorimétrie. Ainsi, des modifications de structure secondaires de la protéine pourraient avoir un lien fort avec sa capacité à exercer un rôle de lipochaperon moléculaire.

*Mots clés* : sHsp - Activité lipochaperon - Lien structure/fonction - Interaction lipides-protéines.



**MH-P Microbiologie One Health**

MH-P01

**Modeling the aflatoxin production in peanuts agar medium stored under different water activity and temperature conditions**

Tomas Messaudi<sup>1</sup> (tomas.messaudi@cirad.fr), Ingrid Collombel<sup>2</sup>, Erica Siguemoto<sup>2</sup>, Jean-Michel Meot<sup>2</sup>, Noel Durant<sup>2</sup>, Christian Mestres<sup>2</sup>, Caroline Strub<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UMR QualiSud, Cirad, Montpellier, France

<sup>2</sup> QualiSud, Université de Montpellier, Avignon Université, CIRAD, Institut Agro, I, Montpellier, France

**Introduction and Objectives:**

The peanut crop and its co-products are the backbone of West Africa agricultural economy. However, the export sector has been suffering difficulties since the implementation of sanitary barriers that limit the maximum concentration of aflatoxin B1 (AFB1 : 4 – 20 µg/kg) in this commodity. The production of aflatoxins, which are secondary metabolites, by some fungus species of the genus *Aspergillus* affected by different abiotic and biotic factors, including water activity, and storage temperature. Particularly, the peanut crop is susceptible to aflatoxins contamination during the pre-harvest, harvest and post-harvest, being the storage condition the key stage to prevent aflatoxins formation. The objectives were to isolate and identify the aflatoxigenic strains from raw peanuts and to model the aflatoxin production in peanut agar media (kernels and pods) under different storage conditions.

**Material and Methods:**

Raw in-shell peanuts were purchased from local market at Cotonou (Benin), frozen and stored at – 20 °C. The peanuts were crushed and inoculated on PDA culture medium to isolate different *Aspergillus flavus* strains. The strains will be purified and identified by Sanger sequencing. The capacities of these strains to produce AFB1 will be analyzed by HPLC. The optimal aw and temperature for AFB1 production by two selected strains with different toxicity will be determined on PDA medium.

**Aimed Results:**

The effect of storage conditions (water activity and temperature) on aflatoxin B1 production in peanut pods and kernels media will be described by a polynomial equation, as well as, predictive capacity of the model in real inshell peanuts will be evaluated as tool for prevention of aflatoxin production at different points of the peanuts production chain.

*Mots clés* : *Aspergillus* - Inshell peanuts - Predictive mycology.

## MH-P Microbiologie One Health

MH-P02

**Étude intercompartimentale des isolats de *E. coli* producteurs de carbapénèmase à La Réunion dans une approche One Health**

Guillaume Miltgen<sup>1</sup> (guillaume.miltgen@chu-reunion.fr), Marion Daniel<sup>2</sup>, Loik Sababadichetty<sup>2</sup>, Matthieu Pot<sup>2</sup>, Thomas Garrigos<sup>1</sup>, Patrick Mavingui<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Bactériologie / UMR PIMIT, CHU / Université de La Réunion, Saint-Denis (La Réunion), France

<sup>2</sup> Laboratoire de Bactériologie / UMR PIMIT, CHU de La Réunion/IRD, Saint-Denis (La Réunion), France

<sup>3</sup> UMR PIMIT, Université de La Réunion / CNRS, Saint-Denis (La Réunion), France

**Introduction :**

À La Réunion, l'incidence des entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) est en forte augmentation (1). Il existe cependant très peu de données rapportant la dissémination de ces EPC hors du compartiment humain (2). L'objectif de cette étude était d'évaluer la dissémination des isolats *E. coli* producteurs de carbapénèmases (EcPC) dans les environnements anthropisés à La Réunion, et identifier les interconnexions potentielles entre les compartiments humains et environnementaux.

**Matériels et méthodes :**

En 2018-2019, des échantillons d'eaux usées ont été collectés mensuellement au niveau de 4 points de prélèvements dans les effluents urbains et la station d'épuration (STEP) de la ville de Saint-Denis. Les prélèvements ont été traités par dilution et filtration, puis étalés sur géloses chromogènes sélectives (3). Les isolats retrouvés ont été comparés à la collection régionale de EcPC humains conservée au CHU de La Réunion (2012-2020). La comparaison génomique (WGS) était basée sur un modèle cgMLST puis analyse de SNPs intra-ST (4).

**Résultats :**

Un total de 94 isolats de EcPC ont pu être inclus : environnementaux ( $n=10$ ) et humains ( $n=84$ ). Les 10 isolats environnementaux ont été retrouvés dans les égouts ( $n=4$ ) et à la STEP (entrée,  $n=3$  ; sortie  $n=3$ ). Concernant les isolats humains : 21,3% ( $n=20$ ) étaient d'origine autochtone et 78,7% ( $n=74$ ) est d'importation (Comores, Madagascar et Maurice). Un grand nombre de ST ont été identifiés ( $n=38$ ) dont 2 ST majoritaires : le ST167 ( $n=23$ ) associé très majoritairement au gène  $bla_{NDM-5}$  et aux isolats originaires de Madagascar, et le ST410 ( $n=13$ ), associé au gène  $bla_{OXA-181}$  et aux isolats originaires des Comores. Parmi les 8 STs inter-compartimentaux, 2 clusters de clonalité ont été identifiés (ST167/NDM-5, ST405/NDM-5) rassemblant respectivement 8 et 2 isolats (dont des isolats humains d'origine externe).

**Discussion et Conclusion :**

Cette première étude *One Health* sur les EPC à La Réunion prouve l'existence d'échanges entre les compartiments humains et environnementaux (anthropisés), faisant craindre une potentielle contamination des milieux peu anthropisés (sédiments, nappe phréatique, eau de baignade...) (5). Elle justifie la nécessité d'élargir cette analyse à l'ensemble des *Enterobacterales* et la mise en place de mesures visant à optimiser l'élimination de ces EPC dans les effluents d'origine humaine.

**Mots clés :** *E. coli* - Carbapénèmase - Homme - Environnement - La Réunion.

**Références :**

1. Miltgen G, Cholley P, Martak D, Thouverez M, Seraphin P, Leclaire A, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae circulating in the Reunion Island, a French territory in the Southwest Indian Ocean. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2020;9(1):36.
2. Mills MC, Lee J. The threat of carbapenem-resistant bacteria in the environment: evidence of widespread contamination of reservoirs at a global scale. *Environ Pollut*. 2019;255(Pt 1):113143.
3. Bréchet C, Plantin J, Sauget M, Thouverez M, Talon D, Cholley P, et al. Wastewater treatment plants release large amounts of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* into the environment. *Clin Infect Dis*. 2014;58(12):1658–65.
4. Pietsch M, Irrgang A, Roschanski N, Brenner MG, Hamprecht A, Rieber H, et al. Whole genome analyses of CMY-2-producing *Escherichia coli* isolates from humans, animals and food in Germany. *BMC Genomics*. 2018;19:601.
5. Haenni M, Dagot C, Chesneau O, Bibbal D, Labanowski J, Vialette M, et al. Environmental contamination in a high-income country (France) by antibiotics, antibiotic-resistant bacteria, and antibiotic resistance genes: Status and possible causes. *Environ Int*. 2022;159:107047.

**MH-P Microbiologie One Health**

MH-P03

**« Une seule santé » via l'analyse des eaux**

Elodie Pichon<sup>1</sup> (pichon.elodie@iage-france.com), Caroline Araiz<sup>1</sup>, Franz Durandet<sup>1</sup>, Olivier Couillerot<sup>1</sup>, Olivier Rousseau<sup>2</sup>

<sup>1</sup> IAGE, Montpellier, France

<sup>2</sup> GEOBIOMICS, Paris, France

L'épidémiologie consiste à suivre l'émergence et l'évolution des maladies infectieuses et agents pathogènes, de comprendre les dynamiques d'expression des maladies et de prévoir les risques sanitaires et leurs conséquences. Elle repose sur des activités pluridisciplinaires et s'intègre pleinement dans la démarche « One Health » qui promeut une approche globale et intégrée des enjeux sanitaires (santé humaine, santé animale, santé des écosystèmes) en lien avec l'évolution des milieux naturels. Dans ce contexte, les eaux constituent un type de matrices particulièrement intéressant pour l'application combinée de ces deux concepts. Pour répondre aux exigences de sensibilité et précision des analyses d'eaux, IAGE a mis au point et breveté une méthode *de concentration / extraction / analyse par PCR digitale* pour les virus, bactéries et les champignons.

Grâce à ce process original, IAGE suit des indicateurs de i) Santé humaine dans les eaux usées à l'échelle communautaire (bâtiments, villes), en quantifiant les virus SARS-CoV-2, Norovirus GI/GII, Hépatite A, Rotavirus ou des marqueurs bactériens de résistances aux antibiotiques (Beta-lactamines, Carbapénèmes et Vancomycine), de ii) Santé animale dans les eaux du bassin de Thau, en quantifiant l'ADN des pathogènes de l'huître *vibrio aestuarianus*, *vibrio splendidus et oshv-1*, et de iii) Santé de l'écosystème de la lagune de Thau, en quantifiant l'ADN de des algues vertes du genre *Piccochlorum*.

**Mots clés :** Epidémiologie - One Health - PCR digitale - Eaux - Pathogènes.

## MP-P Mycologie-Parasitologie

MP-P01

**Epidémiologie moléculaire et sensibilité aux antifongiques de souches d'*Aspergillus fumigatus* issues de suivi chez un patient atteint de mucoviscidose**

Victoria Mariotti<sup>1</sup> (sebastien.bertout@umontpellier.fr), Donika Krasteva<sup>1</sup>, Pierre-Olivier Harmand<sup>2</sup>, Virginie Bellet<sup>1</sup>, Jérôme Solassol<sup>2</sup>, Nathalie Bourgeois<sup>3</sup>, Grégoire Pasquier<sup>3</sup>, Chloé Augagneur<sup>1</sup>, Laurence Lachaud<sup>3</sup>, Sébastien Bertout<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMI 233 - U1175 TransVIHMI, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Biologie des tumeurs solides, CHU de Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France

**Introduction :**

*Aspergillus fumigatus* est un champignon filamenteux saprophyte de l'environnement. C'est l'espèce la plus fréquemment responsable d'infections aspergillaires chez l'Homme. La prévalence de la colonisation par *Aspergillus fumigatus* chez les patients atteints de mucoviscidose oscille entre 16 et 58%. Ce champignon peut exacerber l'inflammation pulmonaire et impacter fortement le pronostic du patient. Plusieurs génotypes peuvent être retrouvés dans les sécrétions bronchiques mais un génotype peut devenir prédominant et coloniser les bronches. L'objectif de cette étude est (i) d'étudier la diversité génétique, de souches d'*Aspergillus fumigatus* issues dans un premier temps d'un patient atteint de mucoviscidose, au sein d'un même prélèvement mais aussi au cours du suivi du patient et (ii) d'étudier la sensibilité à plusieurs antifongiques.

**Matériel et méthodes :**

115 souches d'*Aspergillus fumigatus* isolées de 23 prélèvements de suivi d'un patient adulte atteint de mucoviscidose sont testées dans cette étude. Dans un premier temps, la diversité génétique est évaluée par MultiLocus Sequence Typing à partir du séquençage de 7 gènes de ménage. La sensibilité à deux antifongiques azolés (voriconazole et posaconazole) est déterminée par microdilution en milieu liquide par la méthode EUCAST.

**Résultats et discussion :**

Les premiers résultats obtenus montrent qu'il y a peu de variabilité au sein d'un même prélèvement, on retrouve au maximum 2 souches de Séquence Type (ST) différentes. En revanche, il existe une plus grande variabilité de souches au cours du suivi du patient et du traitement. Les souches analysées sont sensibles au voriconazole et résistantes au posaconazole.

**Conclusion :**

Le patient étudié est contaminé par plusieurs souches de ST différentes au cours du suivi et du traitement antifongique administré et toutes les souches sont résistantes au posaconazole quels que soient leur ST. Ce travail sera poursuivi. Ces résultats devront être confirmés chez d'autres patients atteints de mucoviscidose et contaminés par des souches d'*Aspergillus fumigatus* suivis et traités au CHU de Montpellier.

**Mots clés :** *Aspergillus fumigatus* - MLST - Sensibilité aux antifongiques - EUCAST.

## MP-P Mycologie-Parasitologie

MP-P02

**Modulation de l'inflammation et sécrétion de facteurs de virulence chez *Cryptococcus gattii***

Léo Brochon<sup>1</sup> (l-brochon@chu-montpellier.fr), François Chable de la Héronnière<sup>1</sup>, Pascal Drakulovski<sup>1</sup>, Frédéric Boudard<sup>2</sup>, Sébastien Bertout<sup>1</sup>, Virginie Bellet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMI 233-U 1175 TransVIHMI, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> UMR QualiSud, Université de Montpellier, Montpellier, France

**Introduction :**

La cryptococcose neuroméningée (CNM) est une mycose opportuniste due à des levures encapsulées appartenant à deux complexes d'espèces : le complexe *C. neoformans* et le complexe *C. gattii*. Ce dernier est sous-divisé en 5 espèces chacune représentée par un génotype. Dans les pays où les trithérapies sont insuffisamment utilisées, la CNM représente la 2ème cause de mortalité lors d'infections opportunistes chez les personnes vivant avec le VIH. Cette pathologie est responsable de 180 000 décès annuels dont 135 000 en Afrique subsaharienne.

Les facteurs de virulence confèrent aux levures du genre *Cryptococcus* la capacité d'échapper aux mécanismes de défense de l'hôte qu'il envahit. On compte parmi ces facteurs la capsule polysidique, la production de mélanine et la sécrétion de différentes enzymes. Les cryptocoques sont également capables de modifier la production de cytokines qui jouent un rôle majeur dans l'orchestration d'une réponse immunitaire efficace.

**Matériel et méthode :**

Sur des souches cliniques du complexe d'espèces *C. gattii*, nous testons la sécrétion de l'uréase, de la DNase, de la laccase, de la phospholipase B et de l'hémolysine sur milieux de culture spécifiques ou par dosage enzymatique. La production de mélanine ainsi que l'évaluation de l'épaisseur de la capsule sont évaluées et comparées entre les différentes souches.

Les phénomènes inflammatoires sont étudiés dans un modèle de macrophages murins stimulés par de l'IFN $\gamma$  et du LPS en présence des levures. La production de NO, marqueur de l'inflammation, est dosée et l'expression des ARNm des gènes codant pour 8 cytokines pro et anti inflammatoires (IL1, IL6, TNF $\alpha$ , COX, iNOS, IL10, ARG2, TGF $\beta$ ) est quantifiée par RT-qPCR.

**Résultats et discussion :**

Les résultats préliminaires montrent que les levures du complexe d'espèce *C. gattii* présentent des profils de modulation de l'inflammation variables en fonction du génotype auquel elles appartiennent. Les facteurs de virulence sont également modulés entre les souches appartenant à des génotypes différents.

**Conclusion :**

La modulation de l'inflammation et la sécrétion des facteurs de virulence chez *C. gattii* sont plus complexes que chez *C. neoformans* et pourraient être souche-dépendants.

**Mots clés :** *Cryptococcus gattii* - Facteurs de virulence - Inflammation.

## MP-P Mycologie-Parasitologie

MP-P03

**Étude de la résistance au fluconazole chez *Candida tropicalis* par des approches de time-kill curves**

Kévin Brunet<sup>1,2,3</sup> (kevin.brunet@univ-poitiers.fr), Albane Cottureau<sup>1,2</sup>, Estelle Perraud<sup>2,3,4</sup>, Sandrine Marchand<sup>1,2,3</sup>, Julien Buyck<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> INSERM U1070, Poitiers, France

<sup>2</sup> Université de Poitiers, Poitiers, France

<sup>3</sup> CHU de Poitiers, Poitiers, France

<sup>4</sup> Laboratoire MHE, CNRS 7267, Poitiers, France

**Introduction et objectifs :**

*Candida tropicalis* est une levure opportuniste responsable de candidoses invasives dont le traitement est basé sur l'utilisation du fluconazole. Cependant, depuis plusieurs années, des résistances au fluconazole ont émergé chez *C. tropicalis*. Les courbes de bactéricidie (ou time-kill curves - TKC) sont utilisées pour étudier la résistance aux antibiotiques et pourraient également être utiles pour étudier la résistance aux antifongiques. L'objectif de cette étude était donc de développer des TKC pour explorer la résistance au fluconazole chez *C. tropicalis*.

**Matériels et méthodes :**

Trois souches de *C. tropicalis* ont été étudiées : une souche de référence sensible au fluconazole (ATCC 750) et deux souches résistantes au fluconazole (CT8 avec une CMI = 8 mg/L, CT64 avec une CMI = 64 mg/L). Ces souches ont été ajustées à  $10^6$  CFU/mL puis incubées en présence de fluconazole à différentes concentrations (0, CMI/8, CMI/4, CMI/2, CMI, 2\*CMI, 4\*CMI, 8\*CMI) dans un milieu RPMI. Chaque condition a ensuite été ensemencée sur gélose YPD à différents temps : T0, T2, T4, T6, T24 et T48 heures, pour évaluer le nombre de levures. Des TKC représentant le nombre de levures à chaque temps pour les différentes concentrations de fluconazole ont été générées.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les TKC ont montré qu'au-dessus de la CMI, le nombre de levures de *C. tropicalis* ATCC 750 n'a pas diminué mais est resté stable, confirmant l'effet fongistatique du fluconazole. La concentration égale à la CMI, qui elle est à déterminer à  $10^5$  CFU/mL, a montré une croissance, suggérant donc un effet inoculum. Cette donnée est importante et pourrait impacter la prise en charge des infections dues à de forts inocula. Les souches CT8 et CT64, qui possèdent un mécanisme de résistance différent, ont montré un comportement différent. La souche CT8, qui est résistante au fluconazole par un mécanisme d'efflux, a montré une croissance dépendante de la concentration en fluconazole. La souche CT64, qui possède une mutation de la cible du fluconazole, n'a pas montré d'effet concentration mais un fitness cost important.

**Mots clés :** Candidémie - *Candida tropicalis* - Fluconazole - Résistance antifongique.

## MP-P Mycologie-Parasitologie

MP-P04

**Recherche de mycoherbicides potentiels au sein de la communauté endophyte de *Phelipanche ramosa* parasitant le tabac**

Christian Steinberg<sup>1</sup> (christian.steinberg@inrae.fr), Véronique Edel-Hermann<sup>1</sup>, Lucie Guinchard<sup>1</sup>, Fabrice Dessaint<sup>1</sup>, Stéphanie Gibot-Leclerc<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UMR 1347 Agroécologie, INRAE, Dijon, France

<sup>2</sup> UMR 1347 Agroécologie, Institut Agro Dijon, Dijon, France

L'Orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa*(L.) Pomel) est une plante non chlorophyllienne, parasite des racines d'une large gamme d'hôtes. Sa gestion complexe conduit à l'abandon de la culture du tabac ou du colza dans les régions les plus touchées de France. Parmi les facteurs de régulation de l'orobanche, les champignons du sol semblent être un levier de contrôle biologique pertinent (Cartry et al. . L'objectif de ce travail était de détecter des mycoherbicides potentiels parmi les champignons endophytes colonisateurs de *P. ramosa* parasitant le tabac. Notre hypothèse était que l'inhibition de la germination des graines d'orobanche et les activités nécrotiques sont des caractéristiques d'isolats fongiques indépendantes de leur position taxonomique. Pour tester cette hypothèse, nous avons analysé la diversité taxonomique et fonctionnelle d'isolats fongiques de *P. ramosa* symptomatique collectés en France dans des régions tabacoles infestées. Les isolats fongiques ont été identifiés taxonomiquement et testés pour leur capacité à inhiber la germination des graines de *P. ramosa*, leur activité nécrotique sur les tiges de la plante parasite et leur non-pathogénicité pour la plante hôte. Nous avons mis en évidence la richesse spécifique des colonisateurs fongiques associés à *P. ramosa* symptomatique. Parmi les 374 isolats collectés, près de 80 % appartenaient à 19 espèces de *Fusarium*. Quatre-vingt-sept isolats représentatifs de cette diversité ont également montré une diversité fonctionnelle en inhibant la germination des graines du parasite. Les 20 isolats les plus performants ont montré des différences dans l'inhibition de la germination de *P. ramosa* au niveau intraspécifique. Parmi ces 20 isolats fongiques, un ensemble de 15 isolats sélectionnés au hasard a été testé pour leur activité nécrotique sur les tiges du parasite. Des isolats de *Fusarium venenatum* et de *F. sporotrichioides* ont montré une double compétence, (inhibition de la germination et forte activité nécrotique), et n'étaient pas pathogènes pour le tabac. L'effet mycoherbicide potentiel de ces isolats pourrait être pris en considération pour envisager le biocontrôle de *P. ramosa*.

**Mots clés :** Plante parasite - Biocontrôle - *Fusarium* sp. - Inhibition de la germination - Activité nécrotique.

## Références :

1. Cartry, D., Steinberg, C., Gibot-Leclerc, S. 2021. Main drivers of broomrape regulation. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 41: 17.

## MP-P Mycologie-Parasitologie

MP-P05

**Isolement respiratoire d'*Arthrographis kalrae* chez un patient de réanimation**

Tasnime Labiedh (tasnime.labiedh@aphp.fr), Naima Dahane, Mehidi Dahbia, André Paugam

Laboratoire de Parasitologie et mycologie, CHU COCHIN, Paris, France

**Introduction :**

*Arthrographis kalrae* est un champignon filamenteux rarement isolé au laboratoire (1).

**Cas clinique :**

Il s'agissait d'un patient de 69 ans, asthmatique depuis l'enfance, aux antécédents de dilatations de bronches, de fibrillation atriale ablatée en 2015 et 2020 et de carcinome vésical diagnostiqué en 2016 opéré en 2017 (cystoprostectomie et entérocystoplastie).

En décembre 2020, le patient a été hospitalisé en réanimation pour choc cardiogénique avec récurrence de fibrillation atriale. La survenue de troubles respiratoires associant dyspnée, sécrétions bronchiques épaisses et purulentes, a justifié la réalisation d'un LBA. L'examen microscopique direct avec fluorescence (Uvitex, LDBIO diagnostics B200, France) était négatif. La culture sur milieu Sabouraud et sur milieu Sabouraud-chloramphenicol-gentamicin agar sans actidione (Biorad, Marnes-la-Coquette, France) à 27°C et à 37 °C permettait d'isoler (à J 5) un champignon filamenteux identifié comme *Arthrographis kalrae* en spectrométrie de masse (Bruker MALDI Biotyper, score à 2.18). Les colonies étaient arrondies, muqueuses, de couleur crème, fissurées en périphérie. Microscopiquement, les filaments étaient hyalins, septés, à ramifications étroites produisant des arthroconidies et des blastoconidies unicellulaires à parois lisses naissant directement des hyphes.

L'antifongogramme (Etest, BioMérieux, France) ne montrait pas de résistance: amphotéricine B (CMI=0.19 mg/L), fluconazole (CMI=2 mg/L), voriconazole (CMI=0.008 mg/L) et caspofungine (CMI=0.008 mg/L). Le dosage immunoenzymatique de galactomannane (Platelia Aspergillus EIA Biorad) sur sérum était négatif.

Le scanner thoracique ne permettait pas de mettre en évidence de foyer infectieux. L'évolution a été favorable sous traitement antibiotique (Azithromycine), sans association d'antifongique.

**Conclusion :**

*Arthrographis kalrae* est un filamenteux rare qui a été isolé pour la première fois à partir d'une lésion des ongles en 1938 (2). Seuls quinze cas d'infection ont été décrits dont uniquement deux à localisation pulmonaire. Les autres infections comprenaient deux kératites, un mycétome, deux sinusites, une méningite, une ophtalmite, deux onychomycoses, une vascularite cérébrale, deux infections articulaires et une endocardite (3).

Cette observation souligne l'intérêt de la technique MALDI-TOF pour le diagnostic des champignons filamenteux de l'environnement et notamment de champignons rares et potentiellement responsables d'infections respiratoires.

**Mots clés :** *Arthrographis kalrae* - Champignon - MALDI-TOF.

**Références :**

1. Vos CG, Murk JL a. N, Hartemink KJ, Daniels JMA, Paul MA, Debets-Ossenkopp YJ. A rare pulmonary infection caused by *Arthrographis kalrae*. J Med Microbiol. avr 2012;61(Pt 4):5935.
2. Sugiura Y, Hironaga M. *Arthrographis kalrae*, a rare causal agent of onychomycosis, and its occurrence in natural and commercially available soils. Med Mycol. mars 2010;48(2):3849.
3. Fiscarelli EV, Ricciotti G, Rossitto M, Pompilio A, Tuccio Guarna Assanti V, Lucidi V. A cystic fibrosis child with lung function decline. J Cyst Fibros. nov 2019;18(6):e624.



## MP-P Mycologie-Parasitologie

MP-P06

**Diagnostic des leishmanioses : comparaison des méthodes conventionnelles et moléculaires**

Tasnime Labiedh<sup>1</sup> (tasnime.labiedh@aphp.fr), Célia Rouges<sup>1</sup>, Naima Dahane<sup>1</sup>, André Paugam<sup>1</sup>, Pierre Buffet<sup>2</sup>, Frédéric Arieu<sup>1</sup>, Hélène Yera<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie et mycologie, CHU Cochin, Paris, France

<sup>2</sup> Service des maladies infectieuses, CHU Necker, Paris, France

**Introduction :**

Les leishmanioses sont des parasitoses du système monocytes-macrophages dont l'agent pathogène est un protozoaire flagellé du genre *Leishmania* (L). Leur diagnostic biologique repose sur la mise en évidence du parasite et/ou de son ADN dans les prélèvements de patients. L'objectif de cette étude est d'évaluer la sensibilité des méthodes diagnostiques utilisées dans notre laboratoire.

**Matériels et méthodes :**

Entre janvier 2011 et décembre 2021, **1687** prélèvements (sang, moelle, cutanés, autres) ont été analysés pour recherche de leishmaniose par PCR en temps réel, microscopie optique (MO) après coloration au Giemsa et culture sur milieu spécifique (NNN). La PCR utilisée cible l'ADN kinétoplastique de *L. infantum* et est adaptée de la méthode décrite par Mary et al. en 2004 (1).

**Résultats :**

135 prélèvements (soit 8%) ont été positifs à *Leishmania*. La sensibilité de la PCR par rapport à la MO et la culture est de 97,5%. Elle varie de 80% à 98% selon les leishmanioses (« Ancien monde » versus « Nouveau monde »). La sensibilité de la culture par rapport à la MO et la PCR est faible (26,8%). Cependant, elle est élevée (80%) dans les leishmanies du « nouveau monde ». La sensibilité de la MO optique par rapport à la culture et la PCR est faible (11,5%). Elle varie selon le type de prélèvement.

**Conclusion :** Cette étude souligne l'intérêt d'associer la culture à la PCR en particulier dans le diagnostic des leishmanioses du « Nouveau monde » pour pallier à l'absence d'amplification de certaines espèces de *Leishmania*. Par ailleurs, elle suggère l'arrêt de la MO sur certains prélèvements pour le diagnostic des leishmanioses.

**Mots clés :** Leishmaniose - Sensibilité - PCR - Nouveau monde - Ancien monde.

**Références :**

1. Mary C, Faraut F, Lascombe L, Dumon H. Quantification of *Leishmania infantum* DNA by a real-time PCR assay with high sensitivity. J Clin Microbiol. 2004; 42(11):5249-55.

## MP-P Mycologie-Parasitologie

MP-P07

**Membrane protective role of autophagic machinery during infection of epithelial cells by *Candida albicans***

Pierre Lapaquette<sup>1</sup> (pierre.lapaquette@u-bourgogne.fr), Amandine Ducreux<sup>1</sup>, Louise Basmaciyan<sup>1,2</sup>, Fabienne Bon<sup>1</sup>, Amandine Bataille<sup>3</sup>, Bernhard Hube<sup>4</sup>, Christophe d'Enfert<sup>5</sup>, Audrey Esclatine<sup>6</sup>, Etienne Morel<sup>7</sup>, Frédéric Dalle<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> UMR PAM, équipe VAIMiS, Université de Bourgogne, Dijon, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Dijon, Dijon, France

<sup>3</sup> Dimacell imaging facility, Université de Bourgogne, Dijon, France

<sup>4</sup> Department of Microbial Pathogenicity Mechanisms, Hans Knoell Institute, Jena, Allemagne

<sup>5</sup> Unité Biologie et Pathogénicité Fongiques, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>6</sup> Virulence et latence des Herpesvirus, Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), Gif-sur-Yvette, France

<sup>7</sup> Dynamique de l'autophagie et des compartiments intracellulaires, Institut Necker Enfants-Malades (INEM), Paris, France

*Candida albicans* (*C. albicans*) is an opportunistic pathogen causing infections ranging from superficial to life-threatening disseminated infections. In a susceptible host, *C. albicans* is able to translocate through the gut barrier, promoting its dissemination into deeper organs. *C. albicans* hyphae can invade human epithelial cells by two well-documented mechanisms: epithelial-driven endocytosis and *C. albicans*-driven active penetration. One mechanism by which host cells protect themselves against intracellular *C. albicans* is termed autophagy. We recently published a study describing the protective role of autophagy-related proteins during the infection of epithelial cells by *C. albicans* (1). Using cell imaging, we showed that key molecular players of the autophagy machinery (LC3-II, PI3P, ATG16L1 and WIPI2) were recruited at *Candida* invasion sites. We deepened these observations by electron microscopy analyses that reveal presence of autophagosomes at the vicinity of invading hyphae. Importantly, these events occur during active penetration of *C. albicans* into host cells and are associated with plasma membrane damages triggered by the yeast. We showed that the autophagy-related key-proteins ATG5 and ATG16L1 contribute to plasma membrane repair mediated by lysosomal exocytosis and participate in protecting epithelial cells against *C. albicans*-induced cell death. Our ongoing experiments go further to characterize the effects of this host-mediated autophagy-related response to the pathogenic yeast *C. albicans*.

**Mots clés :** *Candida albicans* - Autophagy - Epithelial cells - Plasma membrane damage - Lysosomal exocytosis.

Références :

1. Lapaquette P et al., 2022, Gut Microbes, 14(1):2004798

## MP-P Mycologie-Parasitologie

MP-P08

**Caractérisation des mutations *fks* chez 37 souches de *Candida spp.* résistantes aux échinocandines**

Grégoire Pasquier<sup>1,2</sup> (g-pasquier@chu-montpellier.fr), Nathalie Bourgeois<sup>1</sup>, Donika Krasteca<sup>3</sup>, Sébastien Bertout<sup>3</sup>, Laurence Lachaud<sup>1,2</sup>, Milène Sasso<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> MiVEGEC, IRD, CNRS, Montpellier, France

<sup>3</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Faculté de pharmacie de Montpellier, Montpellier, France

<sup>4</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Nîmes, Nîmes, France

**Introduction et objectifs :**

Selon les recommandations en vigueur, le traitement de première intention des candidémies repose sur les échinocandines. La détection des résistances aux échinocandines présente donc un intérêt majeur. Le dépistage phénotypique des résistances est réalisé en routine par la détermination d'une concentration minimale inhibitrice (CMI). Pour les souches présentant une CMI élevée, la recherche de mutations dans les gènes *fks1* et *fks2* permet de préciser l'origine de la résistance. Ce travail avait pour objectif de rechercher et caractériser les mutations *fks* retrouvées chez les souches de *Candida* résistantes aux échinocandines au CHU de Montpellier et de Nîmes sur une période de 9 ans.

**Matériel et méthodes :**

Il s'agit d'une étude rétrospective allant de novembre 2013 à avril 2022 menée au sein des CHU de Montpellier et de Nîmes. Les souches de *Candida* isolées de prélèvements profonds et présentant une CMI élevée à au moins une échinocandine en méthode Etest ont été incluses. Les régions hotspot 1 & 2 des gènes *fks1* et *fks2* ont été séquencées par méthode Sanger pour l'ensemble des souches à la recherche de mutations.

**Résultats :**

Un total de 37 souches de *Candida* provenant de 26 patients différents ont été incluses dans l'étude. Il s'agissait de 24 souches de *Candida glabrata*, 6 *Candida albicans*, 3 *Candida parapsilosis*, 2 *Candida krusei*, 1 *Candida tropicalis* et 1 *Candida dublinensis*. Pour *C. glabrata*, le séquençage des gènes *fks1* et *fks2* retrouvaient des mutations décrites précédemment comme étant associées à une résistance phénotypique (exemple : D632V, R631G, S629P, P667T, S663P, F659S, R669G, R665G, Codon stop 1388, K1357E, Δ659F).

**Discussion et conclusion :**

Les isolats séquencés montrent une grande diversité des mutations des gènes *fks* associée à un phénotype de résistance aux échinocandines. L'analyse des données cliniques et biologiques permet d'estimer la vitesse d'acquisition des résistances sous échinocandines. La réalisation d'antifongogramme sur les souches issues d'hémocultures positives en suivi thérapeutique semble aujourd'hui nécessaire.

**Mots clés :** Candida - FKS - Echinocandine - Résistance.

## MP-P Mycologie-Parasitologie

MP-P09

**Serological detection of toxoplasmosis dormancy-specific antigens: discovery of a new cystic marker**

Marie Gladys Robert<sup>1,2</sup> (mrobert2@chu-grenoble.fr), Christopher Swale<sup>2</sup>, Marie-Pierre Brenier-Pinchart<sup>1,2</sup>, Valeria Bellini<sup>2</sup>, Hervé Pelloux<sup>1,2</sup>, Mohamed-Ali Hakimi<sup>2</sup>, Julien Peyroux<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Service de Parasitologie-Mycologie, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

<sup>2</sup> Team Host-Pathogen Interactions and Immunity to Infection, IAB, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France

Toxoplasmosis is a widespread zoonotic disease leading to chronic persistence of the parasite *Toxoplasma gondii* in the form of encysted bradyzoites, notably in the central nervous system, muscles and retina of the hosts. This persistence is a major factor in the transmission of the infection by carnivorous animals and is the source of reactivation in case of immunosuppression. However, the chronic stage of *T. gondii* remains relatively unknown, mainly because of the absence of non-invasive methods for its evaluation. Although serology is a key element in diagnosis of toxoplasmosis, and even though the contribution of the bradyzoite to the pathophysiology of the infection is undeniable, none of the serological tests currently used are based on bradyzoite-specific antigens. The aim of this study was to identify proteins that are immunogenic and bradyzoite-specific.

We used the MORC-Auxin-Inducible Degron strategy to obtain a parasite culture enriched in bradyzoite-specific proteins in-vitro [1], and compared the immunogenicity of this parasite extract versus tachyzoite extract on serum from chronically infected mice by western blot to identify candidate proteins. Mass spectrometry allowed us to further identify the protein BSM (bradyzoite serological marker). We recombinantly produced this protein using Baculovirus expression system and developed an ELISA assay to identify cyst carriage associated with chronic infection in 83 mice infected either with cystogenic, non-cystogenic or BSM-KO *T. gondii* strains.

BSM serology discriminates cyst-carrying mice with a sensitivity of 97.96% (IC95: 89.31% - 99.90) and a specificity of 100.0% (IC95: 86.20 - 100.0).

Further investigations are needed to evaluate the usefulness of this test in farm animals for food safety, as well as in humans to improve the risk assessment of post-transplant or congenital toxoplasmosis and enhance the understanding of the pathophysiology of cysts.

**Mots clés :** *Toxoplasma gondii* - Serological marker - Chronic infection - Bradyzoite.

## Références :

1. Farhat DC, Swale C, Dard C, Cannella D, Ortet P, Barakat M, et al. A MORC-driven transcriptional switch controls *Toxoplasma* developmental trajectories and sexual commitment. *Nat Microbiol.* avr 2020;5(4):57083.

## MP-P Mycologie-Parasitologie

MP-P10

**Détermination d'ECV pour 10 espèces de levures avec une lecture à 24h des CMI par technique Etest®**

Victor Mercier<sup>1</sup> (victor.mercier@chu-nimes.fr), Marie-Elisabeth Bougnoux<sup>2</sup>, Danièle Maubon<sup>3</sup>, Taieb Chouaki<sup>4</sup>, Céline Nourrisson<sup>5</sup>, Lilia Hasseine<sup>6</sup>, Anne-Pauline Bellanger<sup>7</sup>, Sophie Brun<sup>8</sup>, Nicole Desbois-Nogard<sup>9</sup>, Pierre Flori<sup>10</sup>, Eric Bailly<sup>11</sup>, Hélène Yéra<sup>12</sup>, Cécile Cassagne<sup>13</sup>, Laurence Lachaud<sup>14</sup>, Milène Sasso<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Nîmes, Nîmes, France

<sup>2</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, APHP Necker, Paris, France

<sup>3</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Grenoble, Grenoble, France

<sup>4</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Amiens, Amiens, France

<sup>5</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

<sup>6</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Nice, Nice, France

<sup>7</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Besançon, Besançon, France

<sup>8</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, Hôpital universitaire Avicenne, Bobigny, France

<sup>9</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Martinique, Fort de France, France

<sup>10</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

<sup>11</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Tours, Tours, France

<sup>12</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, APHP Cochin, Paris, France

<sup>13</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, APHM Marseille, Marseille, France

<sup>14</sup> Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Montpellier, Montpellier, France

**Introduction et objectif :**

La détermination de seuils épidémiologiques (ECV) pour la méthode Etest® de diffusion en milieu gélosé a pour but de faciliter l'interprétation des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en l'absence de seuil d'interprétation clinique pour certaines combinaisons espèce fongique/antifongique. La lecture des CMI par technique Etest® est recommandée par le fournisseur à 48h. En cas de résistance ou de sensibilité diminuée à un antifongique, il serait intéressant de pouvoir rendre un résultat plus précoce. Des laboratoires réalisent une lecture des CMI à 24h, et s'il existent de nombreux ECV déterminés à l'aide de CMI lues à 48h, les données sont absentes pour une lecture à 24h. Le but de cette étude multicentrique est de proposer des valeurs d'ECV pour une lecture à 24h.

**Méthode :**

Les CMI obtenues par méthode Etest® pour toutes les combinaisons espèce fongique/molécule antifongique avec une lecture à 24h ont été collectées rétrospectivement entre 2006 et 2020 dans 12 laboratoires de CHU français. Après tri des données, le calcul des ECV à 24h a été réalisé par la méthode statistique de Turnidge *et al.*, avec un seuil choisi de 97,5%.

**Résultats :**

Au total, 44 ECV ont été déterminés pour 8 espèces de *Candida*, *Cryptococcus neoformans* et *Saccharomyces cerevisiae* combinés à 6 molécules d'antifongiques. Une analyse des ECV obtenus à 24h a été effectuée par rapport à ceux publiés pour une lecture à 48h. Ils sont concordants dans 92.9 % (39/42) des cas. Dans ce travail, nous avons déterminé des ECV pour *C. glabrata* et le fluconazole et voriconazole, alors qu'à 48h une distribution aberrante des CMI (double pic) ne permettait pas leur détermination.

**Conclusion :**

Ce travail a permis de calculer 44 ECV pour la méthode Etest® pour une lecture des CMI à 24h. L'identification d'un phénotype non sauvage plus précocement permettra de discuter d'un ajustement thérapeutique et d'augmenter les chances de guérison du patient.

**Mots clés :** Seuils épidémiologiques - ECV - Etest - Levures - CMI.

## O-P Omiques

O-P01

Omiques

**Forecasting *Staphylococcus aureus* infections using genome-wide association studies, machine learning and transcriptomic approaches**

Yoann Augagneur<sup>1</sup> (yoann.augagneur@univ-rennes1.fr), Mohamed Sassi<sup>1</sup>, Julie Bronsard<sup>1</sup>, Gaetan Pascreau<sup>1</sup>, Mathieu Emily<sup>2</sup>, Pierre-Yves Donnio<sup>3</sup>, Matthieu Revest<sup>4</sup>, Brice Felden<sup>1</sup>, Thierry Wirth<sup>5</sup>

<sup>1</sup> U1230 BRM, Inserm Université Rennes 1, Rennes, France

<sup>2</sup> IRMAR, Agrocampus Ouest, Rennes, France

<sup>3</sup> Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU Rennes, Rennes, France

<sup>4</sup> Service des Maladies Infectieuses et Réanimation Médicale, CHU Rennes, Rennes, France

<sup>5</sup> Institut de Systématique, Evolution, Biodiversité, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France

*Staphylococcus aureus* est un agent pathogène majeur du règne animal dont l'homme, colonisant diverses niches écologiques au sein de ses hôtes. Les infections à Staphylocoque doré sont diverses, d'abcès peu sévères ou conduisant à des maladies très sévères. Prédire si un isolat infectera un hôte spécifique et son devenir clinique ultérieur reste inconnu. Dans cette étude, il a donc été question d'étudier uniquement les caractéristiques génomiques et transcriptomiques d'isolats de *S. aureus*. Nous avons étudié le pangéome de *S. aureus* à l'aide d'un soucier de 356 souches, couvrant un large éventail d'hôtes, d'origines, de données cliniques et de profils de résistance aux antibiotiques. Nous avons utilisé des algorithmes d'étude d'association à l'échelle pangénomique (GWAS) et des forêts aléatoires pour discriminer les souches en fonction de leurs hôtes et de leurs origines cliniques. Ici, nous montrons que la présence de *sak* et *scn* peut discriminer les souches en fonction de leur spécificité d'hôte, tandis que d'autres gènes tels que *mecA* sont souvent associés à des infections sévères. Ces approches de GWAS et forêts aléatoires ont indiqué l'importance des régions intergénique et des séquences codantes, mais pas des ARN régulateurs pour prédire un résultat. Des analyses transcriptomiques supplémentaires effectuées sur le complexe cloanal CC8 largement répandus dans des milieux imitant la colonisation nasale ou la bactériémie, ont indiqué que trois ARN sont prometteurs comme marqueurs ARN prédictifs de l'infection, suivis de 30 autres qui pourraient servir de prédicteurs de la gravité de l'infection. Notre étude montre que l'association génétique et la transcriptomique sont des approches complémentaires qui devraient être combinées dans un cadre analytique unique pour améliorer notre compréhension de la pathogénèse bactérienne, et in fine identifier des marqueurs moléculaires prédictifs.

**Mots clés :** *Staphylococcus aureus* - GWAS - Forêts aléatoire - Transcriptomique - Infection.

**O-P Omiques**

O-P02

Omiques

**Pipeline d'annotation approfondie de génomes bactériens et visualisation**

Sylvère Bastien<sup>1,2</sup> (sylvere.bastien@univ-lyon1.fr), Cédriane Prohin<sup>1</sup>, Pauline François<sup>1,2</sup>, Karen Moreau<sup>1</sup>, François Vandenesch<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> CIRI, Centre international de Recherche en Infectiologie, Université de Lyon, Inserm, U1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup> Hospices civils de Lyon, RHU IDBIORIV, Institut des Agents Infectieux, Lyon, France

**Introduction et objectifs :**

L'annotation de génomes bactériens permet l'identification et l'assignation de fonctions biologiques à des séquences de génome. Les outils bio-informatiques développés ces dernières années permettent l'identification d'éléments génomiques tels que les séquences codantes, non codantes, promotrices, etc... Ainsi, l'obtention d'une annotation approfondie nécessite l'utilisation d'un grand nombre d'outils, multipliant potentiellement les biais d'utilisateur et complexifiant la reproductibilité.

Face à ce constat, nous avons développé un pipeline nextflow permettant une exécution automatique de plusieurs outils d'annotation et se terminant par une visualisation interactive finale du génome annoté.

**Matériels et méthodes :**

Ce pipeline d'annotation procaryote approfondie se base en premier lieu sur Prokka (v1.14.5) permettant l'annotation des séquences codantes et des petits ARNs à partir de bases de données (publiques ou non).

Trois outils supplémentaires sont lancés de façon indépendante les uns des autres et permettent l'identification (i) des sites de terminaison de la transcription (TransTermHP v2.09-3), (ii) des sites de fixation des ribosomes (RBSfinder) et (iii) des séquences promotrices (Promotech v1.0). Afin de gagner en reproductibilité, l'ensemble des versions d'outils sont fixées et conteneurisées afin de rendre le pipeline pérenne. Le fichier final d'annotation est au format GFF3 et visualisable grâce à l'interface graphique développée sous R et Shiny.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Ce pipeline d'annotation approfondie permet donc une analyse plus rapide, plus fiable et plus complète des génomes bactériens. L'application web interactive basé sur R et Shiny permet aux biologistes d'annoter et de visualiser les résultats en toute autonomie. Une des forces de ce projet réside également dans la possibilité d'implémenter facilement des outils supplémentaires en fonction des besoins récurrents et/ou de modifier des versions d'outils sans perturber l'ensemble du pipeline. L'intégralité du code et des conteneurs utilisés sont disponibles sur les plateformes Gitlab et DockerHub.

*Mots clés* : Annotation - Pipeline - Nextflow - Visualisation - R/Shiny.

## O-P Omiques

O-P03

Omiques

***Helcococcus kunzii* can modulate *Staphylococcus aureus* metabolism and further its virulence trait**

Benjamin Durand<sup>1</sup> (durand.b.pro@outlook.fr), Oumayma Elkaddouri<sup>2</sup>, Jean-Philippe Lavigne<sup>1</sup>, Jean Armengaud<sup>2</sup>, Catherine Dunyach-Remy<sup>1</sup>, Lucia Grenga<sup>2</sup>

<sup>1</sup> U1047- Département de Microbiologie et d'Hygiène Hospitalière, UM - CHU Nîmes - INSERM, Nîmes, France

<sup>2</sup> Département Médicaments et Technologies pour la Santé (DMTS), SPI, CEA, Bagnols-sur-Cèze, France

*Staphylococcus aureus* is a pathogen known for its broad spectrum of infection. In the context of chronic wounds and more specifically diabetic foot ulcers (DFU), it is the most prevalent pathogen in northern countries. Recently, the skin commensal bacterium *Helcococcus kunzii* was described to have a modulation potential toward this pathogen virulence in the *Caenorhabditis elegans* model.

This study aims to elucidate the mechanism of interaction of these two bacteria at the molecular level by mimicking the wound niche environment.

Experimental conditions were optimized to mimic *in vitro* the down-regulation of *S. aureus* virulence in the presence of *H. kunzii*. As *S. aureus* virulence factors are induced through quorum sensing at its late exponential phase, we hypothesise that *H. kunzii* modulates the transcription of these factors during late exponential and stationary phases. So, *H. kunzii* and *S. aureus* exoproteome and proteome were studied during these two phases to unravel the factors involved in *S. aureus* virulence modulation by *H. kunzii*.

The growth kinetics of both *S. aureus* and *H. kunzii* strains were studied to assess their growth in the presence of each other at a relative 1:1 end point ratio. We showed that the co-culture with *H. kunzii* induces a transcriptional effect on *S. aureus* virulence, decreasing the level of mRNA associated with *agrA* (quorum sensing) and *hla* (virulence factor) genes and increasing the ones associated with biofilm constitution, confirming translation of *in vivo* observation to *in vitro* conditions. We further characterised this interaction via proteomic profiling to study the remodeling of the *S. aureus* proteome. A decrease in *S. aureus* metabolism and the abundance of virulence factors and their regulatory networks was observed. Future investigations will explore excreted factors potentially involved in this virulence modulation.

**Mots clés :** Proteomics - RNA - Bacterial interactions - Chronic wound.



## O-P Omiques

O-P04

Omiques

**Approche de toxicogénomique microbienne et biomarqueur de toxicité**Vincent Fernandes (Vincent.FERNANDES@uca.fr), Isabelle Batisson, Philippe Bouchard*Laboratoire Microorganismes Génome et Environnement, Université Clermont Auvergne, Aubière, France*

Déterminer les mécanismes biologiques permettant de répondre à une perturbation est la clé pour évaluer la réponse d'un organisme à un stress donné. En toxicologie, seul un nombre réduit de gènes, protéines ou métabolites peut être étudié dans une même analyse. En se focalisant sur un maximum de descripteurs, les approches « omiques » représentent donc une alternative intéressante, permettant de développer une approche biomarqueur de la toxicité. Cette vue d'ensemble de la réponse d'un organisme à un stress permet de définir une nouvelle branche de la toxicologie : « la toxicogénomique ».

Une étude, visant à mesurer la réponse transcriptomique, a été réalisée chez le protiste cilié *Paramecium tetraurelia* après exposition à de faibles doses (concentration efficace 10%) de deltaméthrine (insecticide pyréthriinoïde) et de sulcotrione (herbicide tricétone). Une modulation de l'expression de gènes indiquant un effet reprotoxique a été observée après exposition à la sulcotrione. Dans le cas de la deltaméthrine c'est une réponse toxique généraliste qui a été observée. Un gène codant la famille des protéines TSPO été spécifiquement surexprimé en présence de deltaméthrine et pourrait constituer un potentiel biomarqueur des pyréthriinoïdes.

Avec cette mise en évidence chez les protistes, la famille des gènes *tspo* (codant une protéine de translocation membranaire) est détectée dans tous les groupes du vivant. Leurs fonctions chez les microorganismes restent toutefois méconnues. Le gène codant TSPO a été identifié chez *Pseudomonas fluorescens* et son expression suivie par RT-qPCR après exposition à une gamme élargie de pyréthriinoïdes. Une analyse de données métatranscriptomiques, en accès libre, issues d'une étude sur l'impact de polluants alimentaires sur le microbiote intestinal humain a été réalisée en complément. Elle a permis de montrer une diminution de l'expression des gènes *tspo* du microbiote en présence de faible dose de deltaméthrine. Nous postulons que TSPO pourrait être un potentiel marqueur à suivre dans le domaine de la toxicologie pour la détection et l'évaluation des xénobiotiques.

L'approche toxicogénomique, non ciblée, indique qu'il existe une signature omique spécifique des xénobiotiques testés offrant de nombreux biomarqueurs potentiels. Leur validation sur des modèles cellulaires en tant qu'approche ciblée s'avère cependant plus complexe.

**Mots clés :** Pesticides - RT-qPCR - Biomarqueurs - Transcriptomique - TSPO.

## O-P Omiques

O-P05

Omiques

**HTomics: Metabolomic and transcriptomic double extraction optimised on *E. coli***Nina Lager-Lachaud<sup>1</sup> (lagerlac@insa-toulouse.fr), [Nathalie Marsaud](#)<sup>2</sup><sup>1</sup> TBI INSA Toulouse, MetaboHUB-MetaToul, Toulouse, France<sup>2</sup> TBI INSA Toulouse, Plateforme GeT-Biopuces, Toulouse, France

Multi-omics technologies become essential to improve the understanding of the biological system at different scale. Two issues arise with these technologies: data integration and samples preparation. Considering experimental bias caused by different sampling, extracting central metabolites and RNA from a single sample was crucial. Here, we focused on the sample preparation of metabolomic and transcriptomic double extraction on a single microorganism sample. The challenge was to take into account inherent constraints to the two approaches : quenching and extracting metabolites while ensuring the metabolism stability and obtaining efficient quantity and quality of RNA.

We optimised works of Vorreiter *et al.*, 2016 on the mammal cells to *E. coli* sample and optimize steps to better fix the metabolism while maintaining the integrity of the RNA : cells sampling by fast filtration and metabolites extraction to avoid metabolites interconversion. Central metabolites were analyzed by IC-HRMS and RNA were sequencing.

We compared the specific methods of transcriptomics and metabolomics, the Vorreiter's method and our new method at the qualitative and quantitative level of the transcriptome and metabolome. This allowed to highlight the efficiency of our double extraction. In addition, we looked at the impact of <sup>13</sup>C-glucose, used in the framework of Stable-isotope labelling experiments, on the transcriptome, thus validating the use of this approach also in the framework of fluxomic approach but also to highlight the impact of <sup>13</sup>C-enrichment on the genes expression.

A biological application is also realized with our method in order to investigate the impact of a pulse of acetate on metabolome and transcriptome changes and the mechanisms of regulation involved in these metabolic changes in *E. coli*.

**Mots clés :** Multi-omics extraction - Metabolomics - Transcriptomics - Microorganisms.

## PP - Prix poster Jeunes Microbiologistes

PP-01

**Evaluation of viability of cells of *Listeria innocua* with Raman microspectroscopy after incorporation of heavy water (D<sub>2</sub>O)**

Sylvain Trigueros<sup>1,2</sup> (sylvain.trigueros@anses.fr), Thomas Brauge<sup>1</sup>, Tommy Dedole<sup>2</sup>, Sabine Debuiche<sup>1</sup>, Véronique Rebuffel<sup>2</sup>, Sophie Morales<sup>2</sup>, Pierre Marcoux<sup>2</sup>, Graziella Midelet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory for Food Safety, B3PA, ANSES, Boulogne-sur-Mer, France

<sup>2</sup> LETI, Minatec-Campus, CEA, Grenoble, France

*Listeria innocua* is a Gram-positive ubiquitous bacteria and non-pathogenic although excessively rare cases of septicemia and meningitis infections that have been reported in human and ruminants. *L. innocua* is widely distributed in a range of environments (vegetation, water, soil) and in food-processing environments. Different environmental stresses can induce the viable but non-culturable (VBNC) state of this bacteria during food processing, such as cleaning and disinfection procedures. Bacteria in the VBNC state have very low metabolic activity and do not divide. Consequently, VBNC cells do not grow on culture media but retain the ability to recover and become culturable under favourable conditions (ie. resuscitation). To detect these VBNC bacteria, an innovative approach is to use Raman microspectroscopy coupled with deuterium isotope probing (Raman-DIP). This technique allow evaluating the metabolism of bacteria, but need to treat the bacterial cells with heavy water. This treatment could cause a metabolic stress that can change the state of bacteria from Viable Culturable (VC) to VBNC or dead state. In this study, we evaluated the impact of heavy water incorporation on the viability state of *L. innocua* cells (VC, VBNC, dead) by Raman microspectroscopy. We exposed the *L. innocua* bacterial suspension to different heavy water concentrations (0%, 25%, 50% and 75%) during different times of incubation (from 0h30 to 72h). For each heavy water concentrations, total, viable (VC and VBNC) and VC populations were quantified by qPCR, PMA-qPCR and plate count agar respectively. In parallel, we analyzed heavy water absorption by Raman microspectroscopy. We showed that exposure to heavy water does not affect the viability of *L. innocua* cells. The height of the C-D peak was correlated with the concentration of heavy water in the medium. As the concentration of heavy water increased, the height of the peak increased. Nevertheless, a maximum level of labelling, where the C-D peak reached its maximum was obtained after 2 hours for all concentrations of heavy water. Incorporation of heavy water has no effect on the viability and the most optimal exposure condition for measuring the metabolism of *L. innocua* is 2h of exposure at 75% of heavy water.

**Mots clés :** Listeria - Raman-DIP - Metabolism - Viability detection - Isotope probing.

## PP - Prix poster Jeunes Microbiologistes

PP-02

**Deciphering the RNA targetome of SprF1 antitoxin to elucidate its role in *Staphylococcus aureus* antibiotic persistence**

Emeline Ostyn (emeline.ostyn@univ-rennes1.fr), Yoann Augagneur, Marie-Laure Pinel-Marie

U1230 BRM, INSERM-Université Rennes 1, Rennes, France

Persister cells are a subpopulation of transiently antibiotic-tolerant bacteria associated with antibiotic treatment failures and relapsing infections. Type I toxin-antitoxin (TA) systems have been linked to persister cell formation. They are composed of a peptide toxin whose overexpression confers growth stasis or cell death, and of an RNA antitoxin that base-pairs with the toxin mRNA to inhibit its translation<sup>1</sup>. We recently demonstrated that SprF1 is an RNA antitoxin that belongs to the SprG1/SprF1 type I TA system in *Staphylococcus aureus*, and also binds ribosomes to inhibit global translation and promote persister cell formation. Here, we aim to identify the RNA direct targets of SprF1 by MAPS (MS2-affinity purification coupled with RNA sequencing) to better understand its role in *S. aureus* antibiotic persistence. To achieve this, an MS2 aptamer was fused at the 5' or 3'-end of SprF1 RNA and cloned in pRMC2 plasmid allowing anhydrotetracycline (aTc) inducible expression. pRMC2-*ms2-sprF1* and pRMC2-*sprF1-ms2* plasmids were transformed into both *S. aureus* HG003 wild type and  $\Delta$ *sprG1*/ $\Delta$ *sprF1* mutant strain. Bacteria were cultured in TSB medium to exponential growth phase prior addition of 0.5  $\mu$ M aTc to induce RNA bait expression. Five minutes after induction, bacteria were lysed, RNAs were extracted and purified by affinity chromatography with MBP-MS2 protein immobilized on an amylose resin. RNA sequencing and differential expression analysis using DESeq2 enabled to identify, besides SprG1, eleven SprF1 target candidates. These include mRNAs encoding the 50S ribosomal protein L31 (SAOUHSC\_02361) and the membrane protein insertase YidC (SAOUHSC\_02327). *In silico* prediction, using intaRNA indicated that physical interaction may occur between SprF1 and these targets. Next step will be to elucidate the mechanism of interaction and then to uncover the biological link between these RNA targets and the persister cell formation mediated by the SprF1 RNA antitoxin in *S. aureus*.

**Mots clés :** MAPS technology - Type I toxin-antitoxin system - SprF1 antitoxin - Antibiotic bacterial persistence - *Staphylococcus aureus*.

## Références :

1. Pinel-Marie ML, Brielle R, Riffaud C, Germain-Amiot N, Polacek N, Felden B (2021). RNA antitoxin SprF1 binds ribosomes to attenuate translation and promote persister cell formation in *Staphylococcus aureus*. *Nat Microbiol.*6: 209-220.

## PP - Prix poster Jeunes Microbiologistes

PP-03

**Identification des récepteurs cellulaires et des ligands fongiques impliqués dans la synthèse d'IL-8 par les cellules épithéliales bronchiques infectées par *Aspergillus fumigatus***

Jeanne Bigot<sup>1,2</sup> (jeanne.bigot@aphp.fr), Eloi Poucet<sup>1</sup>, Audrey Moreau<sup>1,3</sup>, Juliette Guitard<sup>1,2</sup>, Christophe Hennequin<sup>1,2</sup>, Harriet Corvol<sup>1,3</sup>, Thierry Fontaine<sup>4</sup>, Viviane Balloy<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U938, Inserm, CRSA, Paris, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Saint-Antoine, APHP, Paris, France

<sup>3</sup> Service de Pneumologie pédiatrique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France

<sup>4</sup> Unité Biologie et pathogénicité fongiques, Institut Pasteur, Paris, France

**Introduction et objectifs :**

*Aspergillus fumigatus* (*Af*) se propage sous forme de spores qui peuvent pénétrer dans le tractus respiratoire où elles sont éliminées par l'immunité innée. En présence d'un déficit immunitaire, les spores peuvent germer et former des filaments. Nous avons montré que les cellules épithéliales bronchiques (CEB), premières cellules respiratoires à entrer en contact avec les pathogènes, reconnaissent les filaments induisant la synthèse d'IL-8, une chimiokine pro-inflammatoire (1). Le récepteur ephrin type-A récepteur 2 (EphA2), identifié dans des cellules épithéliales orales, est décrit pour interagir avec le  $\beta$ -glucane de *Candida albicans* (2). Nos données transcriptomiques issues de CEB infectées par *Af* ont montré une surexpression d'EphA2 en présence des filaments. Dans cette étude, notre but est d'identifier les récepteurs cellulaires, tel que EphA2, les ligands fongiques et les voies de signalisation impliquée dans la réponse inflammatoire des CEB infectées par *Af*.

**Matériels et méthodes :**

Les CEB de la lignée BEAS-2B ont été cultivées dans du milieu F12 supplémenté en antibiotiques et sérum de veau fœtal. Les composés pariétaux purifiés de paroi d'*Af* ont été fournis par le Dr Fontaine. La phosphorylation de EphA2 a été mesurée par Western Blot. Des expériences d'ARN interférence ont été réalisées afin d'étudier l'implication de EphA2 dans la synthèse d'IL-8, mesurée par ELISA. Un inhibiteur de STAT3, le niclosamide, a été utilisé afin d'étudier son rôle dans l'activation des CEB infectées par *Af*.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nous avons montré qu'EphA2 était significativement phosphorylé après 6 et 8 heures d'infection des CEB par *Af* et que sa diminution d'expression était associée à une diminution de synthèse d'IL-8. De même, l'inhibition de STAT3 entraîne une diminution de la synthèse d'IL-8. Nous avons mis en évidence le rôle de plusieurs composés pariétaux d'*Af*, le galactosaminogalactane et les  $\alpha$ -1-3 glucanes, dans la synthèse d'IL-8 par les CEB.

Nos objectifs sont maintenant d'étudier l'interaction de ces composés pariétaux avec EphA2 et des co-récepteurs potentiels et d'identifier les voies de signalisation activées lors de cette interaction. Les données obtenues poseront les bases pour l'étude de médiateurs autres que l'IL-8 induits par cette interaction hôte-pathogène.

**Mots clés :** *Aspergillus fumigatus* - Cellules épithéliales bronchiques - Récepteurs - Paroi - IL-8.

**Références :**

1. Balloy V, Sallenave JM, Wu Y, Touqui L, Latgé JP, Si-Tahar M, et al. *Aspergillus fumigatus*-induced Interleukin-8 Synthesis by Respiratory Epithelial Cells Is Controlled by the Phosphatidylinositol 3-Kinase, p38 MAPK, and ERK1/2 Pathways and Not by the Toll-like Receptor-MyD88 Pathway. *J Biol Chem*. 11 juill 2008;283(45):3051321.
2. Swidergall M, Solis NV, Millet N, Huang MY, Lin J, Phan QT, et al. Activation of EphA2-EGFR signaling in oral epithelial cells by *Candida albicans* virulence factors. *PLoS Pathog*. 20 janv 2021;17(1):e1009221.

## PP - Prix poster Jeunes Microbiologistes

PP-04

## Programming lactic acid bacteria for cancer therapy: a part toolbox

Elsa Fristot (elsa.fristot@cbs.cnrs.fr), Chloé Sasson, El-Habib Hani, Pauline Mayonove, Guillaume Cambray, Jérôme Bonnet

INSERM, Centre de Biologie Structurale, Montpellier, France

In the recent years, **bacteria have been genetically engineered** to detect and treat several pathologies *in vivo*, including infections, metabolic disorders and inflammatory bowel diseases. Recently, numerous studies have been conducted to **modify bacteria to treat cancer**. The strategy of anti-cancer bacteria consists in genetically modifying bacteria in order to make them **recognize, colonize, and proliferate in the tumor microenvironment and finally produce *in situ* therapeutic molecules in a controlled manner**. A potential advantage of using bacteria as cargo is to counter the side effects of chemotherapy and immunotherapy treatments, which are still generally delivered systemically.

Broadly speaking, *Lactobacilli* holds great promise for various biotechnological applications. Flagship examples to date include the development of engineered probiotic treatments and *in situ* production of mucosal vaccines. Although providing an effective way to widen industrial applicability, **genetic engineering** of these highly phylogenetically diverse *Lactobacilli* species **remains vastly limited by the lack of cognate genetic elements** to support and precisely control gene expression such as **plasmids, promoters, RBS, or reporter genes**. In order to generalize the use of lactobacilli as an engineering platform, it is necessary to develop genetic tools allowing the reliable control of gene expression but also transposable between different species.

Our work aimed to engineer ***Lactobacillus gasseri* ATCC 33323 as a new chassis for cold tumor therapy**. As precision engineering of LAB (lactic acid bacteria) is currently limited by the lack of tools enabling reliable control of gene expression, a part of this project aims at **building a collection of well-characterized regulatory elements** to control transcription, translation and secretion levels. To do so we developed a **promoter and RBS library** as well as a **MoClo kit for vector construction** in lactic acid bacteria. In parallel, We are optimizing the production of **cytotoxic and immunomodulatory proteins** in *Lactobacillus gasseri*. Ultimately, bacterial therapeutic activity will be controlled by sensors responding to signals from the tumor microenvironment. In order to test, improve and validate our recombinant strains, we combining *in vitro* spheroid-based screening with animal models infection and therapeutic tests.

**Mots clés** : Lactobacillus - Cancer - Plasmid - Promoter - Immunotherapy.

## PP - Prix poster Jeunes Microbiologistes

PP-05

**Pathogenic *Mucorales* - Deciphering cell wall composition and their immunostimulatory potential**

Mathieu Lepas<sup>1</sup> (lepassmathieu@gmail.com), Sarah Sze Wah Wong<sup>1</sup>, Sarah Dellière<sup>2</sup>, Dea Garcia-Hermoso<sup>1</sup>, Fanny Lanternier<sup>1</sup>, Vishukumar Aimanianda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Unité de Mycologie moléculaire, Institut Pasteur, Paris, France*

<sup>2</sup> *Mycologie-Parasitologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France*

Mucormycosis are rare but life-threatening diseases. They are caused by filamentous fungi from the order Mucorales. They lead to serious invasive infections occurring mainly in individuals suffering from diabetes mellitus, and patients with malignancies or long term neutropenia. Recently, more attention has been paid to mucormycosis worldwide, due to its association with Covid-19. Mucormycosis diagnosis is challenging, and available antifungal therapeutic options are few. Therefore, there is a need to study the pathobiology of Mucorales. Since cell wall is the first fungal structure which interacts with the host, we aimed at characterizing the composition of the cell walls of different species from the most frequent pathogenic genera causing mucormycosis: *Lichtheimia*, *Mucor*, *Rhizomucor* and *Rhizopus*. These fungal spore morphotypes were analyzed by microscopy. Their germ-tubes were stained or labelled to localize different polysaccharides in their cell walls. Using gas chromatography, we quantified the monosaccharide composition in their cell walls. Finally, to study their immunogenicity we used these fungal spores, and soluble and insoluble fractions extracted from their cell walls to stimulate THP-1 cells (the human leukemic monocytes). This study adds to our knowledge on immunobiology of the cell walls of four pathogenic species of Mucorales.

*Mots clés* : Mucorales - Mucormycosis - Cell-wall - Biochemical - Immunology.

## PP - Prix poster Jeunes Microbiologistes

PP-06

Exploring biofilm formation by *Clostridioides difficile* and its role in gut persistence and relapse of infection

Jazmin Meza Torres<sup>1</sup> (jazmin.meza-torres@pasteur.fr), Morvan Claire<sup>1</sup>, Héloïse Mary<sup>2</sup>, Agnès Zettor<sup>3</sup>, Jeanne Chiaravalli<sup>3</sup>, Fabrice Agou<sup>3</sup>, Samy Gobaa<sup>2</sup>, Bruno Dupuy<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory Pathogenesis of Bacterial Anaerobes, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>2</sup> Biomaterials and Microfluidics, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>3</sup> Chemogenomic and Biological Screening Platform, Institut Pasteur, Paris, France

*Clostridioides difficile* is a gram-positive spore-forming obligate anaerobe and the most common cause of nosocomial diarrhea. *C. difficile* infection (CDI) leads from mild diarrhea to pseudomembranous colitis. The risks factors associated to CDI are hospitalizations, elderly people and dysbiosis of the gut microbiota due to antibiotics treatment.

A major challenge in managing CDI is the high rate of recurrent infections. After a first cycle of infection a relapse of infection can occur in as much as 30% of cases and a second relapse of infection can happen in 50% of cases. The specific causes of relapses are not well determined. So far, the ability of *C. difficile* to persist in the gut has been correlated with the capacity of spores to be internalized into intestinal epithelial cells. More recently, relapse has been hypothesized to be associated to the persistence of *C. difficile* in the intestine as a biofilm [1]. Recent studies demonstrated that *C. difficile* form biofilms *in vivo* in the mucus layer of mice and humans [2,3]. Moreover, our group found that *C. difficile* biofilm formation is induced in presence of deoxycholate (DOC) and mucin-derived sugars [4]. DOC concentrations highly vary in gut dysbiosis. Overall, these studies support that *C. difficile* can form biofilm in the gut; however, there is a lack of direct evidence that these biofilm communities are the cause of recurring CDI. Our project aim is to study *C. difficile* single and/or mixed biofilm and its role in gut persistence of *C. difficile* and in CDI relapse. We first identified several inducers triggering biofilm formation in the context of dysbiosis allowing CDI by performing a high-throughput screening (HTS) containing molecules representative of intestinal environment. The main hits identified are currently being validated. When validated, these inducers will be tested in transwell cell culture model and bioengineered human Organ-on-Chip (OoC) we have optimized to allow *C. difficile* growth. Our second objective is to determine to which extend commensal intestinal species and *C. difficile* can establish cooperative interactions favoring single or mixed biofilms by monitoring biofilm formation in the presence of the identified inducers, thanks to our HTS.

**Mots clés :** biofilm - Organ-on-Chip - persistence - relapse - *Clostridioides difficile*.

## Références :

1. J. Meza-Torres, E. Auria, B. Dupuy, Y. D. N. Tremblay, *Microorganisms* 2021, 9, 1922.
2. C. Vuotto, I. Moura, F. Barbanti, G. Donelli, P. Spigaglia, *Pathogens and Disease* 2016, 74, ftv114.
3. A. P. Soavelomandroso, F. Gaudin, S. Hoys, V. Nicolas, G. Vedantam, C. Janoir, S. Bouttier, *Front Microbiol* 2017, 8, 2086.
4. Y. D. N. Tremblay, B. A. R. Durand, A. Hamiot, I. Martin-Verstraete, M. Oberkampf, M. Monot, B. Dupuy, *ISME J* 2021, 15, 3623.



## V-P Virologie

V-P01

Virologie

**Diagnostic sérologique de l'hépatite E aigüe : comparaison des kits Wantai® et NovaLisa®**

Alexia Barbry<sup>1</sup> (alexia barbry@eurofins-biomnis.com), Laurence Pellegrina<sup>2</sup>, Anaïs Soares<sup>3</sup>, Claudine Lecuelle<sup>1</sup>, Delphine Delbac<sup>1</sup>, Lise Siard<sup>1</sup>, Gérard Perazza<sup>1</sup>, Christine Bouz<sup>4</sup>, Anne Ovize<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Sérologie, Eurofins-Biomnis, Lyon, France*

<sup>2</sup> *Innovation, Eurofins-Biomnis, Lyon, France*

<sup>3</sup> *Infectiologie, Eurofins-Biomnis, Lyon, France*

<sup>4</sup> *Allergologie, Eurofins-Biomnis, Lyon, France*

Le virus de l'hépatite E (VHE) représente la première cause d'hépatite aigüe dans le monde. Son incidence ne cesse de croître dans les pays industrialisés. Généralement asymptomatique, l'infection peut se traduire par des symptômes comparables aux autres hépatites virales. Le diagnostic chez l'immunocompétent repose sur la recherche d'IgM sériques anti-VHE par technique immuno-enzymatique (EIA) (1).

L'objectif de ce travail était de comparer les performances de deux kits permettant la recherche d'IgM anti-VHE par EIA: Wantai®, Eurobio-Scientific (largement représenté en France) et NovaLisa®, Gold-Standard-Diagnostics (récemment commercialisé).

Pour cette étude monocentrique rétrospective, nous avons analysé 90 sérums issus de patients provenant de notre réseau national de laboratoires (Eurofins-Biomnis) reçus entre 2016-2020. La sensibilité de chacun des kits a été évaluée à partir d'un groupe VHE+: 50 patients caractérisés par une PCR VHE positive sur sang (technique RT-PCR maison accréditée, séquence cible ORF 3,4 et/ou 5). Le groupe contrôle (VHE-) était constitué de 40 femmes enceintes supposées indemnes d'hépatite E (consommation fortement déconseillée des aliments incriminés dans la contamination par le VHE). Les sérums ont été analysés en parallèle par les deux kits en suivant les recommandations des fournisseurs sur l'automate Freedom EVOlyzer®, TECAN. De plus, la répétabilité du kit NovaLisa® a été évaluée. Au sein du groupe VHE+ trois sérums de patients étaient négatifs avec le kit NovaLisa® (deux sous traitement immunosuppresseur, un atteint d'hémopathie maligne) contre quatre pour le kit Wantai® (mêmes sérums plus un supplémentaire sans information clinique). Les sensibilités étaient respectivement de 94% (IC95=83,45-98,75) et 92% (IC95=80,77-97,78) pour NovaLisa® et Wantai®. Le pourcentage de résultats négatifs dans la population VHE- était de 100% (IC95=91,19-100) pour les deux kits. Le CV de la répétabilité du kit NovaLisa® était de 3%.

Les performances des kits sont bonnes et équivalentes. Les sensibilités ne sont pas optimales en raison de faux négatifs chez trois patients immunodéprimés. Néanmoins cette observation est en accord avec les recommandations de la HAS: réalisation d'une RT-PCR pour le diagnostic de l'hépatite E aigüe chez les immunodéprimés. Notre laboratoire a adopté le kit NovaLisa®, cette étude nous a également permis d'établir un seuil clinique appliqué pour l'interprétation de nos sérologies en routine.

**Mots clés :** Hépatite E - Sérologie - IgM.

Références :

1. Actes de biologie médicale du VHE - Argumentaire HAS 2017.

**V-P Virologie**

V-P02

Virologie

**Procédures d'inactivations chimique et thermique du virus de la variole du singe**

Christophe Batéjat<sup>1</sup> (christophe.batejat@pasteur.fr), Audrey Ferrier<sup>2</sup>, Quentin Grassin<sup>1</sup>, Gaëlle Frénois-Veyrat<sup>2</sup>, Maxence Feher<sup>1</sup>, Damien Hoinard<sup>1</sup>, Jean-Claude Manuguerra<sup>1</sup>, Olivier Ferraris<sup>2</sup>, India Leclercq<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Unité Environnement et Risques Infectieux, Institut Pasteur, Paris, France*

<sup>2</sup> *CNR Orthopoxvirus, Institut de Recherche Biomédicale des Armées, Brétigny-sur-Orge, France*

<sup>3</sup> *Université Paris Cité, Paris, France*

Depuis avril 2022, le virus de la variole du singe, ou Monkeypoxvirus (MPXV), est à l'origine d'une épidémie sans précédent dans des zones géographiques non endémiques, principalement situées en Europe (<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON392>).

Les outils diagnostiques moléculaires mis en place permettent de détecter les porteurs du MPXV afin de les isoler le plus rapidement possible, et empêcher ainsi des contaminations secondaires. Dans ce contexte, il est important de mettre en place des procédures d'inactivation virale fiables permettant aux techniciens de laboratoire de travailler dans des conditions expérimentales sûres et validées expérimentalement, et aux personnels soignants de retrouver un environnement de travail sans risque après la prise en charge d'un cas positif. Dans le cadre de cette étude, nous avons testé plusieurs procédés d'inactivation chimique et protocoles d'inactivation thermique. Pour cela, des milieux de transport pour virus et des échantillons de sérum enrichis en MPXV ont été soumis à différents produits virucides (Tampons de lyse de kits commerciaux, éthanol, javel, paraformaldéhyde) ou à différentes températures (60, 70 et 95 °C), pendant des périodes allant de 30 s à 120 min. La perte d'infectivité du virus traité a ensuite été testée par mesure de l'impédance cellulaire en temps réel ou RTCA (Real-Time Cell Analysis) et/ou par titrage infectieux en dilution limite. Les résultats obtenus fournissent des données essentielles pour les professionnels de santé et de laboratoires, permettant l'amélioration de leurs protocoles de manipulation et de décontamination en vigueur dans des conditions de biosécurité optimales.

*Mots clés* : Monkeypoxvirus - Inactivation - Désinfection.

**V-P Virologie**

V-P03

Virologie

**Chronologie de l'infection Covid-19 durant la grossesse : Existence d'un lien entre les analyses virologiques et anatomopathologiques du placenta ?**

Juliette Besombes<sup>1</sup> (juliette.besombes@chu-rennes.fr), Gisèle Lagathu<sup>1</sup>, Antoine Bigand<sup>2</sup>, Adélie Perrot<sup>2</sup>, Philippe Loget<sup>2</sup>, Vincent Thibault<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de virologie, CHU Pontchaillou Rennes, Rennes, France

<sup>2</sup> Laboratoire d'anatomopathologie, CHU Pontchaillou Rennes, Rennes, France

**Introduction et objectifs :**

Généralement, les femmes enceintes infectées par le virus de la Covid-19 n'auront pas de complications durant leur grossesse. Mais dans quelques cas où l'issue fœtale a été défavorable, l'examen anatomopathologique des tissus placentaires a pu révéler des anomalies. A l'aide des analyses virologiques des placentas, nous avons essayé de relier ces anomalies placentaires à l'infection par la Covid-19 chez les mères.

**Matériels et méthodes :**

Entre avril 2021 et janvier 2022, treize placentas de mères ayant eu une infection Covid-19 pendant leur grossesse ont été adressés au laboratoire de virologie devant la présence d'anomalies à l'étude immunohistochimique (IHC). Nous avons réalisé une RT-PCR du SARS-COV-2 sur différents types d'échantillons : plaque chorale (PC), plaque basale (PB) et sang de cordon (SC).

**Résultats, discussion et conclusion :**

Six patientes ont eu des résultats positifs qui nous ont permis une classification en trois groupes distincts.

Dans le premier groupe (3/13), les PC, PB et SC étaient positifs au SARS-COV-2. Les placentas présentaient un intervillite aiguë massive à l'IHC. Le délai entre l'infection et l'analyse du placenta (DIP) était de 0 à 5 jours. Les issues fœtales étaient : naissance prématurée d'un enfant vivant (infection du deuxième trimestre) ou avortement spontané (infection du premier trimestre).

Dans le second groupe (3/13), le PC et le PB étaient positifs au SARS-COV-2 mais le SC était négatif (2/3). Les placentas présentaient une intervillite chronique à l'IHC. Le DIP était de 14 jours. Les issues fœtales étaient : mort intra-utérine (infection du deuxième trimestre) ou naissance prématurée avec décès néonatal (infection du troisième trimestre).

Dans le troisième groupe (7/13), les prélèvements étaient négatifs. L'IHC a révélé principalement une villite chronique de haut grade. Le DIP était le plus souvent supérieur à trente jours et la grossesse menée à terme sans particularités. Le Covid-19 pendant la grossesse peut être à l'origine d'une intervillite souvent associée à la détection de l'ARN du SARS-COV-2 dans l'ensemble du placenta et à une issue défavorable pour le fœtus. La villite chronique observée dans les échantillons négatifs pour l'ARN du SARS-COV-2 semble indiquer des lésions séquellaires après la guérison de la Covid-19.

**Mots clés :** Covid-19 - Grossesse - Lésions placentaires - Immunohistochimie.

## V-P Virologie

V-P04

Virologie

**Étude rétrospective de la circulation du monkeypox virus à une échelle locale dans les mois précédents l'épidémie 2022**

Juliette Besombes (juliette.besombes@chu-rennes.fr), Charlotte Pronier, Gisèle Lagathu, Claire Grolhier, Anne Maillard, Vincent Thibault

Laboratoire de virologie, CHU Pontchaillou Rennes, Rennes, France

**Introduction et objectifs :**

Depuis mai 2022, plusieurs cas d'infection par le virus de la variole du singe ou monkeypox virus (MPXV) (famille *Poxviridae*, genre *Orthopoxvirus*) ont été signalés sur le continent européen. Alors que le MPXV circule habituellement de façon endémique dans des pays d'Afrique centrale et occidentale, les cas actuellement décrits en Europe ne concernent étonnement pas des cas importés. L'émergence de nombreux cas disséminés en Europe soulève la question d'une circulation à bas bruit du virus dans la population dans les mois précédents cette épidémie.

Cette infection se caractérise notamment par une éruption cutanée vésiculeuse qui peut faire évoquer une varicelle. Les cas récemment décrits concernent principalement des hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes. Nous avons réalisé une étude rétrospective afin de rechercher une infection à MPXV chez des hommes dont une recherche d'Herpes virus (HSV) ou de varicelle zona virus (VZV) avait été demandée dans les mois précédents l'apparition des premiers cas autochtones européens.

**Matériels et méthodes :**

Entre juin 2021 à juin 2022, 47 PCR HSV et/ou VZV ont été réalisées sur des prélèvements cutanéomuqueux (hors prélèvements oculaires) provenant d'hommes âgés entre 18 et 50 ans. La PCR consensus orthopoxvirus (protocole du CRSSA) a été réalisée sur les 28 prélèvements qui étaient négatifs à la fois pour la recherche HSV et VZV.

**Résultats, discussion et conclusion :**

La totalité des échantillons testés pour la PCR consensus orthopoxvirus sont finalement négatifs.

Cette étude ne permet pas de mettre en évidence une circulation du MPXV à une échelle locale dans les mois qui ont précédés l'émergence des infections MPXV dans plusieurs pays européens, zones habituellement non endémiques. Elle s'est concentrée de façon arbitraire sur des patients masculins ayant une éruption compatible avec une infection à MPXV, s'agissant d'une population analogue à celle dans laquelle sévit l'épidémie de MPXV actuelle, mais dont une étiologie herpétique n'a pas été retrouvée. Ainsi, il s'agit d'une étude à petite échelle et biaisée mais qui mériterait d'être élargie au niveau national et européen.

**Mots clés :** Monkeypoxvirus - Émergence - Épidémie - Circulation - Éruption.

## V-P Virologie

V-P05

Virologie

**Fatal tick-borne encephalitis in a child from Algeria: a case report**

Nesrine Bouredjoul<sup>1</sup> (n.bouredjoul@yahoo.fr), Aissam Hachid<sup>1</sup>, Massin Lounis<sup>2</sup>, Chahrazed Benbetka<sup>1</sup>, Aldjia Khaldi<sup>1</sup>, Nazli Ayhan<sup>3</sup>, Smail Daoudi<sup>2</sup>, Rémi Charrel<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire des Arbovirus et Virus Emergents, Département de Virologie Humaine, Institut Pasteur d'Algérie, Alger, Algérie

<sup>2</sup> Département de neurologie, Centre Hospitalo-Universitaire de Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie

<sup>3</sup> Unité des Virus Emergents, Aix-Marseille Université, AP-HM Hôpitaux Universitaires de Marseille, Marseille, France

**Introduction:**

Tick-borne encephalitis virus (TBEV) is an arbovirus of medical importance transmitted by ticks of the *Ixodes* genus. It is mainly distributed in Europe and Asia and could cause in infected human tick-borne encephalitis (TBE), a neurological seasonal zoonotic disease.

Here, we will present the first autochthonous confirmed case of TBE in Algeria.

**Case presentation:**

On November 8, 2015, a 13-year-old girl from Dellys, a city in north central Algeria, was admitted to the neurology department of the University Hospital of Tizi Ouzou for symptoms of facial asymmetry and language impairment, dating back to October 4, 2015, which had rapidly progressed to a weakness of the right hemibody. There was no notion of traveling abroad.

The patient's examination showed a right central facial paralysis and a pyramidal syndrome of the right hemibody. Standard blood and cerebrospinal fluid analyses were unremarkable. Microbiological tests came out negative. Magnetic resonance imaging of the brain showed a radiological appearance suggestive of viral encephalitis.

The patient was treated with antibiotics, corticosteroids and human normal immunoglobulin, however, no clinical improvement was observed and the clinical condition gradually worsened leading to the patient's death.

**Laboratory findings:**

RT-PCR for Herpes simplex virus, enteroviruses, Toscana virus and West Nile virus (WNV) came out negative. WNV serology by ELISA test revealed IgG seroconversion with negative IgM.

Plaque-reduction neutralization test (PRNT90) was carried out for several flaviviruses (WNV, USUV, TBEV) and detected the presence of TBEV-specific antibodies with titer of 1/40, which confirmed the diagnosis of TBEV.

**Discussion and conclusion:**

We describe here the first autochthonous case of TBE which occurred in a patient living in Algeria with no record of traveling abroad.

Previous studies have already described the presence of *Ixodes ricinus* in the Mediterranean coast of North Africa. Recent data have reported the presence of TBEV in *I. ricinus* collected from northwestern Tunisia and also the detection of antibodies against TBEV in sheep.

The region of Dellys shared identical geo-climatic characteristics to those of the Tunisian region. This is why eco-epidemiological and serological investigations are needed to assess the TBEV circulation in Algeria and its implication in public health.

**Mots clés :** TBEV - Encephalitis - Algeria - PRNT.

## V-P Virologie

V-P06

Virologie

**Project SACADA : SARS-CoV-2 transmission in meat processing plants**

Estelle Chaix<sup>1</sup> (estelle.chaix@anses.fr), Christophe Batejat<sup>2</sup>, Géraldine Boue<sup>3</sup>, Steven Duret<sup>4</sup>, Michel Federighi<sup>3</sup>, Maxence Feher<sup>2</sup>, Lisa Fourniol<sup>5</sup>, Laurent Guillier<sup>1</sup>, Yvonnick Guillois<sup>6</sup>, Pauline Kooch<sup>1</sup>, India Leclercq<sup>2</sup>, Sophie Le Poder<sup>7</sup>, Ngoc-Du Martin Luong<sup>1</sup>, Anne-Laure Maillard<sup>6</sup>, Jean-Claude Manuguerra<sup>2</sup>, Mathilde Pivette<sup>6</sup>, Jessica Vanhomwegen<sup>2</sup>, Prunelle Waldman<sup>2</sup>, Moez Sanaa<sup>1</sup>, Sandra Martin-Latil<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Risk Assessment Department, ANSES, Maisons-Alfort, France

<sup>2</sup> Environment and Infectious Risks Unit, Laboratory for Urgent Response to Biol, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>3</sup> UMR INRAE 1014 SECALIM, Oniris, Nantes, France

<sup>4</sup> Université Paris-Saclay, FRISE, INRAE, Antony, France

<sup>5</sup> Laboratory for Food Safety, ANSES, Maisons-Alfort, France

<sup>6</sup> Regions Department, Santé Publique France (SpFrance), The French National Public Health Agency, Rennes, France

<sup>7</sup> UMR Virologie 1161, ENVA, INRAE, Anses, Maisons-Alfort, France

In France and worldwide, during the COVID-19 pandemic, workers in the food production sector were considered as part of the critical infrastructure workforce. In spring 2020, clusters in the food production sector are reported in different countries. Meat processing plants have been repeatedly identified as hot spots for SARS-CoV-2 transmission in many countries, including France. Health authorities have identified barriers to effective prevention and control of COVID-19 in these plants, with socio-economic challenges that may contribute to workers in this industry continuing to work while ill.

The objective of the SACADA project (2021-2022) is to better understand the circulation of SARS-CoV-2 in meat processing plants in order to provide preventive or mitigating measures for workers and consumers.

In this project, we have collected the data necessary to understand the circulation of the virus in this type of workplace. We will use these data to build a simulation model of the spread of SARS-CoV-2. We follow four work packages. Firstly, the factors of transmission and persistence of SARS-CoV-2 in meat processing plants will be studied, based both on literature and experimental data. In a second task, and in order to understand the emergence of clusters, a description of the working conditions and environmental factors in meat processing plants was carried out, following epidemiological investigations but also through questionnaires, interviews and visits.

All of these elements support the third step, which is the construction of a mathematical model to simulate the spread of the virus in a meat processing plant. The objective is to evaluate the impact of certain prevention or mitigation measures on the probability of transmission of the virus to employees and the contamination of products and the environment.

Finally, in a last task, we will propose elements for engaging employees in an effective safety management policy, gaining cooperation and support, and maintaining a positive safety culture.

**Mots clés :** SARS-CoV-2 - Covid 19 - Meat processing plant - Epidemiology - Mathematical model.

## V-P Virologie

V-P07

Virologie

**Caractérisation des charges virales cellulaires dans les infections cervicales aiguës à HPV16**

Baptiste Elie<sup>1</sup> (baptiste.elie@ird.fr), Vanina Boué<sup>1</sup>, Jean-Luc Prétet<sup>2</sup>, Alice Baraquin<sup>2</sup>, Nicolas Tessandier<sup>3</sup>, Ignacio G Bravo<sup>1</sup>, Samuel Alizon<sup>3</sup>

<sup>1</sup> MIVEGEC, UMR CNRS IRD, Univ. Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> Centre National de Référence Papillomavirus, CHRU Jean Minjoz, Besançon, France

<sup>3</sup> CIRB, Collège de France, Paris, France

**Introduction et objectifs :**

Les infections à papillomavirus humains (HPVs) sont très fréquentes au niveau cutané et muqueux. Le plus souvent ces infections sont asymptomatiques et se résolvent après 6 à 18 mois. Cependant, certaines infections persistent et peuvent causer des cancers, en particulier du col de l'utérus. Les mécanismes associés à une clairance ou à une persistance de l'infection sont mal connus. Par ailleurs, nous manquons des données quantitatives sur la dynamique virale intra-hôte. Une telle information permettrait de mieux comprendre l'histoire naturelle de l'infection et d'explorer de nouvelles approches de dépistage.

À ce titre, la proportion de cellules infectées dans un prélèvement du col de l'utérus, ou le nombre de copie de virus par cellule sont inconnus. Nous explorons cette question en combinant des modèles statistiques avec une analyse de frottis cervicaux normaux infectés par HPV16.

**Matériels et méthodes :**

Par une approche de dilutions limites, nous avons estimé par qPCR HPV16 la proportion de cellules infectées dans des frottis prélevés dans un milieu de cytologie liquide. Nous avons ensuite distribué ces frottis à raison d'une cellule infectée par puit en dix réplicats. Après lyse cellulaire et qPCR HPV16 et albumine (pour quantifier le nombre de cellules) dans chaque puits, le nombre de copies d'HPV16 par cellule a été calculé.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Nos premiers résultats montrent que la proportion de cellules infectées varie beaucoup entre chaque frottis, de 0,3 à 2%. Par ailleurs, le nombre moyen de copies d'HPV16 par cellules infectées est de l'ordre de 10. Ces résultats préliminaires montrent que les charges virales par cellules sont relativement faibles par rapport aux rares données de la littérature. L'analyse de frottis supplémentaires est en cours et nous prévoyons aussi d'analyser des frottis avec des lésions de bas ou de haut grade. Par ailleurs, nous envisageons d'utiliser une approche de tri cellulaire par cytométrie en flux pour réaliser des analyses en cellules uniques.

*Mots clés :* Papillomavirus - Quantitatif - HPV16 - Frottis cervicaux - qPCR.

**V-P Virologie**

V-P08

Virologie

**Comparaison des trousse de détection des anticorps HSV-1 et HSV-2 Abbott® et DiaSorin®**

Marwan Haboub<sup>1</sup> (marwan.haboub@gmail.com), Aurore Clot<sup>1</sup>, Jessica Fiammetti<sup>1</sup>, Charline Devilleger<sup>1</sup>, Pauline Lefebvre<sup>1</sup>, Sophie Alain<sup>1,2</sup>, Sébastien Hantz<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de virologie, CHU Limoges, Limoges, France

<sup>2</sup> CNR Herpèsvirus, Limoges, France

**Introduction et objectifs :**

Le diagnostic de lésions dues aux virus herpès simplex de type 1 (HSV-1) et 2 (HSV-2) repose sur la biologie moléculaire en première intention. Cependant, en phase de latence, seuls les tests sérologiques permettent de mettre en évidence les patients séropositifs pour ces virus. Les tests sérologiques spécifiques du type d'HSV peuvent être particulièrement utiles dans le cadre de la prise en charge des femmes enceintes et de leurs nouveau-nés pour évaluer le risque d'infection néonatale. L'objectif de cette étude est d'évaluer 2 techniques automatisées permettant la détection des anticorps spécifiques de type HSV-1 et HSV-2.

**Matériels et méthodes :**

173 sérums ont été collectés de janvier 2020 à juillet 2021 et conservés à -20°C dans la collection biologique du CHU de Limoges. 153 sont positifs en IgG HSV1/2 (Liaison XL, DiaSorin®) et 20 négatifs. Les sérologies IgG VZV (Liaison XL, Diasorin®) ont été préalablement testées en parallèle de la sérologie initiale pour évaluer d'éventuelles réactions croisées. La détection d'IgG anti-HSV-1 et anti-HSV-2 a été réalisée avec les trousse HSV-1 IgG et HSV-2 IgG Abbott® sur un automate Alinity-i en comparaison avec les trousse HSV-1 et HSV-2 IgG Liaison® (DiaSorin®) sur un automate Liaison XL. Les techniques de dosage spécifique HSV-1 et HSV-2 utilisent des antigènes recombinants gG1 et gG2 respectivement pour HSV-1 et HSV-2. La concordance entre les trousse a été évaluée par le coefficient Kappa avec le logiciel GraphPad®.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Pour la sérologie HSV-1, 7 sont négatifs en Abbott®/positifs en DiaSorin®, et 1 positif en Abbott®/négatif en DiaSorin®. Les discordants (positifs initialement en HSV-1/2) présentent pour la plupart des valeurs entre 0,5 et 1 (Abbott). Pour la sérologie HSV-2, 1 est négatif en Abbott®/positif en DiaSorin®, et 13 positifs en Abbott®/négatifs en DiaSorin® alors que le test HSV1/2 était positif dans 9 cas sur 13. Les tests Kappa sont respectivement de 0,87 pour la détection des IgG HSV-1 et 0,77 pour HSV-2, témoignant donc d'une excellente concordance pour le test HSV-1 entre les techniques, et d'une bonne concordance pour le test HSV-2, permettant d'envisager une utilisation en routine de ces nouvelles trousse.

*Mots clés :* Herpèsvirus - Sérologie - Abbott - Diasorin.



**V-P Virologie**

V-P09

Virologie

**Rôle de la protéine antisens (ASP) du VIH-1 dans l'entrée du virus**

Myriam Abla Houmey (abla.houmey@irim.cnrs.fr), Jean-Michel Mesnard, Nathalie Chazal

UMR9004, CNRS, UM, Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, Montpellier, France

Quelques années après la découverte du Virus de l'Immunodéficience Humaine de type 1 (VIH-1), Roger H. Miller a suggéré l'existence d'un gène antisens sur le brin complémentaire de l'ADN proviral et chevauchant avec le gène de l'enveloppe (*env*)<sup>1</sup>. Ce gène code pour une protéine nommée « ASP » (Antisense Protein) capable d'induire une réponse immunitaire chez les patients infectés par le VIH-1<sup>2</sup>. Notre équipe a montré qu'il existait une pression de sélection exercée sur ce gène, entraînant sa conservation dans le groupe M pandémique<sup>3</sup>. Les différentes localisations de cette protéine, à la fois à la surface des cellules infectées et des particules virales<sup>4</sup>, nous ont conduit à faire l'hypothèse d'un rôle de cette protéine dans l'étape d'entrée du virus dans ses cellules cibles.

La fusion dans le contexte d'un virus entier exprimant ou non ASP est étudiée par un test de fusion sensible, le BlaM-assay. Les virus contenant la protéine Vpr fusionnée à l'enzyme B-lactamase ont été produits dans des cellules HEK293T par transfection de clones moléculaires. Une lignée de lymphocytes T (HuT 78) est infectée avec ces virus et la fusion virus-cellule est analysée par cytométrie en flux après ajout du substrat de la B-lactamase.

La capacité d'ASP à promouvoir la fusion de la membrane virale est étudiée en utilisant un autre modèle expérimental. Des cellules HEK293T exprimant les protéines d'enveloppe du VIH-1 sont co-cultivées avec une lignée de lymphocytes T afin d'évaluer la formation de syncytia en présence ou non d'ASP. Les différentes lignées exprimant deux protéines fluorescentes différentes, l'apparition de cellules doubles fluorescentes témoigne d'un événement de fusion cellulaire.

Nos résultats indiquent que : (1) les VIH-1 exprimant ASP présentent une entrée par fusion facilitée dans les cellules cibles, (2) l'expression d'ASP, dans les cellules exprimant les protéines d'enveloppes du virus, augmente la quantité des syncytia formés.

Ces résultats suggèrent, pour la première fois, qu'une fonction de la protéine ASP serait de favoriser l'étape d'entrée par fusion du VIH-1 dans les cellules cibles. Cette protéine pourrait ainsi contribuer à favoriser la transmission du VIH-1 et, donc, participer à la réussite pandémique des virus appartenant au groupe M.

**Mots clés :** VIH-1 - Antisens - Fusion.

**Références :**

1. Miller RH. 1988 Human immunodeficiency virus may encode a novel protein on the genomic DNA plus strand. *Science*. 239(4846):14202.
2. Bet A, Maze EA, Bansal A, Sterrett S, Gross A, Graff-Dubois S, et al. 2015. The HIV-1 antisense protein (ASP) induces CD8 T cell responses during chronic infection. *Retrovirology*. 12:15.
3. Cassan E, Arigon-Chifolleau AM, Mesnard JM, Gross A, Gascuel O. 2016. Concomitant emergence of the antisense protein gene of HIV-1 and of the pandemic. *Proc Natl Acad Sci*. 113(41):1153742.
4. Affram Y, Zapata JC, Gholizadeh Z, Tolbert WD, Zhou W, Iglesias-Ussel MD, et al. 2019. The HIV-1 Antisense Protein ASP Is a Transmembrane Protein of the Cell Surface and an Integral Protein of the Viral Envelope. *J Virol*. 93(21):e00574-19.

**V-P Virologie**

V-P10

Virologie

**La Covid- 19 chez les patients vivant avec le VIH : Expérience du CHU de Casablanca**

Houda Lahrichi (lahrichihouda11@gmail.com), Latifa Marih, Mustapha Sodqi, Ahd Ouladlarsen, Hanane Badi, Abdelfattah Chakib, Kamal Marhoum Elfilali

*Maladies infectieuses, CHU Ibn Rochd Casablanca, Casablanca, Maroc*

**Introduction :**

La pandémie COVID 19 constitue un véritable problème de santé publique dans le monde. L'association avec l'infection à VIH semble grave vu le terrain d'immunodépression et comorbidités associés au VIH. Le but de ce travail est de décrire les particularités cliniques et évolutives de la Covid-19 chez les patients vivant avec le VIH (PVVIH).

**Matériels et méthodes :**

Nous avons mené une étude rétrospective portant sur les PVVIH qui ont été testé positifs au COVID 19 au cours de leur hospitalisation au service des maladies infectieuses au CHU Ibn Rochd de Casablanca, entre Janvier 2021 et Février 2022.

**Résultats :**

Seize PVVIH ont été diagnostiqués positifs au SARS COV 2 au cours de leur hospitalisation. Il s'agit de 9 femmes (56.2%) et 7 hommes (43.8%), avec un âge moyen de 43 ans (23– 63 ans), dont trois patients étaient de nationalité ivoirienne (18.75%) et 13 marocains (81.25%). La majorité de nos patients étaient au stade C avec des infections opportunistes évolutives. A l'admission, la charge virale VIH était supérieure à 50 copies/ml chez quatorze patients (87.5%) et indétectable chez deux malades (12.5%). Le taux de CD4 était inférieur à 200 cellules/ $\mu$ l chez 13 patients (81.25%) et supérieur à 300 cellules/ $\mu$ l chez 3 (18.75%). Sept patients (43.7%) étaient sous trithérapie antirétrovirale et cinq malades avaient des comorbidités. Treize patients avaient présenté une forme bénigne de la Covid-19 (81.25%) et 3 patients avaient une forme sévère (18.75%). Tous les patients ont été isolés mis sous une antibiothérapie, une vitaminothérapie, une anticoagulation et 3 patients avaient reçu l'hydroxy chloroquine sans prescription de corticothérapie dans tous les cas. L'évolution était favorable chez 13 patients (81.25%), un patient a été transféré à la réanimation pour prise en charge d'une détresse respiratoire aigue et 2 patients sont décédés (12.5%).

**Conclusion :**

Le SARS COV 2 possède une capacité remarquable de provoquer une maladie grave chez les personnes présentant des affections médicales sous-jacentes. Les PVVIH ayant une immunodépression et des comorbidités sont plus vulnérables à l'infection par le SARS COV 2 et à la COVID 19 grave d'où l'intérêt de la prévention par la vaccination.

*Mots clés :* COVID 19 - Immunodépression - Infection à VIH.

## V-P Virologie

V-P11

Virologie

**“Summer is the New Winter” - New Seasonality of Respiratory Syncytial Virus during the COVID-19 pandemic?**

Ana Catarina B. Marques (anacatarinamarques.13@gmail.com), Yuliya Volovetska, Teresa Meira, Rosário Barreto

*Clinical Pathology Department, Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte, Lisboa, Portugal***Introduction and Aim:**

Human Respiratory Viruses are the main agents of respiratory infection and seem to follow a seasonal pattern, especially Respiratory Syncytial Virus (RSV) with an increased incidence in winter. However, the COVID-19 pandemic seems to have changed this behaviour. Our objective was to analyse the seasonality of RSV infections identified in our laboratory during the COVID-19 pandemic in comparison with the pre-pandemic period.

**Materials and Methods:**

We conducted a retrospective observational study including positive results for RSV from nasopharyngeal swab, nasopharyngeal aspirate or bronchoalveolar lavage samples during a pre-COVID-19 pandemic year (2019) and a COVID-19 pandemic period (2020 and 2021). For the detection and identification of this pathogens, a one-step real-time RT-PCR multiplex assay was performed, with Allplex™ Respiratory Panel 1 (Seegene) or Xpert®Xpress Flu/RSV (Cepheid) tests. All statistical analyses were performed using the Excel® software.

**Results, Discussion and Conclusions:**

We analysed 155 positive results for RSV in 2019, 65 in 2020, and 111 in 2021. During the Winter 124 (80%) samples were positive for RSV during 2019; 61 (93.9%) during 2020 and 16 (14.4%) during 2021. On the other hand, during the Summer, while in 2019 and 2020, there were no positive results for RSV, in 2021 there were 33 (29.7%) positive samples. During the Autumn we identified 16 (14.4%) RSV positive samples during 2019, none during 2020, but 62 (55.9%) during 2021.

These data show that there was a change in the seasonality of RSV infections during the COVID-19 pandemic, tending to be more frequent in the Summer and Autumn. It is important to remind that during the pandemic years, especially 2020, fewer tests were carried out, which makes it difficult to follow this new seasonal trend.

**Disclosure:**

There are no conflicts of interest.

*Mots clés* : Respiratory Syncytial Virus - COVID-19 Pandemic - Respiratory Infection - Seasonality.

**V-P Virologie**

V-P12

Virologie

**Séroprévalence du virus Zika en République du Congo**

Nanikaly Moyen<sup>1</sup> (moyenmimi@gmail.com), Elif Nurtop<sup>2</sup>, Yannick Dimi<sup>3</sup>, Xavier De Lamballerie<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Laboratoire de bactériologie-Virologie, Université Marien Ngouabi/Faculté des Sciences de la Santé, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

<sup>2</sup> *Unité des Virus Emergents-UMR190, Université d'Aix-Marseille II, Marseille, France*

<sup>3</sup> *Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

**Introduction et objectif :**

Le virus Zika (ZIKV) est un virus à ARN transmis par les arthropodes (arbovirus). Il a été décrit pour la première fois en Afrique en 1947 et, est resté sporadique jusqu'à l'apparition de l'épidémie de Micronésie en 2007, suivie par des épidémies dans les îles du Pacifique, en Amérique latine et des Caraïbes. Ces différentes épidémies ont révélé sa gravité avec des complications foetales et neurologiques et ont montré que le ZIKV était sexuellement transmissible. Le ZIKV est originaire d'Afrique ; cependant, on sait peu de choses sur l'épidémiologie du virus dans les populations africaines. Suite à une étude réalisée au Cameroun, qui a mis en évidence une faible épidémiologie du ZIKV associée à une transmission présumée péri-sylvatique ; il nous a paru opportun de réaliser une étude de séroprévalence en République du Congo, en vue de cartographier les foyers épidémiologiques dans la sous-région de l'Afrique centrale.

**Matériels et méthodes :**

Un échantillon de 386 sérums provenant de donneurs de sang volontaires collectés en 2011 dans les zones rurales et urbaines de la République du Congo a été utilisé. Un dépistage primaire a été fait le test ELISA IgG anti-NS1 ZIKV. La confirmation a été faite avec le test de neutralisation virale (VNT) basé sur l'effet cytopathique.

**Résultats, discussion et conclusion :**

La séropositivité au ZIKV a été de 1,8 %. Elle varie respectivement de 1,7 % à 3,6 % entre les zones urbaines et rurales.

Ces résultats obtenus ont démontré que la majorité de la population du Congo est immunologiquement naïve contre le ZIKV avec un cycle de transmission présumé péri-sylvatique, ce qui souligne l'importance de réaliser des études de surveillance ZIKV en Afrique.

*Mots clés :* Virus Zika - Séro-épidémiologie - Afrique - Congo.

**V-P Virologie**

V-P13

Virologie

**Rapid syndromic testing for respiratory viral infections in children attending the emergency department during COVID-19 pandemic in Lille, France, 2021-2022**

Mahdi Ouafi<sup>1</sup> (mahdi.ouafi@chu-lille.fr), Francois Dubos<sup>2</sup>, Ilka Engelmann<sup>1</sup>, Mouna Lazrek<sup>1</sup>, Aurélie Guigon<sup>1</sup>, Laurence Bocket<sup>1</sup>, Didier Hober<sup>1</sup>, Enagnon Kazali Alidjinou<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CBP, Laboratoire de virologie, CHU Lille, Lille, France

<sup>2</sup> Urgences pédiatriques, CHU Lille, Lille, France

**Objectives:**

Viral respiratory infections are common in children, and usually associated with non-specific symptoms. Respiratory panel-based testing was implemented during the COVID-19 pandemic, for the rapid differentiation between SARS-CoV-2 and other viral infections, in children attending the emergency department (ED) of the teaching hospital of Lille, northern France, between February 2021 and January 2022.

**Methods:**

Children aged  $\leq 15$  years, attending the pediatric ED with suspicion of respiratory infection i.e. children presenting with fever and/or respiratory symptoms and/or digestive symptoms on admission, and who underwent a syndromic testing between February 15th, 2021 and January 30th, 2022, were included. Nasal or naso-pharyngeal specimens were collected using flocked swabs. Syndromic respiratory testing was performed with two rapid multiplex molecular assays: the BioFire<sup>®</sup> Respiratory Panel 2.1 - plus (RP2.1 plus) or the the QIAstat-Dx Respiratory SARS-CoV-2 Panel. SARS-CoV-2 variant was screened using mutation-specific PCR-based assays and/or whole genome sequencing.

**Results:**

A total of 3517 children were included in the study. SARS-CoV-2 was detected in samples from 265 children (7.5%). SARS-CoV-2 infected patients were younger than those without SARS-CoV-2 infection (median age: 6 versus 12 months,  $p < 0.0001$ ). The majority of infections (61.5%) were associated with the Omicron variant. The median weekly SARS-CoV-2 positivity rate ranged from 1.76% during the Alpha variant wave to 24.5% with the emergence of the Omicron variant. The median age was similar in the different variant group. Most children (70.2%) were treated as outpatients, and seventeen patients were admitted to the intensive care unit. The hospitalization rate was similar during the different waves. Other respiratory viruses were more frequently detected in SARS-CoV-2 negative children than in positive ones (82.1% versus 37.4%,  $p < 0.0001$ ). Human rhinovirus/enterovirus and respiratory syncytial virus (RSV) were the most prevalent in both groups.

**Conclusions:**

We observed a low prevalence of SARS-CoV-2 infection in children attending pediatric ED, despite the significant increase due to Delta and Omicron variants, and an important circulation of other respiratory viruses. Severe COVID-19 was overall rare in children.

*Mots clés* : Virologie - Pédiatrie - Panel syndromique - SARS-CoV-2 - Infections respiratoires.

**V-P Virologie**

V-P14

Virologie

**Détection par RT-PCR du SARS-COV-2 dans la salive et l'écouvillon naso-pharyngé en fonction des variants viraux**

Maud Salmona<sup>1</sup> (maud.salmona@aphp.fr), Marie-Laure Chaix<sup>1</sup>, Linda Feghoul<sup>1</sup>, Nadia Mahjoub<sup>1</sup>, Sarah Maylin<sup>1</sup>, Nathalie Schnepf<sup>1</sup>, Hervé Jacquier<sup>2</sup>, Eve-Marie Walle<sup>1</sup>, Marion Hellary<sup>1</sup>, Guillaume Mellon<sup>3</sup>, Nathalie Osinski<sup>3</sup>, Widad Zebiche<sup>3</sup>, Yacine Achili<sup>4</sup>, Rishma Amarsy<sup>5</sup>, Véronique Mahé<sup>6</sup>, Jérôme Le Goff<sup>1</sup>, Constance Delaugerre<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Virologie, Hôpital Saint Louis, APHP, Paris, France

<sup>2</sup> Bactériologie-Hygiène, Hôpitaux Saint Louis, Lariboisière, Fernand-Widal, APHP, Paris, France

<sup>3</sup> Equipe opérationnelle d'hygiène, Hôpital Saint Louis, APHP, Paris, France

<sup>4</sup> Service Central de Santé au Travail, Hôpital Saint Louis, APHP, Paris, France

<sup>5</sup> Equipe Opérationnelle d'Hygiène, Hôpitaux Lariboisière, Fernand-Widal, APHP, Paris, France

<sup>6</sup> Service Central de Santé au Travail, Hôpitaux Lariboisière, Fernand-Widal, APHP, Paris, France

**Introduction et objectifs :**

Le génome du variant préoccupant (VOC) Omicron contient plus de 50 mutations, dont beaucoup ont été associées à une transmissibilité accrue, à une différence de sévérité de la maladie et à un potentiel d'échappement aux réponses immunitaires acquises après vaccination contre le SARS-CoV-2 ou infection par les précédents VOC. En raison d'un meilleur tropisme pour les voies respiratoires supérieures, il a été suggéré que la détection du VOC Omicron pourrait être meilleure dans la salive que dans les écouvillons nasopharyngés (ENP). Notre objectif était de comparer dans le liquide salivaire et les ENP les concentrations d'ARN de SARS-CoV-2, estimées par les valeurs de Ct obtenues en RT-PCR, en fonction des principaux VOC de SARS-CoV-2 circulants en France depuis le début de l'année 2021.

**Matériels et méthodes :**

Nous avons analysé les Ct de 1289 résultats positifs de RT-PCR au cours des trois principales vagues, Alpha, Delta et Omicron. Des prélèvements de ENP et de salive ont été réalisés pour 909 (71%) et 380 (29%) cas, respectivement.

**Résultats, discussion et conclusion :**

Les valeurs de Ct étaient significativement plus basses dans les ENP que dans les salives pour les trois principaux VOC. Cependant, la différence était moins prononcée avec le VOC Omicron que pour les VOC Alpha et Delta. Dans les échantillons de salive, les valeurs de Ct étaient significativement plus faibles pour le VOC Omicron que pour les VOC Delta (différence de -2,7 Ct) et Alpha (différence de -3,0 Ct), confirmant une charge virale du VOC Omicron plus élevée dans la salive.

Pour conclure, une charge virale plus élevée dans la salive a été mise en évidence pour le VOC Omicron par rapport aux VOC Alpha et Delta, ce qui suggère que les méthodes de diagnostic établies pour le SARS-CoV-2 pourraient nécessiter une revalidation lors de l'émergence de nouveaux variants.

**Mots clés :** SARS-CoV-2 - VOC - Omicron - PCR - Salive.



Société Française  
de Microbiologie

# MICROBES 2022

17<sup>e</sup> Congrès National de la SFM



Au CORUM de MONTPELLIER

3 > 5  
Octobre

## LISTE DES POSTERS

A-P **Autres**

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
CARAMELLE	Lucie	New Retro-2.1 derivatives: broad-spectrum inhibitors with improved activities against Shigatoxins (Enterohemorrhagic E. coli), plant toxins and poxviruses	A-P01
LEONELLI	Dimitri	Mycobacterial monoxygenases: key actors for future antituberculosis strategies	A-P02
MARSAUD	Nathalie	La plateforme GeT : des applications en génomique et transcriptomique pour l'étude des micro-organismes	A-P03

AA-P **Agents antimicrobiens et résistance**

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
BAËTZ	Benjamin	Etude des effets anti-résistance et anti-virulence de molécules antimicrobiennes sur des bactéries pathogènes à Gram positif	AA-P01
BANERES-ROQUET	Françoise	In vitro and in vivo efficacy of NITD-916 against Mycobacterium fortuitum	AA-P02
BLAISE	Mickael	Structural and Biochemical studies of Eis-like N-acetyltransferases from Nocardia and their role in aminoglycosides modification	AA-P03
BLAZÈRE	Leslie	PHAGEinLYON - PHAG-ONE : Développement d'un procédé de production pharmaceutique de phages thérapeutiques anti-Staphylococcus aureus	AA-P04
BRAUGE	Thomas	Antimicrobial resistance and geographical distribution of Staphylococcus isolated from fish and sea water in the English Channel and North Sea	AA-P05
		Antimicrobial activity of silver-containing surfaces on Listeria monocytogenes biofilm	AA-P06
CABANEL	Nicolas	Saturating the colistin resistance landscape of Klebsiella pneumoniae	AA-P07
CATTOIR	Vincent	Etude des mécanismes de résistance croisée à la colistine et au NOSO-502 chez les clusters XI et XII du complexe Enterobacter cloacae	AA-P08
CLAVIJO-COPPENS	Fernando	Combining a Phage/Arbuscular Mycorrhizal Fungi-based protective formulation against the plant pathogen Xanthomonas hortorum pv. vitians	AA-P09
COLIN	Marius	Staphylococcus aureus under Gentamicin Stress: the dichotomy between Small Colony Variants Emergence and Biofilm Formation?	AA-P10
CONTARIN	Rachel	Les éléments génétiques mobiles chez les Staphylococcus aureus d'origine animale, la clé pour ouvrir les portes de la multi-résistance	AA-P11
DESMADRIL	Solenn	Exploration du potentiel d'une bactériocine de bactérie commensale : ingénierie d'un système cryptique	AA-P12
DIEYE	Cheikh Ahmeth T.	Impacts of abiotic conditions on the biocontrol of beneficial microorganisms against Fusarium graminearum	AA-P13
DUBOIS	Eline	Impact de l'usage des huiles essentielles sur les souches de Pseudomonas aeruginosa isolées dans les poumons des patients atteints de mucoviscidose	AA-P14
FAIVRE	Vincent	A carbapenem-resistant Citrobacter farmeri outbreak in an intensive care hematology department due to a persistent environmental reservoir in a university hospital, France, 2019-2022	AA-P15
GAILLOT	Susie	Contribution de la céphalosporinase ADC à la résistance au céfidérocol ou aux carbapénèmes chez Acinetobacter baumannii	AA-P16
GIVAUDAN	Alain	La pompe à efflux AcrAB confère une multirésistance intrinsèque aux antimicrobiens et une auto-protection contre les stilbènes chez Photobacterium laumondii	AA-P17
HAMMAMI	Adnene	Complete genome sequence of ciprofloxacin-resistant Salmonella Kentucky ST198 strains from chicken carcass in Tunisia	AA-P18
IMAZAKI	Pedro Henrique	Administration d'oxytétracycline et sélection de résistance dans les différents segments digestifs : détermination des concentrations minimales sélectives et impact sur le microbiote et le résistome chez le porc	AA-P19



<b>LEPINE</b>	Nadège	Sensibilité des bacilles gram négatifs multi-résistants au céfidérol	<b>AA-P20</b>
<b>MIDELET</b>	Graziella	Occurrence of indicator genes of antimicrobial resistance contamination in the North Sea and English Channel seawaters	<b>AA-P21</b>
<b>MOYEN</b>	Rachel	evidence of the transmission of resistance of enterobacteria to betalactamines between mothers and children in Brazzaville	<b>AA-P22</b>
<b>NCIR</b>	Sana	Retour au progéniteur : bla <sub>OXA-204</sub> et bla <sub>NDM-1</sub> chez des <i>Shewanella</i> spp. en Tunisie	<b>AA-P23</b>
<b>ONTSIRA NGOYI</b>	Esther Nina	First description of Extended-Spectrum-lactamases and OXA-48 carbapenemase in Enterobacteriaceae isolates in Brazzaville, Congo	<b>AA-P24</b>
<b>PICHON</b>	Maxime	Impact de l'antisepsie cutanée sur la prévalence des gènes de résistance croisée antibiotique - antiseptique chez les Staphylococcaceae	<b>AA-P25</b>
		Impact d'une pré-exposition aux antiseptiques sur la résistance aux antibiotiques des bactéries responsables d'infections de voies veineuses périphériques	<b>AA-P26</b>
<b>PIEL</b>	Damien	Phage therapy: The enemy of my enemy is my friend	<b>AA-P27</b>
<b>RIOU</b>	Mickaël	Développement d'un modèle murin de plaies chroniques et soins péri-opératoires associés	<b>AA-P28</b>
<b>ROCHARD</b>	Camille	Evaluation in vitro d'un peptide antimicrobien à activité anti-aspergillaire	<b>AA-P29</b>
<b>SAULTIER</b>	Marion	Sulbactam-Durlobactam MIC determination: comparative evaluation of the new ETEST® SUD* to the CLSI 2021 broth microdilution	<b>AA-P30</b>
<b>SINOUE</b>	Véronique	Identification d'une nouvelle cible pharmacologique pour le traitement de la vibriose	<b>AA-P31</b>
<b>SOUGUIR</b>	Meriem	Prévalence élevée d' <i>Escherchia coli</i> multi-résistants chez les étourneaux en Tunisie	<b>AA-P32</b>

## B-P Bactériologie

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
<b>ALCARAZ</b>	Matthéo	Efficacité et mode d'action d'un inhibiteur direct de la protéine InhA de <i>Mycobacterium abscessus</i>	<b>B-P01</b>
<b>BRAUGE</b>	Thomas	Detection of the viable but non-culturable state (VBNC) of <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Listeria innocua</i> after biocide stress by Raman microspectroscopy	<b>B-P02</b>
<b>BRIVET</b>	Emilie	Diversité de production de sidérophores au sein du genre <i>Achromobacter</i>	<b>B-P03</b>
<b>CATTOIR</b>	Vincent	Implication de l'ARN régulateur Ern0160 dans la régulation de la virulence de <i>Enterococcus faecium</i>	<b>B-P04</b>
<b>DA SILVA BARREIRA</b>	David	Characterization of the prophage-triggered production of membrane vesicles by the Gram-positive bacterium <i>Lactocaseibacillus casei</i> BL23	<b>B-P05</b>
<b>DEPAPE</b>	Julia	Rôle du laboratoire de microbiologie dans la prise en charge des bactériémies : étude de 48 cas à la clinique Pasteur de Toulouse	<b>B-P06</b>
<b>KOZAK</b>	Sofia	Optimisation et application d'une méthode d'évaluation de la résistance in vitro aux antibiotiques adapté au genre <i>Taylorella</i>	<b>B-P07</b>
<b>LAHRICHI</b>	Houda	Les pyélonéphrites aiguës chez le diabétique	<b>B-P08</b>
<b>LEHOURS</b>	Philippe	Surveillance épidémiologique des infections à <i>Campylobacters</i> , <i>Aliarcobacters</i> et bactéries apparentées : bilan 2017-2021 du CNR des <i>Campylobacters</i> et des <i>Hélicobacters</i>	<b>B-P09</b>
<b>LÉPINE</b>	Nadège	Dissémination d'un clone de <i>Staphylococcus epidermidis</i> résistant au linézolide	<b>B-P10</b>
<b>MEYER</b>	Sylvain	A new member of the Pasteurellaceae family	<b>B-P11</b>
<b>MIQUEL</b>	Sylvie	Role of <i>Klebsiella pneumoniae</i> Type VI secretion system (T6SS) in long-term gastrointestinal colonization	<b>B-P12</b>
<b>MONGELLAZ</b>	Doriane	Establishment of high-content screens for key <i>Acinetobacter baumannii</i> virulence phenotypes	<b>B-P13</b>

<b>MONGIN</b>	Grégoire	Uncovering the mechanisms that increased in vivo persistence of tuberculosis bacilli through experimental evolution	<b>B-P14</b>
<b>NGUIMBI</b>	Etienne	Caractérisation des bactéries isolées des sols de la zone des tourbières de la Likouala (République du Congo)	<b>B-P15</b>
<b>OUGGANE</b>	Inas	Profil de résistance des uropathogènes aux antibiotiques au service des maladies infectieuses du CHU Ibn Rochd de Casablanca	<b>B-P16</b>
		Diabète et infections : à propos de 158 cas	<b>B-P17</b>
<b>PARIS</b>	Théo	The IbeA protein from Adherent-Invasive Escherichia coli is a flavoprotein displaying structural homology with FAD-dependent oxidoreductases	<b>B-P18</b>
<b>PEREYRE</b>	Sabine	Efficient random transposon insertion in the Mycoplasma hominis genome	<b>B-P19</b>
<b>POUGET</b>	Cassandra	Comparison of bacterial phenotype after biofilm lifecycle and evaluation of polymicrobial biofilm organization and antibiotics effect in a chronic wound environment	<b>B-P20</b>
<b>ROUX</b>	Anne-Emmanuelle	Involvement of the pleiotropic regulator CcpA in the physiology and stress response of the pathogen Streptococcus agalactiae	<b>B-P21</b>

### BM-P **Biotechnologies microbiennes**

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
<b>BORGES</b>	Frédéric	Propagating microbial communities: better have more than one trick up one's sleeve	<b>BM-P01</b>
<b>DE LOS SANTOS MERAN</b>	Silvia	Enrichissement de populations microbiennes électroactives sur des électrodes en carbone pour la valorisation bioélectrochimique des effluents de fermentation sombre en bio-H <sub>2</sub>	<b>BM-P02</b>
<b>MECHOUCHE</b>	Meroua Safa	Optimisation of actinomycetal biosynthesis of silver nanoparticles and evaluation of their antibacterial activity and synergetic effect with commercial antibiotics	<b>BM-P03</b>
<b>RACHED</b>	Bahia	Identification et caractérisation de souches de Bacillus sp. isolées au Maroc	<b>BM-P04</b>
<b>VARBANOV</b>	Mihayl	Développement d'assemblages supramoléculaires photoactifs à structure bis-imidazolium macro-N-bis-hétérocyclique : nouveaux outils de photothérapie pour le contrôle des maladies infectieuses	<b>BM-P05</b>
<b>VIROLLE</b>	Marie-Joelle	Quel rôle jouent les antibiotiques dans la physiologie de la bactérie productrice ?	<b>BM-P06</b>

### DM-P **Diagnostic microbiologique**

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
<b>BERNIER</b>	Matthieu	Place de la PCR grippe en pratique de ville au cours de la cinquième phase de l'épidémie de COVID-19 en Occitanie	<b>DM-P01</b>
		Suivi épidémiologique des variants COVID-19 par criblage et par séquençage NGS au cours de la cinquième phase de l'épidémie en Occitanie	<b>DM-P02</b>
<b>BRAUGE</b>	Thomas	Impact of disinfectants neutralizing buffers used for sampling methods on the viability of Listeria monocytogenes cells in monospecies biofilm	<b>DM-P03</b>
<b>DI MATTIA</b>	Jérémy	Appréhender la dPCR, Pour améliorer la gestion du risque de la pourriture racinaire du petit pois	<b>DM-P04</b>
<b>GUEUDET</b>	Thomas	Sysmex UF-4000 TM, une réelle avancée technologique ?	<b>DM-P05</b>
<b>LE FLÈCHE - MATÉOS</b>	Anne	Ocular Spiroplasma ixodetis in Newborns, France	<b>DM-P06</b>
<b>MAUBARET</b>	Clara	Comparaison de deux flacons d'hémocultures pour la détection des bactéries anaérobies dans le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires	<b>DM-P07</b>

<b>PAQUIN</b>	Paul	Spatio-temporal based deep learning for rapid detection and identification of bacterial colonies through multi-spectral VIS-NIR lens-free microscopy time-lapses	<b>DM-P08</b>
<b>PEYROUX</b>	Julien	Dépistage rapide et automatisé des BMR aux antibiotiques sur milieux chromogènes à l'aide de l'automate Scanstation 100	<b>DM-P09</b>
<b>PICHON</b>	Maxime	Klebsiella pneumoniae hypervirulentes : prévalence, présentation clinique et résistance aux antibiotiques.	<b>DM-P10</b>
<b>PIGEYRE</b>	Laetitia	Détection précoce du virus de l'Influenza Aviaire Hautement Pathogène grâce à la dPCR	<b>DM-P11</b>
<b>PISSOT</b>	Stéphan	Rapid antibiotic susceptibility testing using FTIR spectroscopy and deuterium isotope probing	<b>DM-P12</b>
<b>SAADI</b>	Sarah	Diagnostic de la pyriculariose du gazon par PCR digitale	<b>DM-P13</b>

### IH-P Interactions hôte-bactérie/virus/champignon/parasite

<b>Nom</b>	<b>Prénom</b>	<b>Titre de la communication affichée</b>	<b>N° poster</b>
<b>BADIOU</b>	Cedric	Comment Candida albicans module-t-il la virulence de Staphylococcus aureus ?	<b>IH-P01</b>
<b>BLANC-POTARD</b>	Anne	Contribution of intramacrophage stage to Pseudomonas aeruginosa persistence in zebrafish embryo	<b>IH-P03</b>
<b>BRILLARD</b>	Julien	Role of the oxidative stress regulator OxyR in an entomopathogenic bacterium	<b>IH-P04</b>
<b>CANCADE-VEYRE</b>	Lison	Molecular characterization of NyxA and NyxB Brucella effectors	<b>IH-P05</b>
<b>CARLONI</b>	Mara	The story of a hand-me-down locus: fliC contribution to Yersinia pestis virulence	<b>IH-P06</b>
<b>CHAGNEAU</b>	Camille	HylF : un nouveau facteur de virulence dans les infections urinaires ?	<b>IH-P07</b>
<b>DAHER</b>	wassim	A Mycobacterium abscessus ahpC gene encoding a CD81 tetraspanin binding protein is used for efficient invasion of macrophages and lung epithelial cells	<b>IH-P08</b>
<b>DEBRUYNE</b>	Charline	Characterization of a new intracellular niche for Acinetobacter baumannii clinical strains	<b>IH-P09</b>
<b>DUSSURGET</b>	Olivier	NAD kinase promotes Staphylococcus aureus pathogenesis by supporting expression of major protective enzymes and virulence factors	<b>IH-P10</b>
<b>GERGES</b>	Elias	Caractérisation du rôle de la protéine Lsr2 dans la virulence des morphotypes lisses et rugueux de Mycobacterium abscessus	<b>IH-P11</b>
<b>JARRAUD</b>	Sophie	Altérations fonctionnelles protéiques et transcriptionnelles des cellules immunitaires chez les patients atteints de Légionellose	<b>IH-P12</b>
		Sensibilité des souches cliniques de Legionella pneumophila sérotype 1 à l'activité bactéricide du sérum complément et anticorps dépendante	<b>IH-P13</b>
<b>JEANNE</b>	Etienne	A multi-omics strategy to investigate carbon sources availability and exploitation by the biotroph Agrobacterium tumefaciens in tomato tumors	<b>IH-P14</b>
<b>KOURIBA</b>	BOUREMA	Microorganisms in patients with acute respiratory tract infections in Bamako, Mali	<b>IH-P15</b>
<b>MANSOUR</b>	Nour	From colonization to infection: How SSB-P modulate the virulence of Staphylococcus aureus in diabetic foot ulcers?	<b>IH-P16</b>
<b>PONT</b>	Stéphane	Zebrafish embryo to model a persistent infection with clinical Pseudomonas aeruginosa isolates and assess the efficiency of therapeutics	<b>IH-P17</b>
<b>PRADEL</b>	Baptiste	The autophagic machinery favours HIV-1 entry in CD4+T lymphocytes	<b>IH-P18</b>
<b>RENIER</b>	Adèle	Structural and functional exploration on PdtA, a 430kDa protein of Pseudomonas aeruginosa	<b>IH-P19</b>

<b>SBAGHDI</b>	Thania	Effets d'une infection parasitaire, d'une exposition chronique à un insecticide et d'une supplémentation avec un probiotique sur l'abeille domestique et son microbiote intestinal	<b>IH-P20</b>
<b>STAALI</b>	Leila	Modulation of Ca <sup>2+</sup> channels activity through a differential mechanism by bi-component HlgC/HlgB and HlgA/HlgB g-hemolysins during staphylococcal infections	<b>IH-P21</b>
<b>VAREILLE-DELARBRE</b>	Marjolaine	Lactobacillus rhamnosus Lcr35 <sup>®</sup> stimule les défenses vaginales épithéliales lors des infections par Gardnerella vaginalis	<b>IH-P22</b>

### IT-P Innovations technologiques en microbiologie

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
<b>CHABAS</b>	Madisson	Méthode multiplexe innovante pour le protéotypage rapide d'isolats microbiens	<b>IT-P01</b>
<b>COCQUERELLE</b>	Vanessa	Automatisation et paramétrage : le bon mariage	<b>IT-P02</b>
<b>DARGHAM</b>	Tonia	Selection of new therapeutic targets in relation with Intrabacterial Lipid Inclusions metabolism in Mycobacterium abscessus	<b>IT-P03</b>
<b>DUBAN</b>	Livine	Microcapillary Flow Cytometry for Bacterial Enumeration, Viability, and Gram Typing	<b>IT-P04</b>
<b>GENTY</b>	Vincent	Utilisation de l'intelligence artificielle et de la cytométrie par imagerie en flux pour créer un modèle d'identification de levures	<b>IT-P05</b>
<b>GOMEZ-MARTINEZ</b>	Julien	Visual detection of SARS-CoV-2 key mutations	<b>IT-P06</b>
<b>GUEUDET</b>	Thomas	Les valeurs prédictives positives et négatives du Sysmex UF 4000TM	<b>IT-P07</b>
<b>JUBELIN</b>	Grégory	Développement d'un système rapporteur pour suivre l'expression génique à l'échelle de la cellule bactérienne au sein d'un écosystème complexe	<b>IT-P08</b>
<b>LEPINE</b>	Nadège	Evaluation de l'IR Biotyper <sup>®</sup> pour le typage bactérien	<b>IT-P09</b>
<b>MAGNAN</b>	Mélanie	Identification de gènes cibles impliqués dans l'évolution, plus particulièrement du gène mreB	<b>IT-P10</b>
<b>MANINA</b>	Giulia	Targeting phenotypic variation by microfluidic single-cell screening to undermine mycobacteria	<b>IT-P11</b>
<b>MARCOUX</b>	Pierre	Label-free and non-destructive Gram-typing on single-cells with photonic crystal	<b>IT-P12</b>
<b>MAYRAN</b>	Charly	Développement d'un test moléculaire simple, rapide et sans automate pour améliorer la prévention de la transmission verticale du Virus de l'Hépatite B	<b>IT-P13</b>
<b>POTHERET</b>	Damien	Development of an automatic method for Borrelia burgdorferi growth measurements	<b>IT-P14</b>

### M-P Microbiote

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
<b>BENHADID BRAHMI</b>	Yasmine	Impact d'une déseccalade antibiotique, piperacilline-tazobactam vers ceftriaxone sur le microbiote intestinal	<b>M-P01</b>
<b>BISCARRAT</b>	Paul	Exploration des interactions entre des prébiotiques et un panel de bactéries d'intérêt pour la santé du microbiote intestinal	<b>M-P02</b>
<b>CAMUS</b>	Laura	Genetic and phenotypic identification of the metabolic features of nasal commensals in Staphylococcus aureus-positive and -negative bacterial communities	<b>M-P03</b>
<b>CHAMARANDE</b>	Jordan	In silico study of cell surface structures of Parabacteroides distasonis involved in its maintain within the gut microbiota and its potential pathogenicity	<b>M-P04</b>
<b>CONSTANT</b>	Maëli	Influence de la composition du microbiote vaginal sur l'évolution des ruptures prématurées des membranes	<b>M-P05</b>

<b>DOP</b>	Camille	Chronic exposure to antiseizure drugs impacts the gut microbiota community and function	<b>M-P06</b>
<b>MANTEL</b>	Marine	Protective effects of dairy Propionibacteria on the intestinal epithelial barrier	<b>M-P07</b>
<b>MOREIRA DE GOUVEIA</b>	Maria Inês	Diversity of ethanolamine utilization by commensal Escherichia coli	<b>M-P08</b>
<b>NGOM</b>	Serigne Inssa	Impact of dietary fibres combined with a fibre-degrading probiotic candidate on ex-vivo dysbiotic gut model	<b>M-P09</b>
<b>PATIN</b>	constance	Early intestinal transit in preterm infants is associated with microbiome functional signatures at 1 month of age	<b>M-P10</b>
<b>VASSE</b>	Marie	Sialic acid metabolism and interactions in the vaginal microbiota	<b>M-P11</b>

**MA-P** **Microbiologie des aliments**

<b>Nom</b>	<b>Prénom</b>	<b>Titre de la communication affichée</b>	<b>N° poster</b>
<b>ARAGNO</b>	Julie	Diversité phénotypique et capacité bioprotectrice de <i>Metschnikowia</i> sp. en œnologie	<b>MA-P01</b>
<b>BALESWARAN</b>	Abirami	Cheese spoilage expression caused by <i>Pseudomonas</i> spp. using a soft lactic cheese model	<b>MA-P02</b>
<b>BRAUGE</b>	Thomas	Impact of environmental factors on the viability state of <i>Listeria monocytogenes</i> detected by Raman microspectroscopy, molecular biology and microbiology techniques	<b>MA-P03</b>
<b>DESTANQUE</b>	Adrien	Dynamic changes in Champagne mycobiota from vine to wine and the potential link to volatile compound production in wine	<b>MA-P04</b>
<b>GAILLAC</b>	Antoine	La formation de biofilm par <i>Brochothrix thermosphacta</i> , une bactérie majeure de l'altération des aliments	<b>MA-P05</b>
		Formation de biofilm par la bactérie d'altération des aliments <i>Brochothrix thermosphacta</i> sur différents matériaux, en culture continue dans un bioréacteur	<b>MA-P06</b>
<b>GENDRE</b>	Julia	Mise au point d'une méthode d'extraction de particules virales à partir de légumes fermentés à des fins d'analyse de métaviromes.	<b>MA-P07</b>
<b>HEZARD</b>	Bernard	Dynamiques microbiennes et métaboliques au cours de la lactofermentation de légumes	<b>MA-P08</b>
<b>JAN</b>	Gwénaél	The dairy bacterium <i>Propionibacterium freudenreichii</i> against colitis and mucositis: a key role of the surface layer protein SlpB	<b>MA-P09</b>
<b>LEGRAS</b>	Jean-Luc	Diversité de la levure <i>Debaryomyces hansenii</i> révélée à l'aide de marqueurs microsatellite	<b>MA-P10</b>
<b>LUTIN</b>	Jade	Variabilité du microbiote de levains ambiants utilisés en fabrication Comté selon la fromagerie et la saison	<b>MA-P11</b>
<b>MIDELET</b>	Graziella	Contamination et Hygiène des Lignes, Evaluations environnementales et Amélioration de la Nettoyabilité (RMT ACTIA CHLEAN)	<b>MA-P12</b>
<b>NIDELET</b>	Thibault	Drivers of microbial communities dynamic in sourdough	<b>MA-P13</b>
<b>OKOBO NÉE MOYEN</b>	Rachel	Screening of exopolysaccharide production and evaluation of biofilm formation capacity in <i>Aspergillus</i> strains isolated from stored peanut seeds	<b>MA-P14</b>
<b>PASSERINI</b>	Delphine	Réseaux d'interactions bactériennes au sein du microbiome des produits de la mer en vue d'un procédé de biopréservation raisonnée	<b>MA-P15</b>
<b>RUL</b>	Françoise Suzanne	Carbon metabolism in <i>Streptococcus thermophilus</i> : regulation and diversity within the species	<b>MA-P16</b>
<b>TEYSSIER</b>	Corinne	Biodiversité microbienne et potentiel antimicrobien du kéfir de fruits, une boisson fermentée artisanale	<b>MA-P17</b>
<b>WEIDMANN DESROCHE</b>	Stéphanie	Les biofilms mixtes : une nouvelle stratégie pour la conduite des fermentations du vin	<b>MA-P18</b>

**MC-P** Microbiologie clinique

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
AMARA	Marlène	L'observatoire du COL.BVH : 22 ans de surveillance de la résistance des bactéries isolées d'hémoculture	MC-P01
BERAUD	Laetitia	Epidemiology of French Legionella longbeachae isolates over 20 years	MC-P02
		Amplicon-based next-generation sequencing revealed co-infections by several Legionella species	MC-P03
BERNUT	Audrey	Evaluation et retour d'expérience sur l'utilisation d'une PCR multiplex appliquée aux hémocultures	MC-P04
CHEVALIER	Christine	Identification d'une marque épigénétique persistante suivant une infection par Streptococcus pneumoniae	MC-P06
CORRE	Morgane	Isoform-dependent regulation of a human stress-response factor upon Listeria monocytogenes infection	MC-P07
CREPIN	Deborah	Evolutionary and Functional Analysis of Fibronectin Binding-like proteins and related adhesion and internalization among the Staphylococci	MC-P08
DESCOURS	Ghislaine	Sequential culture of respiratory samples highlighted a triple infection by Legionella pneumophila	MC-P09
DESCOURS	Ghislaine	Culture-free genome comparison using shotgun deep sequencing	MC-P10
DURAND	Benjamin	Caractérisation phénotypique de l'interaction Staphylococcus aureus/ Helcococcus kunzii dans un modèle de plaie chronique	MC-P11
FILLALI	Wasfi	A propos de 11 cas de bactériémies à Rhizobium radiobacter	MC-P12
HAMMAMI	Adnene	Comparative whole-genome sequences of Salmonella Enteritidis strains isolated from human and animal sources in Tunisia during 2013 – 2014	MC-P13
LEGROS	Romain	Fièvre de la vallée du Rift : diagnostic d'une arbovirose peu classique en France métropolitaine, à ne pas méconnaître !	MC-P14
ONTSIRA NGOYI	Esther Nina	Entérobactéries et bacilles à gram négatif non fermentaires et Résistances aux carbapénèmes dans les péritonites aiguës généralisées communautaires au CHU de Brazzaville	MC-P15
		Mycobacterium tuberculosis et méningite lymphocytaire au CHU de Brazzaville	MC-P16
SALIMI	Wafaà	La Rage Humaine: à propos de 51 cas	MC-P17
TOURÉ	Hamadoun	Mycobacterium abscessus resists the innate cytotoxic response by surviving granzyme-mediated cell lysis of infected phagocytes	MC-P18
VARIN SIMON	Jennifer	Cutibacterium acnes biofilm matrix in bone and prosthesis infection model	MC-P19
ZIVERI	Jason	Angiopietin-like 4 is a key vascular stabilization factor conferring protection to bacterial sepsis	MC-P20

**ME-P** Microbiologie environnementale

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
ATOUI	Ali	A national survey for the evaluation of the French laboratories capacity to detect SARS-CoV-2 in wastewater	ME-P01
BIBBAL	Delphine	Development of an in vitro biofilm model for the study of the impact of fluoroquinolones on sewer biofilm microbiota	ME-P02
EVEILLARD	Matthieu	Recherche d'une association entre la détection d'entérobactéries productrices de carbapénémase dans des siphons de points d'eau d'un service de réanimation et la composition du microbiote de ces siphons	ME-P03

<b>LE MENNEC</b>	Cécile	Les phoques : une source potentielle de contamination fécale bactérienne et virale du littoral ?	<b>ME-P04</b>
<b>MANGIN</b>	Camille	La formation intracellulaire de phases carbonatées est une fonction répandue chez les bactéries magnétotactiques	<b>ME-P05</b>
<b>ORY</b>	Jérôme	Épidémie de bactériémies à <i>Mycolicibacterium mucogenicum</i> : Recherche d'un potentiel réservoir dans le réseau d'eau d'un Centre Hospitalo-Universitaire	<b>ME-P06</b>
<b>PARNAUDEAU</b>	Sylvain	Peut-on détecter des norovirus dans l'eau de mer ?	<b>ME-P07</b>
<b>ROMAN</b>	Veronica	Surveillance de la COVID-19 dans les eaux usées : estimation de la variabilité de mesure dans la quantification du génome de SARS-CoV-2	<b>ME-P08</b>
<b>TEYSSIER</b>	Corinne	Recherche de cyanobactéries toxiques dans le Lez	<b>ME-P09</b>
<b>TORTUEL</b>	Damien	Gen-directed re-sensitization of carbapenem-resistant microorganisms in biofilms	<b>ME-P10</b>
<b>VINCENT-HUBERT</b>	Françoise	Détection de norovirus par échantillonnage passif à l'échelle d'un bassin versant en amont de sites ostréicoles	<b>ME-P11</b>
		Évaluation de la performance de l'ultrafiltration pour éliminer les norovirus de l'eau de mer	<b>ME-P12</b>

### MF-P **Microbiologie fondamentale**

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
<b>ALBERT</b>	Quentin	Etude préliminaire au développement de méthodes de coculture pour valoriser la diversité fongique et révéler le potentiel métabolique des champignons	<b>MF-P01</b>
<b>BARROUILHET</b>	Sophie	Identification d'un premier mécanisme de résistance au mercure chez les bactéries anaérobies : mise en évidence d'une autre voie que l'opéron mer	<b>MF-P02</b>
<b>BOLLA</b>	Jean-Michel	From antibiotic sensitizers to true efflux pump inhibitors: a long road that must pass through reconstituted efflux pumps	<b>MF-P03</b>
<b>BOUDEHEN</b>	Yves-Marie	Development of a Tet repressor-based knock-down system in <i>Mycobacterium abscessus</i>	<b>MF-P04</b>
<b>BOUTONNET</b>	Cécile	Implication de la couche S dans les propriétés de surface de <i>Bacillus cereus</i> AH187	<b>MF-P05</b>
<b>BROSSE</b>	Anaïs	Nouvelle méthode de production des toxines TcdA et TcdB de <i>Clostridioides difficile</i>	<b>MF-P06</b>
<b>BRUAL</b>	Typhaine	Regulation of the virulence of pectinolytic bacteria by RsmC protein	<b>MF-P07</b>
<b>CANDELA</b>	Thomas	The anchoring of the polysaccharide II is essential for <i>Clostridioides difficile</i> survival	<b>MF-P08</b>
<b>COMBRET</b>	Victor	Caractérisation de l'opéron glycosylasparaginase chez <i>E. faecalis</i> et de son rôle potentiel dans la virulence	<b>MF-P09</b>
<b>DIKEC</b>	Jonathan	Effet des photoproduits du DPA sur les spores de <i>Bacillus subtilis</i>	<b>MF-P10</b>
<b>DRAMÉ</b>	Ibrahima	Understanding the molecular mechanisms involved in <i>Klebsiella pneumoniae</i> biofilm structure under dynamic conditions	<b>MF-P11</b>
<b>FAUCONNIER</b>	Aurélien	Une petite ORF présente dans la séquence d'insertion IS91 influence négativement sa transposition	<b>MF-P12</b>
<b>HENNART</b>	Mélanie	Utilisation de deux systèmes complémentaires de nomenclature bactérienne : Les codes MLSL (MultiLevel Single Linkage) et LIN (Life Identification Numbers)	<b>MF-P13</b>
<b>ILLOUZ</b>	Morgane	Impact de l'acétylation des glycopeptidolipides dans la virulence de <i>Mycobacterium abscessus</i>	<b>MF-P14</b>
<b>MAILLOT BOUFFARTIGUES</b>	Emeline	De l'étude de CmpX à l'étude d'autres canaux ioniques mécanosensibles régulés par le facteur Sigma à fonction extracytoplasmique SigX	<b>MF-P15</b>
<b>ORY</b>	Jérôme	Antibiofilm properties of antiseptic agents on Diabetic Foot Ulcer isolated <i>Pseudomonas aeruginosa</i> biofilm	<b>MF-P16</b>

<b>SARRAZIN</b>	Morgane	Les analogues de Cyclophostines et Cyclipostins : des molécules aux multiples facettes pour lutter contre les infections à <i>Mycobacterium abscessus</i>	<b>MF-P17</b>
<b>SOUSSAN</b>	Diane	Relation entre le métabolisme et la virulence chez les entérocoques : l'antitermineur BglG d' <i>Enterococcus faecalis</i> contrôle l'expression d'un facteur de virulence	<b>MF-P18</b>
<b>TEIXEIRA</b>	Chloé	Impact des modifications post-transcriptionnelles des ARN sur la virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>	<b>MF-P19</b>
<b>VAN MAELE</b>	Cléopée	Identification des gènes essentiels in vitro de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> OprD mutant résistant aux carbapénèmes	<b>MF-P20</b>
<b>VIGUÉ</b>	Lucile	Décoder le polymorphisme présent dans 61,157 génomes d' <i>Escherichia coli</i>	<b>MF-P21</b>
<b>VIRIEUX-PETIT</b>	Maxine	Adaptation génomique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ST299 au réseau d'eau en cuivre de réanimation médicale d'un CHU	<b>MF-P22</b>
<b>WEIDMANN</b>	Stéphanie	Lien entre la structure tertiaire de la protéine de stress Lo18 et son rôle de lipochaperon moléculaire	<b>MF-P23</b>

### MH-P Microbiologie One Health

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
<b>MESSAUDI</b>	Tomas	Modeling the aflatoxin production in peanuts agar medium stored under different water activity and temperature conditions	<b>MH-P01</b>
<b>MILTGEN</b>	Guillaume	Étude intercompartmentale des isolats de <i>E. coli</i> producteurs de carbapénémase à La Réunion dans une approche One Health	<b>MH-P02</b>
<b>PICHON</b>	Elodie	« Une seule santé » via l'analyse des eaux	<b>MH-P03</b>

### MP-P Mycologie-Parasitologie

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
<b>BELLET</b>	Virginie	Epidémiologie moléculaire et sensibilité aux antifongiques de souches d' <i>Aspergillus fumigatus</i> issues de suivi chez un patient atteint de mucoviscidose.	<b>MP-P01</b>
<b>BROCHON</b>	Léo	Modulation de l'inflammation et sécrétion de facteurs de virulence chez <i>Cryptococcus gattii</i>	<b>MP-P02</b>
<b>BUYCK</b>	Julien	Étude de la résistance au fluconazole chez <i>Candida tropicalis</i> par des approches de time-kill curves	<b>MP-P03</b>
<b>GIBOT-LECLERC</b>	Stéphanie	Recherche de mycoherbicides potentiels au sein de la communauté endophyte de <i>Phelipanche ramosa</i> parasitant le tabac	<b>MP-P04</b>
<b>LABIEDH</b>	TASNIME	Isolement respiratoire d' <i>Arthrographis kalrae</i> chez un patient de réanimation	<b>MP-P05</b>
		Diagnostic des leishmanioses : comparaison des méthodes conventionnelles et moléculaires	<b>MP-P06</b>
<b>LAPAQUETTE</b>	Pierre	Membrane protective role of autophagic machinery during infection of epithelial cells by <i>Candida albicans</i>	<b>MP-P07</b>
<b>PASQUIER</b>	Grégoire	Caractérisation des mutations fkschez 37 souches de <i>Candida</i> spp. résistantes aux échinocandines	<b>MP-P08</b>
<b>PEYROUX</b>	Julien	Serological detection of toxoplasmosis dormancy-specific antigens: discovery of a new cystic marker	<b>MP-P09</b>
<b>SASSO</b>	Milène	Détermination d'ECV pour 10 espèces de levures avec une lecture à 24h des CMI par technique Etest®	<b>MP-P10</b>



**O-P Omiques**

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
AUGAGNEUR	Yoann	Forecasting Staphylococcus aureus infections using genome-wide association studies, machine learning and transcriptomic approaches	O-P01
BASTIEN	Sylvère	Pipeline d'annotation approfondie de génomes bactériens et visualisation	O-P02
DURAND	Benjamin	Helcococcus kunzii can modulate Staphylococcus aureus metabolism and further its virulence trait	O-P03
FERNANDES	Vincent	Approche de toxicogénomique microbienne et biomarqueur de toxicité	O-P04
MARSAUD	Nathalie	HTomics: Metabolomic and transcriptomic double extraction optimised on E. coli	O-P05

**PP-P Prix poster Jeunes microbiologistes**

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
<b>Gagnants Prix poster</b>			
BRAUGE	Thomas	Evaluation of viability of cells of Listeria innocua with Raman microspectroscopy after incorporation of heavy water (D2O)	PP-P01
OSTYN	Emeline	Deciphering the RNA targetome of SprF1 antitoxin to elucidate its role in Staphylococcus aureus antibiotic persistence	PP-P02
BIGOT	Jeanne	Identification des récepteurs cellulaires et des ligands fongiques impliqués dans la synthèse d'IL-8 par les cellules épithéliales bronchiques infectées par Aspergillus fumigatus	PP-P03
<b>Prix poster sélectionnés</b>			
FRISTOT	Elsa	Programming lactic acid bacteria for cancer therapy: a part toolbox	PP-P04
LEPAS	Mathieu	Pathogenic Mucorales – Deciphering cell wall composition and their immunostimulatory potential	PP-P05
MEZA TORRES	Jazmin	Exploring biofilm formation by Clostridioides difficile and its role in gut persistence and relapse of infection	PP-P06

**V-P Virologie**

Nom	Prénom	Titre de la communication affichée	N° poster
BARBRY	Alexia	Diagnostic sérologique de l'hépatite E aigüe : comparaison des kits Wantai® et Novalisa®	V-P01
BATÉJAT	Christophe	Procédures d'inactivations chimique et thermique du virus de la variole du singe	V-P02
BESOMBES	Juliette	Chronologie de l'infection Covid-19 durant la grossesse : Existence d'un lien entre les analyses virologiques et anatomopathologiques du placenta ?	V-P03
BESOMBES	Juliette	Etude rétrospective de la circulation du monkeypox virus à une échelle locale dans les mois précédents l'épidémie 2022	V-P04
BOUREDJOUL	Nesrine	Fatal tick-borne encephalitis in a child from Algeria: a case report	V-P05
CHAIX	Estelle	Project SACADA : SARS-CoV-2 transmission in meat processing plants	V-P06
ELIE	Baptiste	Caractérisation des charges virales cellulaires dans les infections cervicales aiguës à HPV16	V-P07
HABOUB	Marwan	Comparaison des trousse de détection des anticorps HSV-1 et HSV-2 Abbott® et DiaSorin®	V-P08

---

<b>HOUMEY</b>	Myriam Abla	Rôle de la protéine antisens (ASP) du VIH-1 dans l'entrée du virus	<b>V-P09</b>
<b>LAHRICHI</b>	Houda	La Covid- 19 chez les patients vivant avec le VIH : Expérience du CHU de Casablanca	<b>V-P10</b>
<b>MARQUES</b>	Ana Catarina	"Summer is the New Winter" – New Seasonality of Respiratory Syncytial Virus during the COVID-19 pandemic?	<b>V-P11</b>
<b>MOYEN</b>	Nanikaly	Séroprévalence du virus Zika en République du Congo	<b>V-P12</b>
<b>OUAFI</b>	Mahdi	Rapid syndromic testing for respiratory viral infections in children attending the emergency department during COVID-19 pandemic in Lille, France, 2021-2022	<b>V-P13</b>
<b>SALMONA</b>	Maud	Détection par RT-PCR du SARS-COV-2 dans la salive et l'écouvillon naso-pharyngé en fonction des variants viraux	<b>V-P14</b>

---



Société Française  
de Microbiologie

# MICROBES 2022

17<sup>e</sup> Congrès National de la SFM



Au CORUM de **MONTPELLIER**

**3 > 5**  
Octobre

## LISTE DES PARTICIPANTS

**ABDELMALEK Sylvia**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
sylvia.abdelmalek@etu.umontpellier.fr

**ABRIOL Julien**

Illumina  
PARIS – FRANCE  
jabriol@illumina.com

**ADELE Nathalie**

Commercial  
Amplitech  
COMPIÈGNE – FRANCE  
+33 3 59 31 74 01  
nadele@amplitech.net

**AGEORGES Agnès**

UMR B&PMP  
UMR SPO / INRAE  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 99 61 27 56  
agnes.ageorges@inrae.fr

**ALAIN Sophie**

Microbiology Department, and medical  
Genomic Unit  
CHU  
LIMOGES – FRANCE  
+33 5 55 05 67 28  
sophie.alain@unilim.fr

**ALAUZET Corentine**

Laboratoire de bactériologie - EA 7300  
Hôpital Brabois Adultes  
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE  
+33 3 83 15 39 38  
c.alauzet@chru-nancy.fr

**ALBERT Quentin**

UMR INRAe 1163 BBF  
Aix-Marseille Université  
MARSEILLE – FRANCE  
quentin.albert@univ-amu.fr

**ALCARAZ Mattheo**

UMR9004 IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33434359448  
mattheo.alcaraz@irim.cnrs.fr

**ALLIX Sébastien**

Direction Scientifique  
Lab'Science  
NAZELLES-NÉGRON – FRANCE  
s.allix@lab-science.eu

**ALMIRALL Cynthia**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
Cynthia.ALMIRALL@biomerieux.com

**ALPHA-BAZIN Béatrice**

CEA  
BAGNOLS-SUR-CÈZE – FRANCE  
+33 4 66 79 51 76  
beatrice.alpha-bazin@cea.fr

**AMARA Marlène**

Hopital Andre Mignot  
LE CHESNAY – FRANCE  
+33 1 39 63 91 07  
mamara@ch-versailles.fr

**ANDONIAN Clément**

CH Metropole Savoie  
AIX LES BAINS – FRANCE  
clement.andonian@ch-metropole-savoie.fr

**ANGIA SRIRAM Pradeep Ram**

Microorganismes  
Génome et environnement  
CNRS  
AUBIÈRE – FRANCE  
+33 4 73 40 74 63  
pradeep\_ram.angia\_sriram@uca.fr

**ANIAMBOSSOU Virgile**

dogbo  
Pharmacie dognbo  
COTONOU – BÉNIN  
+22 9 94 69 78 51  
virgilepremier@yahoo.es

**ARAGNO Julie**

INRAe  
MONTPELLIER – FRANCE  
julie.aragno@inrae.fr

**ARHEL Nathalie**

CNRS - UMR9004 - IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 434359453  
nathalie.arhel@irim.cnrs.fr

**ARIMONDO Paola**

EpiCBio  
Institut Pasteur - CNRS UMR3523 -  
Chem4Life  
PARIS – FRANCE  
paola.arimondo@cnrs.fr

**ARNAL Charlotte**

Direction des Expertise scientifique  
et technique  
Veolia Recherche et Innovation  
MAISONS-LAFFITTE – FRANCE  
charlotte.arnal@veolia.com

**ASSAOUI Oussama**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
oussama.assaoui@etu.umontpellier.fr

**ATOUI Ali**

LHN- Anses  
NANCY – FRANCE  
ali.atoui@anses.fr

**ATTREE Ina**

Bacterial pathogenicity and  
Cellular responses  
IBS - CNRS  
GRENOBLE – FRANCE  
ina.attree@ibs.fr

**AUBRY Fabien**

Sysmex France  
VILLEPINTE – FRANCE  
+33 1 48 17 01 90  
aubry.fabien@sysmex.fr

**AUGAGNEUR Yoann**

Inserm U1230 BRM  
Université Rennes 1  
RENNES – FRANCE  
+33 2 23 23 46 31  
yoann.augagneur@univ-rennes1.fr

**AYALA Mickael**

R&D  
VIRBAC  
CARROS – FRANCE  
+33 4 92 08 74 25  
mickael.ayala@virbac.com

**BACART Johan**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
johan.bacart@biomerieux.com

**BADALATO Nelly**

GenoScreen  
LILLE – FRANCE  
+33 3 62 26 37 79  
nelly.badalato@genoscreen.fr

**BADIOU Cédric**

U1111 - CIRI  
 Inserm  
 LYON – FRANCE  
 +33 4 78 77 86 57  
 cedric.badiou@univ-lyon1.fr

**BADOR Julien**

Bactériologie  
 CHU  
 DIJON – FRANCE  
 +33 380295685  
 julien.bador@chu-dijon.fr

**BAERT Emmanuel**

Menarini  
 RUNGIS – FRANCE  
 emmanuel.baert@pharmafield.fr

**BAETZ Benjamin**

Université de Caen-Normandie  
 CAEN – FRANCE  
 +33 2 31 56 53 10  
 benjamin.baetz@unicaen.fr

**BAILLET François**

Illumina  
 PARIS – FRANCE  
 fbaillet@illumina.com

**BALESTRINO Damien**

Laboratoire de bactériologie  
 Faculté de Pharmacie  
 CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
 +33 4 73 17 79 94  
 damien.balestrino@uca.fr

**BALESWARAN Abirami**

École d'Ingenieur de Purpan  
 TOULOUSE – FRANCE  
 abirami.baleswaran@purpan.fr

**BALLAN Damien**

LUBEM - Université de Bretagne  
 Occidentale  
 PLOUZANÉ – FRANCE  
 +33 6 46 39 36 08  
 damien.ballan@univ-brest.fr

**BALLAND Julie**

Université de Montpellier  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 julie.balland01@etu.umontpellier.fr

**BALTAZAR LEPINE Emilie**

Marketing et communication  
 bioMérieux  
 CRAPONNE – FRANCE  
 +33 4 78 87 20 00  
 emilie.baltazarlepine@biomerieux.com

**BARBRY Alexia**

Immunologie  
 Eurofins - Biomnis  
 LYON – FRANCE  
 alex.ia@live.fr

**BARDET Lucie**

Biocentric  
 BANDOL – FRANCE  
 +33 4 94 29 06 30  
 lucie.bardet@bruker.com

**BARGUPELLIL Farouk**

Service de bactériologie  
 HMPIT  
 TUNIS – TUNISIE  
 21671802994  
 farouk.barguellig@gmail.com

**BARILLOT André**

Eurobio Scientific  
 LES ULIS – FRANCE  
 a.barillot@eurobio-scientific.com

**BAROTTE Adrien**

bioMérieux  
 CRAPONNE – FRANCE  
 adrien.barotte@biomerieux.com

**BARROUILHET Sophie**

Enseignement et Recherche  
 IPREM UPPA  
 PAU – FRANCE  
 +33 559407446  
 sophie.barrouilhuet@univ-pau.fr

**BARSAN Cristina**

Qiagen  
 LES ULIS – FRANCE  
 cristina.barsan@qiagen.com

**BART Jean-Mathieu**

Institut de Recherche et de Développement  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 +33651596922  
 jean-mathieu.bart@ird.fr

**BASTIEN Sylvère**

CIRI  
 LYON – FRANCE  
 +33 4 78 77 86 57  
 sylvère.bastien@univ-lyon1.fr

**BATEJAT Christophe**

Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence  
 Institut Pasteur  
 PARIS – FRANCE  
 +33 1 40 61 38 08  
 christophe.batejat@pasteur.fr

**BAUTISTA Sarah**

Oniris - INRAe - SECALIM  
 NANTES – FRANCE  
 sarah.bautista@oniris-nantes.fr

**BAYSSE Christine**

Université Rennes 1  
 RENNES – FRANCE  
 christine.baysse@univ-rennes1.fr

**BEDNARCZUK Léa**

VetAgro Sup  
 MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE  
 lea.bednarczuk@univ-lyon1.fr

**BEKARA Boumédiène**

Illumina  
 PARIS – FRANCE  
 +33 7 87 95 49 14  
 bbekara@illumina.com

**BELLETT Virginie**

Laboratoire de parasitologie et mycologie  
 médicale, UFR de pharmacie,  
 TransVIH MI, Univ. Montpellier, INSERM, IRD  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 +33 411759423  
 virginie.bellet@umontpellier.fr

**BEN AYED Azza**

Laboratoire privé  
 ENNASR 2 – TUNISIE  
 +216 71 832 332  
 labobenayed@yahoo.fr

**BENDELAC Henri**

Abbott Rapid Diagnostics  
 BIÈVRES – FRANCE  
 henri.bendelac@abbott.com

**BENHADID BRAHMI Yasmine**

Inserm  
 PARIS – FRANCE  
 yas.benhadid@gmail.com

**BENSAUDE Emmanuelle**

BD  
 LE PONT-DE-CLAIX – FRANCE  
 emmanuelle.bensaude@bd.com

**BERAUD Laetitia**

Institut des agents infectieux  
CNR Légionelles - CHU  
LYON – FRANCE  
laetitia.beraud@chu-lyon.fr

**BERGAMELLI Mathilde**

Centre Physiopathologie  
TOULOUSE PURPAN – FRANCE  
mathilde.bergamelli@gmail.com

**BERKOVA Nadia Nadejda**

STLO - Microbiologie  
INRAe  
RENNES – FRANCE  
+33 2 23 48 57 41  
nadejda.berkova@inrae.fr

**BERNIER Matthieu**

Microbiologie  
CBM INOVIE  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 5 64 56 11 70  
matthieu.bernier@inovie.fr

**BERNUT Audrey**

21  
Lphi UMR 5235  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 14 92 04  
audrey.bernut@umontpellier.fr

**BERTI Valentine**

Assistance Publique - Hôpitaux de Paris  
PARIS – FRANCE  
valentine.berni@aphp.fr

**BERTOUB Sebastien**

Infections parasitaires et fongiques liées  
au VIH  
UMI TransVIHMI - UM, IRD, Inserm  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 11 75 94 21  
sebastien.bertout@umontpellier.fr

**BESAURY Ludovic**

FARE  
URCA  
REIMS – FRANCE  
+33 3 26 77 35 80  
ludovic.besaury@univ-reims.fr

**BESOMBES Juliette**

Laboratoire de virologie  
CHU Pontchaillou  
RENNES – FRANCE  
+33 6 32 21 65 73  
besombes.juliette@gmail.com

**BIBBAL Delphine**

UMR 1436 INTHERES  
INRAe  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 5 61 19 39 03  
delphine.bibbal@envt.fr

**BIGOT Jeanne**

APHP  
PARIS – FRANCE  
jeanne.bigot@aphp.fr

**BILLARD Jérôme**

Eurobio Scientific  
LES ULIS – FRANCE  
j.billard@eurobio-scientific.com

**BILLOT Raphael**

Gene&GreenTK  
MARSEILLE – FRANCE  
raphael.billot@gene-greentk.com

**BISCARRAT Paul**

MICALIS  
INRAe  
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE  
paul.biscarrat@inrae.fr

**BLAISE Mickael**

IRIM  
CNRS  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 34 35 94 68  
mickael.blaise@irim.cnrs.fr

**BLANC-POTARD Anne**

UMR 5235  
CNRS  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 14 47 26  
anne.blanc-potard@umontpellier.fr

**BLANCO Amandine**

UMR5086 - Unité MMSB  
CNRS - IBCP - Université de Lyon  
LYON – FRANCE  
+33 4 37 65 29 25  
amandine.blanco@ibcp.fr

**BLAZÈRE Leslie**

PHAGEinLYON - PHAG-ONE  
Hospices Civils  
LYON – FRANCE  
+33 4 72 00 41 84  
leslie.blazere@chu-lyon.fr

**BLOCH Antoine**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
+33 4 78 87 20 00  
antoine.bloch@biomerieux.com

**BLONDIN Bruno**

UMR Sciences pour l'Oenologie  
Institut Agro Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
blondin@supagro.fr

**BLOUIN Manuel**

Département Agronomie  
Institut Agro Dijon  
MALAIN – FRANCE  
manuel.blouin@agrosupdijon.fr

**BOCCAROSSA Alexandra**

Équipe ATOMyCA  
Inserm - INCIT  
ANGERS – FRANCE  
alexandra.boccarossa@inserm.fr

**BOIJOUT Hugo**

Laboratoire de microbiologie  
CH Tarbes - Lourdes  
LOURDES – FRANCE  
+33 5 62 42 44 70  
hboijout@ch-lourdes.fr

**BOISSIER Jérôme**

Université de Perpignan  
PERPIGNAN – FRANCE  
boissier@univ-perp.fr

**BOISSINOT Dominique**

i2a  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 50 48 00  
dominique.boissinot@i2a.info

**BOITARD Laurent**

MilliDrop  
MASSY – FRANCE  
l.boitard@millidrop.com

**BOLLA Jean-Michel**

U-1261  
Aix-Marseille Université  
MARSEILLE – FRANCE  
+33 4 91 32 44 40  
jean-michel.bolla@univ-amu.fr

**BONAZZI Matteo**

Biologie cellulaire des infections  
bactériennes  
CNRS - UMR9004 - IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 34 35 94 59  
matteo.bonazzi@irim.cnrs.fr

**BONDENET Alexia**

i2a  
MONTPELLIER – FRANCE  
alexia.bondenet@i2a.info

**BONHOMME Elodie**

Biocentric  
BANDOL – FRANCE  
+33 4 94 29 06 30  
elodie.bonhomme@bruker.com

**BONIN Patricia**

EQ Microbiologie Environnementale  
INstitut méditerranéen Oceanographie MIO  
MARSEILLE – FRANCE  
+33 4 86 09 05 52  
patricia.bonin@univ-amu.fr

**BONNAMOUR Sabine**

MSD France  
PUTEAUX – FRANCE  
sabine.bonnamour@msd.com

**BONZON Lucas**

Laboratoire de bactériologie  
CHU  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 33 58 66  
l-bonzon@chu-montpellier.fr

**BORGES Frédéric**

Université de Lorraine - LIBio-Laboratoire  
VANDOEUVRE – FRANCE  
+33 3 72 74 40 85  
frederic.borges@univ-lorraine.fr

**BOTHUA-MOBIAN Aziliz**

Innovation et développement de  
tests diagnostiques  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
aziliz.bothua-mobian@insa-lyon.fr

**BOTICARIO Mélanie**

Byg Informatique  
L'UNION – FRANCE  
+33 5 34 25 07 10  
melanie.boticario@byg4lab.com

**BOUCHERA Doua**

Thermo Fisher Scientific  
COURTABOEUF – FRANCE  
bouchera.douah@thermofisher.com

**BOUCHEZ Théodore**

Irstea  
ANTONY – FRANCE  
+33 1 40 96 60 40  
theodore.bouchez@inrae.fr

**BOUCHEZ Valerie**

Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 83 33  
valerie.bouchez@pasteur.fr

**BOUCHIER Christiane**

CIP  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 61 32 01  
christiane.bouchier@pasteur.fr

**BOUCHON Florent**

INRAe  
ANTONY – FRANCE  
+33 140966082  
florent.bouchon@inrae.fr

**BOUDEHEN Yves-Marie**

UMR9004 IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 34 35 94 48  
yves-marie.boudehen@irim.cnrs.fr

**BOUIX Marielle**

UMR LGMPA (CBAI)  
AgroParisTech  
GOMETZ-LA-VILLE – FRANCE  
bouix.marielle@orange.fr

**BOUJU Agnès**

UMR Secalim  
Oniris  
NANTES – FRANCE  
+33 2 40 68 78 70  
agnes.bouju@oniris-nantes.fr

**BOULEY Laura**

Interscience  
SAINT-NOM-LA-BRETÈCHE – FRANCE  
lbouley@interscience.com

**BOURCIER Maximin**

Labo Central  
CH de Carcassonne  
CARCASSONNE – FRANCE  
+33 4 68 24 30 09  
maximin.bourcier@ch-carcassonne.fr

**BOURDOULOUS Sandrine**

Laboratoire de biologie des cellules  
endothéliales  
Inserm U1016  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 51 64 27  
sandrine.bourdoulous@inserm.fr

**BOUREDJOUL Nesrine**

Laboratoire des Arbovirus et  
virus émergents  
Institut Pasteur  
ALGER – ALGÉRIE  
+21 3 79 18 45 73 8  
n.bouredjou@yahoo.fr

**BOURGE Xavier**

MSD France  
PUTEAUX – FRANCE  
xavier.bourge@msd.com

**BOUSSIÈRE Ines**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
ines.boussiere@etu.umontpellier.fr

**BOUTOLLEAU David**

Service de virologie  
Hôpital Pitié-Salpêtrière  
PARIS – FRANCE  
+33 1 42 17 72 89  
david.boutolleau@aphp.fr

**BOUTONNET Cécile**

Université d'Avignon - INRAe  
AVIGNON – FRANCE  
cecile.boutonnet@inrae.fr

**BOYER Flavien**

Laboratoire biochimie  
CHU  
POITIERS – FRANCE  
flavien.boyer@etu.univ-poitiers.fr

**BOYER Laurent**

Inserm U1065 C3M  
NICE – FRANCE  
+33 688659222  
boyerl@unice.fr

**BRAHIMI Samy**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
samy.brahimi@biomerieux.com

**BRAUGE Thomas**

Laboratoire de sécurité des aliments  
ANSES  
BOULOGNE-SUR-MER – FRANCE  
+33 3 21 99 25 00  
thomas.brauge@anses.fr

**BRECHET Damien**

Sales  
Agilent Technologies  
LES ULIS – FRANCE  
+33 3 89 20 63 29  
damien.brechet@agilent.com

**BRÈS Jean-Charles**

EFS - UMR - PCCEI  
MONTPELLIER – FRANCE  
jean-charles.bres@efs.sante.fr

**BRESSOLLETTE-BODIN Céline**

Virologie  
Nantes Université  
NANTES – FRANCE  
+33 2 40 08 41 22  
celine.bressollette@univ-nantes.fr

**BRIANDET Romain**

INRAe  
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE  
+33 1 74 07 16 98  
romain.briandet@inrae.fr

**BRIET Arnaud**

Bio-Rad  
MARNES-LA-COQUETTE – FRANCE  
+33147956958  
arnaud\_briet@bio-rad.com

**BRILLARD Julien**

INRAe  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 14 47 11  
julien.brillard@umontpellier.fr

**BRION Lise**

i2a  
MONTPELLIER – FRANCE  
lise.brion@i2a.info

**BRISSE Sylvain**

BEBP  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 83 34  
sylvain.brisse@pasteur.fr

**BRIVET Emilie**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
emilie.brivet@etu.umontpellier.fr

**BROCHON Léo**

CHU  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 6 01 73 25 67  
leo.brochon1333@gmail.com

**BRODARD Véronique**

Microbiologie  
CHU  
REIMS – FRANCE  
+33 3 26 78 77 09  
vbrodard@chu-reims.fr

**BROSSE Anaïs**

UMR 1319 - Institut Micalis - Équipe BaPS  
Faculté de Pharmacie  
Université Paris-Saclay  
CHATENAY-MALABRY – FRANCE  
+33 1 46 83 59 61  
anaïs.brosse@universite-paris-saclay.fr

**BROUTIN Isabelle**

faculté de Santé - UFR de Pharmacie  
Université Paris Cité - CNRS  
PARIS – FRANCE  
+33 153731577  
isabelle.bROUTIN@u-paris.fr

**BRUAL Typhaine**

UMR5240  
Laboratoire MAP  
VILLEURBANNE – FRANCE  
typhaine.brual@gmail.com

**BRUANT Hugo**

ERI  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 86 46 75 46  
hugo.bruant@pasteur.fr

**BRUEL Timothée**

Virus & Immunity  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 87 83  
timothee.brueL@pasteur.fr

**BRUGIER Jean-Christophe**

Bio17  
LA ROCHELLE – FRANCE  
jcbugier@hotmail.com

**BRUNOU Pascal**

Sysmex France  
VILLEPINTE – FRANCE  
+33 1 48 17 01 90  
brunou.pascal@sysmex.fr

**BUCHRIESER Carmen**

Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 83 72  
cbuch@pasteur.fr

**BUET Samuel**

Takara Bio Europe  
SAINT-GERMAIN-EN-LAYE – FRANCE  
samuel\_buet@takarabio.com

**BURREL Sonia**

Virologie U1135 CR7 CIMI-UPMC AP-HP  
CHU - UFR Médecine  
BORDEAUX – FRANCE  
+33 1 42 17 74 02  
sonia.burrel@chu-bordeaux.fr

**BURUCOA Christophe**

Bactériologie  
CHU La Miletirie  
POITIERS – FRANCE  
+33 5 49 44 38 89  
christophe.burucoa@chu-poitiers.fr

**BUYCK Julien**

U1070  
Inserm - DR BOD  
POITIERS – FRANCE  
+33 5 49 45 49 28  
julien.buyck@univ-poitiers.fr

**CABANEL Nicolas**

Écologie et évolution de la résistance  
aux antibiotiques  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 145688017  
nicolas.cabanel@pasteur.fr

**CADOT Lucile**

Laboratoire  
CH Alès Cévennes  
ALÈS – FRANCE  
dr.cadot@ch-ales.fr



**CAILLIEZ-GRIMAL Catherine**

EA 7300 SIMPA  
 Université de Lorraine  
 VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE  
 +33 3 72 74 62 56  
 catherine.cailliez@univ-lorraine.fr

**CALDELARI Isabelle**

CNRS - Université de Strasbourg  
 STRASBOURG – FRANCE  
 +33 3 88 41 70 51  
 i.caldelari@unistra.fr

**CAMUS Laura**

Infection biology  
 Interfaculty Institute of Microbiology and  
 Infection Medicine  
 TÜBINGEN – ALLEMAGNE  
 +49 7071 29 75938  
 laura.camus@uni-tuebingen.de

**CANAAN Stephane**

LISM - UMR7255  
 CNRS  
 MARSEILLE – FRANCE  
 +33 4 91 16 40 93  
 canaan@imm.cnrs.fr

**CANARD Bruno**

CNRS - Aix-Marseille Université  
 MARSEILLE – FRANCE  
 bcanard@protonmail.com

**CANCADE--VEYRE Lison**

CNRS - Université Lyon I  
 LYON – FRANCE  
 +33 4 37 65 29 25  
 lison.cancade@ibcp.fr

**CANDELA Thomas**

UMR 1319 - Institut Micalis - Équipe BaPS  
 Faculté de Pharmacie  
 Université Paris-Saclay  
 CHÂTENAY-MALABRY – FRANCE  
 +33 1 46 83 53 82  
 thomas.candela@universite-paris-saclay.fr

**CANTALOUBE Jean-Francois**

UMR PCEI  
 Établissement Français du Sang  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 +33 4 67 61 64 89  
 jean-francois.cantaloube@efs.sante.fr

**CAPELA Delphine**

INRAe - CNRS  
 CASTANET-TOLOSAN – FRANCE  
 +33 561285454  
 delphine.capela@inrae.fr

**CAPELLI Nicolas**

Virologie  
 CHU  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 +33 4 67 33 83 40  
 nicolas.capelli@chu-montpellier.fr

**CAPUZZO Elena**

Institut Pasteur  
 ROME – ITALIE  
 +39 3270176851  
 elenacapuzzo97@gmail.com

**CARAMELLE Lucie**

DMTS - SIMoS  
 CEA Paris-Saclay  
 GIF-SUR-YVETTE – FRANCE  
 +33 1 69 08 48 65  
 lucie.caramelle@cea.fr

**CARLONI Mara Emilia**

Unité de Recherche Yersinia  
 Institut Pasteur  
 PARIS – FRANCE  
 mara.carloni@pasteur.fr

**CARPENTIER Oceane**

Université de Montpellier  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 oceane.carpentier@etu.umontpellier.fr

**CARPENTIER Pierre**

i2a  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 pierre.carpentier@i2a.info

**CARRETERO Pascal**

i2a  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 +33 4 67 50 48 00  
 pascal.carretero@i2a.info

**CARRIOU Mathias**

CIRI  
 LYON – FRANCE  
 mathias.carriou5@gmail.com

**CASALEGNO Jean-Sébastien**

Hospices Civils  
 LYON – FRANCE  
 +33 4 72 07 10 23  
 jean-sebastien.casalegno@chu-lyon.fr

**CATENA Pietro**

Copan  
 BRESCIA – ITALIE  
 diego.zogno@copangroup.com

**CATTOEN Christian**

Microbiologie  
 Centre Hospitalier  
 VALENCIENNES – FRANCE  
 +33 3 27 14 33 86  
 christian.cattoen@wanadoo.fr

**CATTOIR Vincent**

Bactériologie et hygiène hospitalière  
 CHU  
 RENNES – FRANCE  
 +33 2 99 28 98 28  
 vincent.cattoir@chu-rennes.fr

**CAULE William**

Eurobio Scientific  
 LES ULIS – FRANCE  
 w.caule@eurobio-scientific.com

**CESTELLI Gilles**

AmpliTech  
 COMPIÈGNE – FRANCE  
 +33 3 44 23 19 21  
 gcestelli@amplitech.net

**CHABAS Madisson**

CEA - LI2D  
 CODOLET – FRANCE  
 madisson.chabas@cea.fr

**CHAGNEAU Camille**

Inserm - IRSD  
 TOULOUSE – FRANCE  
 camille.chagneau@inserm.fr

**CHAIGNEAU Laurent**

Lab'Science  
 AMBOISE – FRANCE  
 l.chaigneau@lab-science.eu

**CHAIX Estelle**

Anses  
 MAISONS-ALFORT – FRANCE  
 +33 1 49 77 22 18  
 estelle.chaix@anses.fr

**CHAMARANDE Jordan**

EA 7300 SIMPA  
 Université de Lorraine  
 VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE  
 +33 3 72 74 62 56  
 jordan.chamarande@univ-lorraine.fr

**CHAMERET Jean**

Byg Informatique  
 L'UNION – FRANCE  
 +33 5 34 25 07 10  
 jean.chameret@byg4lab.com

**CHAMPAGNE Maëliiss**

IRD  
MONTPELLIER – FRANCE  
+334 67 41 64 42  
maeliiss.champagne@ird.fr

**CHAPLEUR Olivier**

UR PROSE  
INRAe  
ANTONY – FRANCE  
+33 140966506  
olivier.chapleur@inrae.fr

**CHARAZAC Arthur**

Parasitologie-mycologie  
CHU  
POITIERS – FRANCE  
+33 685659874  
arthur.charazac@gmail.com

**CHARDON Hubert**

Bactériologie  
CH Aix-en-Provence  
PERTUIS – FRANCE  
hchardon@ch-aix.fr

**CHARRIERE Guillaume**

IHPE UMR 5244  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 632436707  
guillaume.charriere@umontpellier.fr

**CHAUVET Sylvain**

Marketing  
Alliance Bio Expertise  
BRUZ – FRANCE  
+33 2 30 06 20 12  
sylvain.c@abioexpertise.com

**CHAZAL Nathalie**

UMR9004 CNRS-UM  
IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 34 35 94 55  
nathalie.chazal@irim.cnrs.fr

**CHEVALIER Christine**

Unité chromatine et infection  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 88 14  
christine.chevalier@pasteur.fr

**CHOMIKI Nathalie**

Eurogentec  
LYON 3 – FRANCE  
+33761369470  
n.chomiki@eurogentec.com

**CHOUMET Valérie**

Environnement et risques infectieux  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
33145688630  
vchoumet@pasteur.fr

**CLAVEL Laurent**

i2a  
MONTPELLIER – FRANCE  
laurent.clavel@i2a.info

**CLAVIJO-COPPENS Fernando**

Greenphage  
CLAPIERS – FRANCE  
fernando.clavijo-coppens@bactolytix.com

**CLERE Anne-Sophie**

CBM25  
BESANÇON – FRANCE  
+33 381478978  
annesophie.clere@biogroup.fr

**COCQUERELLE Vanessa**

Plateau de Microbiologie  
Laboratoire BIO67 Ouilab  
STRASBOURG – FRANCE  
+33 3 90 21 68 70  
v.cocquerelle@bio67.fr

**COHU Thibaut**

DRT - LETI - DTBS  
CEA  
GRENOBLE – FRANCE  
+33 4 38 78 34 77  
thibaut.cohu@cea.fr

**COLIN Marius**

Université de Reims Champagne-Ardenne  
REIMS – FRANCE  
+33 3 26 91 81 12  
marius.colin@univ-reims.fr

**COLLETTE Jordan**

Logos Biosystems  
Part of Aligned Genetics  
VILLENEUVE-D'ASCQ – FRANCE  
+33 3 74 09 44 35  
jordan.collette@alignedgenetics.com

**COMBRET Victor**

Université de Caen-Normandie  
CAEN – FRANCE  
+33 2 31 56 53 10  
victor.combret@unicaen.fr

**CONSTANT Maëliiss**

Laboratoire de bactériologie  
CHU  
MONTPELLIER – FRANCE  
m-constant@chu-montpellier.fr

**CONSTANTIN DE MAGNY Guillaume**

IRD - MIVEGEC  
MONTPELLIER – FRANCE  
guillaume.demagny@ird.fr

**CONTARIN Rachel**

INTHERES  
INRAe  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 561193999  
rachel.contarin@inrae.fr

**CORDIER Camille**

Laboratoire de parasitologie et mycologie  
CHUp  
LILLE – FRANCE  
+33 6 63 30 20 07  
camille.cordier76@gmail.com

**CORRE Morgane**

CNRS - IBENS - UMR 8197  
PARIS – FRANCE  
+33 1 44 32 23 65  
mcorre@bio.ens.psl.eu

**CORTES CUEVAS José Luis**

Quantamatrix  
VILLEJUIF – FRANCE  
jose-luis.cortes-cuevas@quantamatrix.com

**COSTECHAREYRE Denis**

Greenphage  
CLAPIERS – FRANCE  
denis.costechareyre@bactolytix.com

**COTON Emmanuel**

LUBEM - Université de Brest  
PLOUZANÉ – FRANCE  
+33 2 90 91 51 41  
emmanuel.coton@univ-brest.fr

**COTON Monika**

Université de Bretagne Occidentale  
BREST – FRANCE  
+33 2 90 91 51 55  
monika.coton@univ-brest.fr

**COTTO Olivier**

INRAe  
MONTPELLIER – FRANCE  
olivier.cotto@inrae.fr

**COURTI Ibtissam**

Laboratoire DPHE  
Institut national universitaire Champollion  
ALBI – FRANCE  
+33 5 63 48 64 31  
ibtissam.courti@univ-jfc.fr

**COUZON Florence**

Inserm U1111  
LICBL1  
LYON – FRANCE  
+33 478778726  
florence.couzon@univ-lyon1.fr

**COVES Marion**

INRAe  
L'HAYŶ-LES-ROSES – FRANCE  
marion.coves@inrae.fr

**CRÉMAZY Frédéric**

U1173 - Infection & inflammation  
Inserm - UVSQ  
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE  
+33 1 70 42 94 60  
frederic.cremazy@uvsq.fr

**CRENN Emmanuel**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
emmanuel.crenn@biomerieux.com

**CREPIN Deborah**

CIRI  
LYON – FRANCE  
+33 4 78 78 57 12  
deborah.crepin@outlook.com

**CROUZET Céline**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
celine.crouzet@biomerieux.com

**CUNAT Lisiane**

EA 7300 SIMPA  
Université de Lorraine  
VANDŶUVRE-LŶS-NANCY – FRANCE  
+33 3 72 74 61 60  
lisiane.cunat@univ-lorraine.fr

**CURROT Bryan**

Beckman Coulter  
VILLEPINTE – FRANCE  
BCURROT@beckman.com

**DA RÉ Sandra**

UMR1092 Inserm - Université de Limoges  
LIMOGES – FRANCE  
+33 5 19 56 42 63  
sandra.da-re@unilim.fr

**DA SILVA BARREIRA David**

UMR PAM  
Université de Bourgogne  
DIJON – FRANCE  
+33 3 80 39 62 62  
david.da-silva-barreira@u-bourgogne.fr

**DAHER Wassim**

UMR9004 IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33434359448  
wassim.daher@irim.cnrs.fr

**DANIEL Marion**

CYROI  
SAINT-DENIS – FRANCE  
marion.daniel@laposte.net

**DARAKDJIAN Jérôme**

Agilent Technologies  
LES ULIS – FRANCE  
+33 1 64 53 60 00  
jerome.darakdjan@agilent.com

**DARGHAM Tonja**

LISM - UMR7255  
CNRS  
MARSEILLE – FRANCE  
+33 4 91 16 40 93  
tdargham@imm.cnrs.fr

**DAUBE Georges**

Microbiologie des aliments  
Université de Liège  
LIÈGE – BELGIQUE  
+32 4 36 64 01 5  
georges.daube@uliege.be

**DAUDE David**

Gene&GreenTK  
MARSEILLE – FRANCE  
david.daude@gene-greentk.com

**DAUWALDER Olivier**

Hospices Civils de Lyon Centre de Biologie  
et Pathologie Nord  
LYON – FRANCE  
olivier.dauwalder@chu-lyon.fr

**DAVILA Martin**

INSA  
VILLEURBANNE – FRANCE  
martin.davila-cervantes@etu.univ-lyon1.fr

**DE LOS SANTOS Silvia**

Laboratoire de Génie Chimique  
TOULOUSE – FRANCE  
silvia.delossantosmeran@toulouse-inp.fr

**DEBANDE Lorine**

Pathogénèse de l'infection bactérienne et  
immunité  
IBMC - UPR9002  
CRAPONNE – FRANCE  
l.debande@ibmc-cnrs.unistra.fr

**DEBATISSE Kevin**

Toulouse Biotechnology Institute  
TOULOUSE – FRANCE  
debatissekevinbac@gmail.com

**DEBRUYNE Charline**

MMSB  
CNRS - Université de Lyon  
LYON – FRANCE  
+33 472722621  
charline.debruyne@ibcp.fr

**DEGABRIEL Manon**

CIRI - Inserm U1111  
LYON – FRANCE  
manon.degabriel@inserm.fr

**DEHAIL Adeline**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
adeline.dehail@etu.umontpellier.fr

**DELAFONT Vincent**

UMR CNRS Ecologie et biologie  
des interactions  
Université de Poitiers  
POITIERS – FRANCE  
+33 5 49 45 38 86  
vincent.delafont@univ-poitiers.fr

**DELAPORTE Eric**

UMI233 TRANSVIHMI  
Institut de Recherche pour le  
Développement  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 41 61 56  
eric.delaporte@ird.fr

**DELCAMP Sophie**

Interscience  
SAINT-NOM-LA-BRETŶCHE – FRANCE  
sdelcamp@interscience.com

**DELLIÈRE Sarah**

Parasitologie et mycologie  
Hôpital Saint-Louis - APHP  
LE PRŶ-SAINTE-GERVAIS – FRANCE  
sarah.delliere@gmail.com

**DELMAS Julien**

M2ISH - Inserm UMR1071  
 Université Clermont Auvergne  
 CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
 +33 4 73 75 49 29  
 julien.delmas@uca.fr

**DELMON Cédric**

Peirene Eau  
 JM-SFM  
 PANAZOL – FRANCE  
 cedric.delmon@unilim.fr

**DELOS Guillaume**

Abbott Rapid Diagnostics  
 BIÈVRES – FRANCE  
 guillaume.delos@abbott.com

**DEMATTEIS Charles**

BD  
 VILLEPINTE – FRANCE  
 Charles.DEMATTEIS@bd.com

**DEMEURE Christian**

Unité de Recherche Yersinia  
 Institut Pasteur  
 PARIS – FRANCE  
 +33 1 45 68 83 27  
 christian.demeure@pasteur.fr

**DEPAPE Julia**

INOVIE Biolab Avenir - Clinique Pasteur  
 TOULOUSE – FRANCE  
 +33 698033303  
 julia.depape@free.fr

**DESAINT Stéphane**

Microbiologie  
 Yves Rocher  
 ISSY-LES-MOULINEAUX – FRANCE  
 +33 1 41 08 59 62  
 stephane.desaint@ymet.com

**DESCHÊNES Gervais**

Nosotech  
 PARIS – FRANCE  
 +14 1 87 23 08 62  
 gervais.deschenes@nosotech.com

**DESCOURS Ghislaine**

Institut des agents infectieux  
 Hospices Civils  
 LYON – FRANCE  
 +33 4 72 07 16 50  
 ghislaine.descours@univ-lyon1.fr

**DESMADRIL Solenn**

Université de Caen-Normandie  
 CAEN – FRANCE  
 +33 2 31 56 53 10  
 solenn.desmadril@unicaen.fr

**DESTANQUE Adrien**

LUBEM  
 BREST – FRANCE  
 +33 7 82 71 00 97  
 adestanque@moethennessy.com

**DESVALENNE Sabine**

BD  
 LE PONT-DE-CLAIX – FRANCE  
 sabine.desvalenne@bd.com

**DESVAUX Mickael**

MEDiS  
 INRAe  
 CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
 +33 4 73 62 47 23  
 mickael.desvaux@inrae.fr

**DEVAERE Marie**

IPBS UMR5089  
 CNRS  
 TOULOUSE – FRANCE  
 +33 5 61 17 58 28  
 marie.devaere@ipbs.fr

**DEVAUX Jean Maxime**

CH d'Arras  
 ARRAS – FRANCE  
 jean.maxime.devaux@gmail.com

**DI MATTIA Jérémy**

IAGE  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 dimattia.jeremy@iage-france.com

**DI NUNZIO Francesca**

Advanced Molecular Virology Unit  
 Institut Pasteur  
 PARIS – FRANCE  
 +33 1 40 61 36 79  
 dinunzio@pasteur.fr

**DI PIETRO Laura**

Université de Montpellier  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 laura.di-pietro@etu.umontpellier.fr

**DIA Mouhamadou Lamine**

Bactériologie - Virologie  
 Université Cheikh Anta Diop  
 MERMOZ SACRÉ COEUR – SÉNÉGAL  
 +221776575634  
 lamedia2004@yahoo.fr

**DIALLO Youssouf**

Biologie des cellules endothéliales  
 Inserm U1016  
 PARIS – FRANCE  
 +33 1 40 51 64 29  
 youssouf.diallo@inserm.fr

**DIEYE Cheikh Ahmeth Tidiane**

Université de Montpellier - UMR QUALISUD  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 cheikhahmetdieye@gmail.com

**DIKEC Jonathan**

Institut Agro Dijon  
 DIJON – FRANCE  
 dikec.jonathan@gmail.com

**DJEFFAL Cléopatre**

Qvella  
 MECHELEN – BELGIQUE  
 cleopatred@qvella.com

**DOP Camille**

INRAe  
 JOUY-EN-JOSAS – FRANCE  
 camille.dop@inrae.fr

**DORDET-FRISONI Emilie**

IHAP - UMR1225 INRA - ENVT  
 INRAe  
 TOULOUSE – FRANCE  
 +33 5 61 19 39 99  
 emilie.dordet-frisoni@envt.fr

**DORISON Louis**

Unité de Génétique des biofilms  
 Institut Pasteur  
 PARIS – FRANCE  
 +33 1 40 61 35 37  
 louis.dorison@pasteur.fr

**DRAME Ibrahima**

LMGE Faculté de Pharmacie  
 Université Clermont Auvergne  
 CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
 +33 473177994  
 ibrahima.drame@uca.fr

**DUBAN Livine**

Luminex B.V.  
 'S-HERTOGENBOSCH – PAYS-BAS  
 lduban@luminexcorp.com

**DUBIN Thibaut**

Alliance Bio Expertise  
 BRUZ – FRANCE  
 +33 2 40 51 79 53  
 thibaut.d@abioexpertise.com

**DUBOIS Eline**

Université de Franche-Comté  
BESANÇON – FRANCE  
+33 3 63 08 22 75  
eline.dubois@univ-fcomte.fr

**DUCHAUD Eric**

Virologie  
INRAe  
PARIS – FRANCE  
eric.duchaud@inrae.fr

**DUFAYS Christophe**

Insmed France  
BIÈVRES – FRANCE  
christophe.dufays@insmed.com

**DUNYACH-REMY Catherine**

Microbiologie et hygiène hospitalière  
Inserm U1047 - CHU de Nîmes  
MONTPELLIER – FRANCE  
catherine.remy@chu-nimes.fr

**DUPONT Chloé**

PHySE Pathogènes Hydriques, Santé,  
Environnement  
Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
chloe.dupont@umontpellier.fr

**DUPONT Raphael**

Biosynex  
ILLKIRCH-GRAFFENSTADEN – FRANCE  
dupont@biosynex.com

**DUPOUY Véronique**

UMR 1436 INTHERES  
INRAe  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 5 61 19 39 27  
veronique.dupouy@envt.fr

**DUQUÉ Benjamin**

Sécurité des aliments  
Actalia  
SAINT-LÔ – FRANCE  
+33 233067171  
b.duque@actalia.eu

**DUQUESNE Fabien**

bactériologie  
ANSES Dozulé  
GOUSTRANVILLE – FRANCE  
+33 2 31 79 22 76  
fabien.duquesne@anses.fr

**DURAND Benjamin**

VBIC  
Inserm - UM - CHU  
NÎMES – FRANCE  
+33 466028167  
benjamin.durand@inserm.fr

**DURAND Nicolas**

Marketing  
Roche Diagnostics France  
MEYLAN – FRANCE  
nicolas.durand@roche.com

**DUSSURGET Olivier**

Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 140613031  
olivier.dussurget@pasteur.fr

**ELIE Baptiste**

MIVEGEC - IRD  
MONTPELLIER – FRANCE  
baptiste.elie@ird.fr

**ELSEN Sylvie**

BIG - CNRS-CEA-UGA - BCI-U1036  
CNRS  
GRENOBLE – FRANCE  
+33 4 38 78 30 74  
sylvie.elsen@ibs.fr

**ENGERBEAU Charly**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
charly.engerbeau@etu.umontpellier.fr

**EPRON Guerric**

Cell Sorting  
Europe Thermo Fisher Scientific  
COURTABOEUF – FRANCE  
guerric.epron@thermofisher.com

**ERABLE Benjamin**

Laboratoire de Génie Chimique  
TOULOUSE – FRANCE  
benjamin.erable@ensiacet.fr

**ESCOLL Pedro**

Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 44 38 95 40  
pescoll@pasteur.fr

**ESNAULT Emilie**

Laboratoire Ploufragan-Plouzané-Niort -  
HQPAP  
ANSES  
PLOUFRAGAN – FRANCE  
+33 2 96 01 01 52  
emilie.esnault@anses.fr

**ESPERT Lucile**

IRIM UMR9004  
IRIM - UMR9004 CNRS-UM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 34 35 94 55  
lucile.espert@irim.cnrs.fr

**ESTELLE Sabourin**

Microbiologie  
CH de Versailles  
LE CHESNAY – FRANCE  
+33 1 39 63 81 99  
estelle.sab63@gmail.com

**ESTEVEZ Antonio**

CSIC - IPBLN Granada  
ARMILLA – ESPAGNE  
+34 958 1816 52  
aestevez@ipb.csic.es

**EULLER Gabriel**

LSEM  
Ifremer  
NANTES – FRANCE  
+33 2 40 37 43 33  
gabriel.euller@ifremer.fr

**ÉVEILLARD Matthieu**

Département de biologie des agents  
infectieux  
CHU - Faculté de Santé  
Université d'Angers  
ANGERS – FRANCE  
+33 2 41 35 77 76  
maeveillard@chu-angers.fr

**FAIVRE Vincent**

CHRU Hôpitaux de Brabois  
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE  
+33 383157434  
v.favre@chru-nancy.fr

**FAUCONNIER Aurélien**

ZU1092  
Inserm DRTL5  
TOULOUSE – FRANCE  
aurelien.fauconnier@unilim.fr

**FAURE Denis**

I2BC  
CNRS  
GIF-SUR-YVETTE – FRANCE  
+33 1 69 82 34 98  
denis.faure@i2bc.paris-saclay.fr

**FAVRE Arnaud**

AmpliTech  
COMPIÈGNE – FRANCE  
+33 3 44 23 19 21  
afavre@amplitech.net

**FAYOLLE Martin**

UFR Médecine  
Inserm U1047  
NÎMES – FRANCE  
fayolle.martin@gmail.com

**FECHTER Pierre**

UMR 7242  
CNRS  
ILLKIRCH – FRANCE  
+33 3 68 85 48 20  
p.fechter@unistra.fr

**FEDERIGHI Michel**

UMR Sécurité des aliments et microbiologie  
Oniris  
NANTES – FRANCE  
+33 2 40 68 76 81  
michel.federighi@vet-alfort.fr

**FENDER Pascal**

IBS - CNRS  
GRENOBLE – FRANCE  
+33 4 57 42 85 65  
pascal.fender@ibs.fr

**FERMON Laurence**

U 12300  
Université Rennes 1  
RENNES – FRANCE  
+33 2 23 23 48 50  
laurence.fermon@univ-rennes1.fr

**FERNANDES Vincent**

LMGE Faculté de Pharmacie  
Université Clermont Auvergne  
CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
+33 4 73 17 79 94  
vincent.fernandes@uca.fr

**FERNANDEZ Andrea**

U1047  
Inserm  
NÎMES – FRANCE  
+33 4 66 02 81 49  
andrea.fernandez@inserm.fr

**FERNANE Farouk**

Mast Diagnostic  
AMIENS – FRANCE  
+33 3 22 80 80 67  
ffernane@mast-diagnostic.fr

**FILLALI Wasfi**

ZU1092  
Inserm DRTLS  
TOULOUSE – FRANCE  
wasfi.fillali@chu-limoges.fr

**FLECK Neila**

Insmed  
PARIS – FRANCE  
neila.fleck@insmed.com

**FLOCH Camille**

Innovation et développement de tests diagnostiques  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 61 37 41  
camille.floch@pasteur.fr

**FLORANCE Frédéric**

Systemex France  
ROISSY CDG – FRANCE  
florance.frederic@systemex.fr

**FORESTIER Christiane**

LMGE Faculté de Pharmacie  
UFR Pharmacie - Université Clermont Auvergne  
CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
+33 4 73 17 79 94  
christiane.forestier@uca.fr

**FOUCAULT Pierre**

Muséum national d'Histoire naturelle  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 79 31 79  
pierre.foucault@mnhn.fr

**FOULONGNE Vincent**

Laboratoire de virologie Saint-Éloi  
CHU  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 467337127  
v-foulongne@chu-montpellier.fr

**FOURNIER Vanessa**

Tillotts Pharma France  
PARIS – FRANCE  
vanessa.fournier@tillotts.com

**FOURNIER-WIRTH Chantal**

Pathogénèse et contrôle des infections chroniques  
EFS - UMR 1058 PCCI  
MONTPELLIER – FRANCE  
chantal.fournier@efs.sante.fr

**FRANCOIS Catherine**

Virologie  
CHU  
AMIENS – FRANCE  
+33 322087062  
francois.catherine@chu-amiens.fr

**FRANCOIS Sarah**

University of Oxford  
OXFORD – ROYAUME-UNI  
+44 7 87 36 68 63 6  
sarah.francois@zoo.ox.ac.uk

**FRANKEL Gad**

Imperial College  
LONDON – ROYAUME-UNI  
+44 787 285 0302  
g.frankel@imperial.ac.uk

**FRESNEAU Franck**

Bruker France  
CHAMPS-SUR-MARNE – FRANCE  
+33 3 88 73 68 00  
franck.fresneau@bruker.com

**FRICON Nicolas**

Abbott Rapid Diagnostics  
BIÈVRES – FRANCE  
nicolas.fricon@abbott.com

**FRIDEZ Françoise**

OSAV  
Office Fédéral de la Sécurité Alimentaire  
BERN – SUISSE  
+41 5 84 66 77 51  
francoise.fridez@blv.admin.ch

**FRONTERA Vincent**

Qiagen  
LES ULIS – FRANCE  
vincent.frontera@qiagen.com

**GACHET Benoît**

U1137  
Inserm DR Paris IDF Centre Nord  
PARIS – FRANCE  
benoit.gachet@inserm.fr

**GAILLAC Antoine**

Secalim  
NANTES – FRANCE  
antoine.gaillac@inrae.fr

**GAILLOT Susie**

UMR 6249 Bactériologie  
Université de Franche-Comté  
BESANÇON – FRANCE  
+33 3 63 08 22 75  
susie.gaillot@edu.univ-fcomte.fr

**GALAND Matthieu**

Appolon Bioteck  
CHAPONNAY – FRANCE  
m.galand@appolonbioteck.com

**GAND Clément**

Bruker France  
CHAMPS-SUR-MARNE – FRANCE  
+33 3 88 73 68 00  
clement.gand@bruker.com

**GANDON Félix**

Microbiologie  
CH Valenciennes  
VALENCIENNES – FRANCE  
+33 3 27 14 35 60  
gandon-f@ch-valenciennes.fr

**GARCIN Damien**

Eurobio Scientific  
LES ULIS – FRANCE  
d.garcin@eurobio-scientific.com

**GASIOR Mathieu**

Sysmex France  
FRANCE  
gasior.mathieu@sysmex.fr

**GASTAUD Magali**

i2a  
MONTPELLIER – FRANCE  
magali.gastaud@i2a.info

**GAUDIN Raphael**

IRIM  
CNRS  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 434359478  
raphael.gaudin@irim.cnrs.fr

**GAUDUIN Maeva**

Biologie des cellules endothéliales  
Inserm U1016  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 51 64 29  
maeva.gauduin@inserm.fr

**GAUTHIER Clément**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
clement.gauthier@biomerieux.com

**GAUTHIER Laura**

Roche Diagnostics France  
MEYLAN – FRANCE  
laura.gauthier@roche.com

**GAVARA Laurent**

IBMM - UMR 5247  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 448792180  
laurent.gavara@umontpellier.fr

**GAY-BELLILE Mathilde**

Cytogénétique médicale  
CHU Estaim  
CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
+33 4 73 75 07 12  
mgay-bellile@chu-clermontferrand.fr

**GENDRAULT Clément**

Sysmex France  
FRANCE  
gendrault.clement@sysmex.fr

**GENDRE Julia**

UMR SayFood  
INRAe  
THIVERVAL-GRIGNON – FRANCE  
julia.gendre@inrae.fr

**GENESTET Charlotte**

Laboratoire de bactériologie  
Hospices Civils - CIRI Inserm U1111  
LYON – FRANCE  
+33 4 72 07 17 09  
charlotte.genestet@gmail.com

**GENTY Vincent**

Amarok Biotechnologies  
SAINT-MALO – FRANCE  
+33 299810809  
v.genty@amarokbiotech.com

**GERGES Elias**

Infection Et Inflammation Chronique  
Uvsq  
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE  
elias.gerges@uvsq.fr

**GERVAIS Alban**

Beckman Coulter  
VILLEPINTE – FRANCE  
+33 1 49 90 90 00  
agervais@beckman.com

**GESLAIN Guillaume**

Hôpital Robert Debré  
PARIS – FRANCE  
guillaume.geslain@aphp.fr

**GHELFENSTEIN-FERREIRA Théo**

Laboratoire de parasitologie et mycologie  
Hôpital Saint-Louis - APhP  
PARIS – FRANCE  
theo.ferreira@aphp.fr

**GHERRI Walid**

Roche Diagnostics France  
MEYLAN – FRANCE  
walid.gherri@roche.com

**GHODBANE Ramzi**

Bruker France  
CHAMPS-SUR-MARNE – FRANCE  
+33 3 88 73 68 00  
ramzi.ghodbane@bruker.com

**GIACCHERINI Cédric**

Miltenyi  
PARIS – FRANCE  
cedricg@miltenyi.com

**GIBOT-LECLERC Stéphanie**

Institut Agro Dijon  
DIJON – FRANCE  
+33 6 12 32 40 32  
stephanie.gibot-leclerc@inrae.fr

**GIVAUDAN Alain**

INRAe  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 14 48 12  
alain.givaudan@umontpellier.fr

**GLASER Philippe**

Écologie et évolution de la résistance  
aux antibiotiques  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 89 96  
pglaser@pasteur.fr

**GOMES Isabel**

Biologie des cellules endothéliales  
Inserm U1016  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 51 64 29  
isabel.gomes@inserm.fr

**GOMES Luis**

Mast Diagnostic  
AMIENS – FRANCE  
+33 3 22 80 80 67  
lgomes@mast-diagnostic.fr

**GOMEZ-MARTINEZ Julien**

UMR 1058 PCCEI  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 61 64 14  
julien.gomez@efs.sante.fr

**GONCALVES Joao**

Amplitech  
COMPIÈGNE – FRANCE  
+33 6 23 67 92 41  
jgoncalves@amplitech.net

**GORRET Nathalie**

Équipe FAME  
LISBP  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 5 61 55 94 71  
ngorret@insa-toulouse.fr

**GOSSELIN Sarah**

Nosotech  
PARIS – FRANCE  
+14 1 87 23 08 62  
sarah.gosselin@nosotech.com

**GOSSELIN-GRENET Anne-Sophie**

UMR 1333 Diversité, génomes  
et interactions micro-organismes  
Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
anne-sophie.gosselin-grenet@umontpellier.fr

**GOUARIN Stephanie**

Virologie  
CHU  
CAEN – FRANCE  
+33 231272019  
gouarin-s@chu-caen.fr

**GOURDIN Clément**

Abbott Rapid Diagnostics  
BIÈVRES – FRANCE  
clement.gourdin@abbott.com

**GOYARD Sophie**

Innovation et développement de tests  
diagnostiques  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 61 30 05  
sophie.goyard@pasteur.fr

**GRANDCLEMENT Julie**

R&d Microbiologie  
Biomerieux  
LA BALME LES GROTTEs – FRANCE  
julie.grandclement@biomerieux.com

**GRAVEY François**

BACTERIOLOGIE  
CHU  
CAEN – FRANCE  
+33 6 47 60 32 87  
fgravey@gmail.com

**GRAVILOFF Nathalie**

MSD France  
PUTEAUX – FRANCE  
nathalie.gavriloff@msd.com

**GREIF Nadège**

Paul Sabatier  
Inserm - IRSd  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 562744510  
nadege.greif@inserm.fr

**GUEDES Susana**

EME  
bioMerieux SA  
MARCY L'ETOILE – FRANCE  
susana.guedes@biomerieux.com

**GUEDON Eric**

UMR STLO  
INRAe  
RENNES – FRANCE  
+33 2 23 48 53 37  
eric.guedon@inrae.fr

**GUEGUEN Yannick**

UMR MARBEC  
Ifremer  
SÈTE – FRANCE  
ygueguen@ifremer.fr

**GUEUDET Thomas**

Laboratoire de biologie  
Hôpitaux Civils  
COLMAR – FRANCE  
+33 3 89 12 54 31  
thomas.gueudet@ch-colmar.fr

**GUILLARD Thomas**

Bactériologie  
Inserm UMRS 1250  
REIMS – FRANCE  
+33 3 26 78 77 70  
tguillard@chu-reims.fr

**GUILLOU Sandrine**

INRAe - Oniris  
NANTES – FRANCE  
+33 2 40 68 77 63  
sandrine.guillou@inrae.fr

**GUIRAUD Jennifer**

Laboratoire de bactériologie  
CHU - Université de Bordeaux  
BORDEAUX – FRANCE  
jennifer.guiraud@chu-bordeaux.fr

**GUY Joany**

Innovative - Diagnostics  
GRABELS – FRANCE  
+33 4 67 41 49 33  
accueil@innovative-diagnostics.com

**HABOUB Marwan**

Zu1092  
Inserm DRTLs  
TOULOUSE – FRANCE  
marwan.haboub@chu-limoges.fr

**HALARY Sébastien**

Équipe Amex  
UMR7245 CNRS - MNHN  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 79 31 54  
sebastien.halary@mnhn.fr

**HAMDAR Alaa**

Contrôle qualité  
Alispharm  
LYON – FRANCE  
ahamdar@alispharm.com

**HAMELA Claire**

UMR9004 IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 34 35 94 48  
claire.hamela@irim.cnrs.fr

**HAMMAMI Adnene**

Laboratoire de microbiologie  
CHU Habib Bourguiba  
SFAX – TUNISIE  
+216 74106041  
hammami.adnene@gmail.com

**HAMON Melanie**

Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 89 68  
melanie.hamon@pasteur.fr

**HANIN Aurelie**

Food safety  
Actalia  
SAINT-LÔ – FRANCE  
+33 2 33 06 71 71  
a.hanin@actalia.eu



**HARDOUIN Pauline**

CEA - LI2D  
BAGNOLS-SUR-CÈZE – FRANCE  
pauline.hardouin@cea.fr

**HAROC'H MAIREY Emilie**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
emilie.harochmairey@biomerieux.com

**HATFULL Graham**

Biological Sciences  
University of Pittsburgh  
PITTSBURGH – ÉTATS-UNIS  
+1 4 1 26 24 69 75  
gfh@pitt.edu

**HEBRAUD Michel**

UMR454 MEDIS  
INRAe - UCA  
SAINT-GÈNES-CHAMPANELLE – FRANCE  
+33 4 73 62 46 70  
michel.hebraud@inrae.fr

**HÉCHARD Yann**

Université de Poitiers  
POITIERS – FRANCE  
+33 549454007  
yann.hechard@univ-poitiers.fr

**HELLUIN Émilie**

PHAGEinLYON - PHAG-ONE  
Hospices Civils  
LYON – FRANCE  
+33 4 72 00 41 84  
emilie.helluin01@chu-lyon.fr

**HENNART Mélanie**

Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 642367294  
melanie.hennart@orange.fr

**HENNEBEL-CHASSAING Anne**

Luminex Paris  
PARIS – FRANCE  
ahennebel@luminexcorp.com

**HENNET Gaelle**

Société Française de Microbiologie  
PARIS – FRANCE  
+33 9 63 04 70 73  
comptabilite@sfm-microbiologie.org

**HENQUELL Cécile**

CNR Entérovirus  
CHU  
CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
+33 4 73 75 48 50  
chenquell@chu-clermontferrand.fr

**HENRIOT Charles**

Université de Bourgogne franche-Comté  
BESANÇON – FRANCE  
+33 3 63 08 22 63  
charles.henriot@univ-fcomte.fr

**HENRY Erwan**

Specific diagnostics  
CALIFORNIA – ÉTATS-UNIS  
ehenry@specificdx.com

**HENRY Steven**

Laboratoire de virologie  
CHU  
MONTPELLIER – FRANCE  
steven-henry@chu-montpellier.fr

**HERNANDEZ Jean-François**

IBMM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 48 79 21 80  
jean-francois.hernandez@umontpellier.fr

**HERRMANN Jean-Louis**

U1173  
Université Versailles Saint-Quentin - APHP  
SAINT-OUEN – FRANCE  
+33 1 70 42 93 41  
jean-louis.herrmann@aphp.fr

**HÉRY-ARNAUD Geneviève**

Bactériologie  
CHU - Université de Brest - Inserm  
BREST – FRANCE  
+33 2 98 14 51 02  
genevieve.hery-arnaud@univ-brest.fr

**HEUILLARD Pauline**

Illumina  
PARIS – FRANCE  
pheuillard@illumina.com

**HEZARD Bernard**

Microbiologie  
Aerial  
ILLKIRCH – FRANCE  
+33 388191515  
b.hezard@aerial-crt.com

**HIAUMET Magali**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
magali.hiaumet@etu.umontpellier.fr

**HNATOVA Martina**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
Martina.HNATOVA@biomerieux.com

**HODILLE Elisabeth**

Hospices Civils  
LYON – FRANCE  
+33 4 72 07 16 90  
elisabeth.hodille@chu-lyon.fr

**HORST Nelly**

MetaSystems Hard & Software GmbH  
ALTLUSSHEIM – ALLEMAGNE  
+49 6205 39610  
nhorst@metasystems.de

**HOUMEY Myriam Abla**

IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 34 35 94 55  
abla.houmey@irim.cnrs.fr

**HUC-BRANDT Sylvaine**

LPHI UMR5235  
Université de Montpellier - CNRS  
MONTPELLIER – FRANCE  
sylvaine.huc-brandt@umontpellier.fr

**HUGUET Kévin**

Université de Lyon 1  
VILLEURBANNE – FRANCE  
kevin.huguet@univ-lyon1.fr

**HUILLET Eugénie**

MICALIS  
INRAe  
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE  
+33 1 74 07 16 96  
eugenie.huillet@inrae.fr

**HUMBLLOT Christèle**

UMR Qualisud  
IRD  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 41 64 13  
christele.humblot@ird.fr

**ILLOUZ Morgane**

UMR9004 IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33434359448  
morgane.illouz@irim.cnrs.fr

**IMAZAKI Pedro**

UMR INTHERES  
INRAe  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 5 61 19 23 24  
pedro.imazaki@envt.fr

**JAN Gwenaël**

UMR STLO  
INRAe  
RENNES – FRANCE  
+33 2 23 48 57 41  
gwenaël.jan@inrae.fr

**JANVIER Frédéric**

Microbiologie et hygiène hospitalière  
BCRM Toulon  
TOULON – FRANCE  
+33 4 83 16 21 63  
frederic.janvier@intradef.gouv.fr

**JARRAUD Sophie**

Institut des agents infectieux  
CNR légionelles  
Hospices Civils  
LYON – FRANCE  
+33 472071638  
sophie.jarraud@chu-lyon.fr

**JAVAUX Hubert**

Campus Nation  
Université Sorbonne - Nouvelle  
PARIS – FRANCE  
+33(0)1 45 87 48 75  
hubert.javaux@sorbonne-nouvelle.fr

**JEANNE Etienne**

CNRS / I2BC  
GIF-SUR-YVETTE – FRANCE  
+33 1 69 82 36 90  
etienne.jeanne@i2bc.paris-saclay.fr

**JOANIN Philippe**

Takara Bio Europe  
SAINT-GERMAIN-EN-LAYE – FRANCE  
philippe\_joanin@takarabio.com

**JOLY Renaud**

Business Area Microbiology & Diagnostics  
Bruker  
CHAMPS-SUR-MARNE – FRANCE  
+33 3 88 73 68 00  
renaud.joly@bruker.com

**JOSSE Jérôme**

Pathogénie des staphylocoques  
CIRI  
LYON – FRANCE  
+33 4 78 78 57 11  
jerome.josse@univ-lyon1.fr

**JUBELIN Grégory**

UMR454 MEDiS  
INRAe  
SAINT-GÈNES-CHAMPANELLE – FRANCE  
+33 4 73 62 42 43  
gregory.jubelin@inrae.fr

**JULIA Franck**

R&D  
Elitech Microbio  
SIGNES – FRANCE  
f.julia@elitechgroup.com

**KAMOIZAN LATOUR Leah**

Consulting vaccin  
AlisPharm  
LYON – FRANCE  
+33 4 72 59 04 81  
lkamoizanlatour@alispharm.com

**KEMENY Raphaëlle**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
raphaëlle.kemeny@biomerieux.com

**KEMPF Marie**

Laboratoire de Bactériologie  
CHU  
ANGERS – FRANCE  
+33 2 41 35 50 13  
makempf@chu-angers.fr

**KÖHLER Stephan**

IRIM UMR9004 - CNRS - Université Mont-  
pellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 34 35 94 59  
stephan.kohler@irim.cnrs.fr

**KOLENDA Camille**

Bactériologie  
Hospices Civils  
LYON – FRANCE  
+33 4 72 00 37 80  
camille.kolenda@chu-lyon.fr

**KOURIBA Bouréma**

Centre d'Infectiologie Charles Mérieux  
BAMAKO – MALI  
bourema.kouriba@cicm-mali.org

**KOZAK Sofia**

ANSES  
GOUSTRANVILLE – FRANCE  
sofia.kozak.ext@anses.fr

**KREMER Laurent**

Institut de Recherche en infectiologie  
CNRS - UMR9004 - IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
laurent.kremer@irim.cnrs.fr

**KYPRAIOS Sophie**

DEINOVE  
GRABELS – FRANCE  
+33 4 48 19 01 40  
sophie.kypriaios@deinove.com

**L'HERMITTE Bastien**

IGDR - UMR 6290 CNRS - UR1  
RENNES – FRANCE  
bastien.lhermitte@univ-rennes1.fr

**LAABERKI Maria-Halima**

VetAgro Sup - CIRI  
VILLEURBANNE – FRANCE  
+33 4 72 44 58 22  
maria-halima.laaberki@vetagro-sup.fr

**LABIEDH Tasnime**

Laboratoire de parasitologie et mycologie  
CHU Cochin - APHP  
PARIS – FRANCE  
tasnime.labiedh@aphp.fr

**LABOUR Karine**

Logos Biosystems  
VILLENEUVE-D'ASCQ – FRANCE  
+33 3 74 09 44 35  
karine@alignedgenetics.com

**LABOURDETTE Delphine**

Plateforme GeT-Biopuces  
TBI - INSA Toulouse  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 5 61 55 96 87  
delphine.labourdette@insa-toulouse.fr

**LACHAUD Laurence**

Parasitologie et mycologie  
CHU - Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 33 23 64  
l-lachaud@chu-montpellier.fr

**LACOTTE Pierre-Alexandre**

UMR 1319 - Institut Micalis - Équipe BaPS  
Faculté de Pharmacie  
Université Paris-Saclay  
CHÂTENAY-MALABRY – FRANCE  
pierre-alexandre.lacotte@universite-paris-saclay.fr

**LACROIX Sébastien**

Centre de Recherche de Maisons-Laffitte  
Veolia Recherche & Innovation  
MAISONS-LAFFITTE – FRANCE  
+33 1 34 93 82 39  
sebastien.lacroix@veolia.com

**LAFFONT Mathieu**

Qiagen  
LES ULIS – FRANCE  
+33 4 67 41 49 33  
mathieu.laffont@qiagen.com

**LAGUILLAUMIE Lea**

INRAe - TBI  
CASTANET TOLOSAN – FRANCE  
laguilla@insa-toulouse.fr

**LAMY Brigitte**

Bactériologie  
Imperial College  
LONDON – ROYAUME-UNI  
brigitte\_lamy@yahoo.fr

**LANDRAUD Luce**

Microbiologie  
Inserm - APHP  
COLOMBES – FRANCE  
+33 1 47 60 10 09  
luce.landraud@aphp.fr

**LANOIS Anne**

UMR DGIMI1333  
Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 14 48 12  
anne.lanois-nouri@umontpellier.fr

**LAPAQUETTE Pierre**

Université de Bourgogne  
DIJON – FRANCE  
pierre.lapaquette@u-bourgogne.fr

**LARRAT Sylvie**

Laboratoire de Virologie  
CHU Grenoble-Alpes  
GRENOBLE – FRANCE  
+33 4 76 76 93 41  
slarrat@chu-grenoble.fr

**LARTIGUE Marie-Frédérique**

CHRU - Université de Tours  
TOURS – FRANCE  
+33 2 47 47 81 13  
lartigue@univ-tours.fr

**LARZILLIERE Valentin**

SUEZ - INRAe  
LE VESINET – FRANCE  
valentin.larzilliere@suez.com

**LASTERE Stephane**

Biologie médicale  
Centre Hospitalier  
PAPEETE – FRANCE  
stephane.lastere@cht.pf

**LAUMAY Floriane**

PHAGEinLYON - PHAG-ONE  
Hospices Civils  
LYON – FRANCE  
+33 4 72 00 41 84  
floriane.laumay@chu-lyon.fr

**LAURENT Frédéric**

Institut des agents infectieux  
HCL - Université Lyon1  
LYON – FRANCE  
frederic.laurent@univ-lyon1.fr

**LAVELLE Christophe**

Structure et Instabilité des Génomes  
CNRS / MNHN  
PARIS – FRANCE  
christophe.lavelle@mnhn.fr

**LAVIGNE Jean-Philippe**

Microbiologie  
CHU Carémeau  
NÎMES – FRANCE  
+33 4 66 68 32 02  
jean.philippe.lavigne@chu-nimes.fr

**LAZUKA Adèle**

Veolia Recherche et Innovation  
MAISONS-LAFFITTE – FRANCE  
+33 1 34 93 31 92  
adele.lazuka@veolia.com

**LE BELLEC Nolwenn**

Marketing Bactériologie  
BIO-RAD  
MARNES-LA-COQUETTE – FRANCE  
+33 6 07 18 52 09  
nolwenn\_le-bellec@bio-rad.com

**LE BOURGEOIS Pascal**

TBI - INSA  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 5 61 55 94 38  
pascal.lebourgeois@univ-tlse3.fr

**LE BRUN Cécile**

Bactériologie  
CHRU  
TOURS – FRANCE  
c.lebrun@chu-tours.fr

**LE FLÈCHE - MATÉOS Anne**

Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 145688336  
anne.le-fleche@pasteur.fr

**LE GOFF Jérôme**

Virologie  
Université Paris Cité - APHP  
PARIS – FRANCE  
+33 686889307  
jerome.le-goff@aphp.fr

**LE LOIR Yves**

UMR 1253 - STLO  
INRAe - AgroCampus Ouest  
RENNES – FRANCE  
+33 2 23 48 59 04  
yves.le-loir@inrae.fr

**LE MENNEC Cécile**

LSEM  
Ifremer  
NANTES – FRANCE  
+33 2 40 37 40 00  
cecile.le.mennec@ifremer.fr

**LE MONS Anne**

Tillotts Pharma France  
PARIS – FRANCE  
anne.lemons@tillotts.com

**LE NINAN Pierre**

Thermo Fisher Scientific  
PAISLEY – ROYAUME-UNI  
pierre.leninan@thermofisher.com

**LE QUÉMÉNER Elie**

INRAe - LBE  
NARBONNE – FRANCE  
+33 4 68 42 51 87  
elie.le-quemener@inrae.fr

**LE ROUZIC Adrien**

DMTS - SIMoS  
CEA Paris-Saclay  
GIF-SUR-YVETTE – FRANCE  
adrien.lerouzig@cea.fr

**LE SEAC'H Elodie**

Biologie des cellules endothéliales  
Inserm U1016  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 51 64 29  
elodie.le-seach@inserm.fr

**LÊ-BURY Pierre**

Unité de Recherche Yersinia  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 44 38 94 61  
pierre.le-bury@pasteur.fr

**LEBRETON Alice**

Équipe infection & devenir de l'ARN  
Institut de Biologie de l'ENS (IBENS)  
PARIS – FRANCE  
+33 1 44 32 34 62  
alice.lebreton@ens.psl.eu

**LECOLLINET Jérémie**

Labo and Co  
MAROLLES-EN-BRIE – FRANCE  
jeremie.lecollinet@laboandco.com

**LEFRANÇOIS Laurent**

Appolon Biotech  
CHAPONNAY – FRANCE  
l.lefrancois@appolonbiotech.com

**LEGEAS Renan**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
renan.legeas@biomerieux.com

**LEGRAS Jean-Luc**

SPO - CIRM-Levures  
INRAE  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 99 61 31 70  
jean-luc.legras@inrae.fr

**LEGROS Romain**

Laboratoire de virologie  
CHU  
ROUEN – FRANCE  
+33 2 32 88 82 36  
r.legros@chu-rouen.fr

**LEGUAY FRIEDRICH Gaelle**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
gaelle.leguayfriedrich@biomerieux.com

**LEHOURS Philippe**

CNR campylobacters-hélicobacters  
CHU  
BORDEAUX – FRANCE  
+33 5 57 57 12 86  
philippe.lehours@u-bordeaux.fr

**LEIBA Jade**

LPHI UMR5235 - UM Campus Triolet  
MONTPELLIER – FRANCE  
jade.leiba@umontpellier.fr

**LEJOLIVET Solène**

Université Aix-Marseille  
SAINT-LAURENT-D'OLT – FRANCE  
solene.lejolivet@etu.uca.fr

**LELOUP Julie**

iEES-Paris UMR SU-CNRS 7618  
PARIS – FRANCE  
julie.leloup@upmc.fr

**LEMAITRE Céline**

ELITech Microbio  
SIGNES – FRANCE  
c.lemaitre@elitechgroup.com

**LEMARE Marion**

CNRS - UMR7242  
ILLKIRCH-GRAFFENSTADEN – FRANCE  
mlemare@unistra.fr

**LEMARIGNIER Marion**

Unité de Recherche Yersinia - Microbiologie  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 83 27  
marion.lemarignier@pasteur.fr

**LEMOINE Gilles**

Formation conseil en ZAC  
Lemoine GM  
MONTARGIS – FRANCE  
+33 2 38 85 45 23  
gilleslemoine@neuf.fr

**LEON Fanny**

Laboratoire TransDiag  
UMR PCCEI  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 467616450  
fanny.leon@efs.sante.fr

**LEON JANAMPA Nancy**

MAVIVH  
Inserm U1259  
TOURS – FRANCE  
nancy.leon@univ-tours.fr

**LEONELLI Dimitri**

CNRS - IPBS  
TOULOUSE – FRANCE  
dimitri.leonelli@ipbs.fr

**LEPAGE Patricia**

Micalis  
INRAE  
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE  
+33 1 34 65 20 09  
patricia.lepage@inrae.fr

**LEPAS Mathieu**

Unité de Mycologie moléculaire  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
mathieu.lepas@etu.univ-tours.fr

**LEPINE Nadège**

Bactériologie  
CHRU Tours  
CHAMBRAY-LÈS-TOURS – FRANCE  
+33 2 38 22 99 73  
nadege.lepine@etu.univ-tours.fr

**LEROY Loïc**

SyMMES - UMR 5819  
CNRS - CEA - Université Grenoble Alpes  
GRENOBLE – FRANCE  
+33 4.38.78.58.84  
loic.leroy@univ-grenoble-alpes.fr

**LEROY Sabine**

UMR MEDIS  
INRAE - UCA  
CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
+33 4 73 62 45 95  
sabine.leroy@inrae.fr

**LESCAT Mathilde**

HUPSSD  
Hôpital Avicenne  
PARIS – FRANCE  
mathilde.lescat@aphp.fr

**LEVEBVRE Céline**

MSD France  
PUTEAUX – FRANCE  
celine.lefebvre@msd.com

**LICZJAR-FAJARDO Patricia**

RCIM  
 Université de Montpellier  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 +33 4 11 75 94 28  
 patricia.licznar-fajardo@umontpellier.fr

**LIGAT Gaëtan**

Institut de Recherche sur les maladies  
 virales  
 Infinity - UTIII Paul Sabatier  
 OBERNAI – FRANCE  
 gaetan.ligat@inserm.fr

**LINA Gérard**

Pathogénie des staphylocoques  
 CIRI  
 LYON – FRANCE  
 +33 4 78 77 86 57  
 gerard.lina@univ-lyon1.fr

**LOBO Naïs**

Université de Montpellier  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 nais.lobos@etu.umontpellier.fr

**LOMMA Mariella**

bioMérieux  
 CRAPONNE – FRANCE  
 mariella.lomma@biomerieux.com

**LOMPREZ Fabienne**

ERI - CIBU  
 Institut Pasteur  
 PARIS – FRANCE  
 +33 1 40 61 36 73  
 flomprez@pasteur.fr

**LOPEZ Marie**

CNRS - IBMM  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 +33 4 48 79 21 42  
 marie.lopez@cnrs.fr

**LORET Suzanne**

SIPPT  
 UNamur - SerP (Biosécurité)  
 NAMUR – BELGIQUE  
 +32 8 17 24 46 7  
 suzanne.loret@unamur.be

**LOUAIL Robin**

Université Rouen Normandie - UMR Inserm  
 1073  
 ROUEN – FRANCE  
 +33 2 35 14 82 40  
 robinlouail@gmail.com

**LOUCHET-DUCOROY Marie**

Laboratoire de virologie  
 CHU - CBH  
 AMIENS – FRANCE  
 +33 3 22 08 70 66  
 louchet-ducoroy.marie@chu-amiens.fr

**LOURENCO Anna**

Illumina  
 PARIS – FRANCE  
 alourenco@illumina.com

**LOZANO Nicolas**

Qiagen  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 nicolas.lozano@qiagen.com

**LUTIN Jade**

CIGC  
 POLIGNY – FRANCE  
 +33 3 63 57 20 34  
 j.lutin@comte.com

**MAGNAN Chloé**

UFR Médecine  
 Inserm U1047  
 NÎMES – FRANCE  
 chloe.magnan@chu-nimes.fr

**MAGNAN Mélanie**

U1137  
 Inserm DR Paris IDF Centre-Nord  
 PARIS – FRANCE  
 melanie.magnan@inserm.fr

**MAILLOT BOUFFARTIGUES Emeline**

CBSA  
 Université de Rouen Normandie  
 EVREUX – FRANCE  
 +33 2 32 29 15 50  
 emeline.bouffartigues@univ-rouen.fr

**MAITRE Martine**

Recherche pharmaco clinique  
 Laboratoires Pierre Fabre  
 TOULOUSE – FRANCE  
 +33 5 34 50 61 47  
 martine.maitre@pierre-fabre.com

**MANGIN Camille**

Institut BIAM - CEA Cadarache - CNRS  
 SAINT-PAUL-LEZ-DURANCE – FRANCE  
 camillemangin95@gmail.com

**MANINA Giulia**

Laboratoire Individualité microbienne  
 et infection  
 Institut Pasteur  
 PARIS – FRANCE  
 +33 1 45 68 87 45  
 giulia.manina@pasteur.fr

**MANSOUR Nour**

Université de Montpellier  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 nour.mansour95@gmail.com

**MANTEL Marine**

U1235 TENS - Inserm  
 NANTES – FRANCE  
 marine.mantel.mm@gmail.com

**MANUEL Nathalie**

Shionogi Europe  
 PUTEAUX – FRANCE  
 nathalie.manuel@shionogi.eu

**MARCHANDIN Hélène**

Bactériologie  
 CHU  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 +33 4 11 74 94 30  
 helene.marchandin@umontpellier.fr

**MARCHIX Justine**

UMR 1235 TENS  
 Inserm  
 NANTES – FRANCE  
 +33 2 40 41 11 23  
 justine.marchix@univ-nantes.fr

**MARCOUX Pierre**

LETI - DTBS  
 CEA  
 GRENOBLE – FRANCE  
 +33 4 38 78 15 04  
 pierre.marcoux@cea.fr

**MARIANNEAU Philippe**

Département Santé animale  
 INRAE  
 LYON – FRANCE  
 +33 4 37 28 74 68  
 philippe.marianneau@inrae.fr

**MARIE Benjamin**

UMR 7245 MCAM  
 CNRS - MNHN  
 PARIS – FRANCE  
 +33 1 40 79 32 12  
 bmarie@mnhn.fr

**MAROT Stéphane**

Virologie  
AP-HP / Sorbonne Université  
PARIS – FRANCE  
+33 1 84 82 80 39  
stephanesylvain.marot@aphp.fr

**MARQUES Ana Catarina**

Patologia Clínica  
CHULN - Hospital de Santa Maria  
LISBOA – PORTUGAL  
+351910274713  
anacatarinamarques.13@gmail.com

**MARRAKCHI Hedia**

IPBS - CNRS  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 5 61 17 55 36  
hedia.marrakchi@ipbs.fr

**MARRO Florian**

CIRI - Inserm U1111  
LYON – FRANCE  
+33 4 78 78 57 12  
florian.marro@evotec.com

**MARSAUD Nathalie**

Plateforme GeT-Biopuces  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 5 61 55 96 87  
nmarsaud@insa-toulouse.fr

**MARSOLLIER Laurent**

INCIT  
Inserm - Université d'Angers  
ANGERS – FRANCE  
laurent.marsollier@inserm.fr

**MARTEL-JANTIN Claire**

Tillotts Pharma  
PARIS – FRANCE  
Claire.Martel@tillotts.com

**MARTEYN Benoit**

CNRS UPR9002  
IBMC  
STRASBOURG – FRANCE  
+33 388417081  
marteyn@unistra.fr

**MARTIN Charlène**

Infinity  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 6 95 31 60 44  
charlene.martin217@gmail.com

**MARTINEZ Eric**

CNRS - UMR9004 - IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33434359459  
eric.martinez@irim.cnrs.fr

**MARTINEZ Olivier**

Montpellier et périphérie  
bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
olivier.martinez@biomerieux.com

**MARTY Pierre-Michel**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
pierre-michel.marty@etu.umontpellier.fr

**MASANTE Cyril**

Shionogi Europe  
PUTEAUX – FRANCE  
cyril.masante@shionogi.eu

**MATCZAK Soraya**

Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 6 22 11 32 39  
soraya.matczak1@pasteur.fr

**MATHEAU Justine**

Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 88 14  
justine.matheau@pasteur.fr

**MATHEY Raphaël**

DRF - IRIG - DIESE - SyMMES - CREAB  
CEA  
GRENOBLE – FRANCE  
+33 4 37 78 91 93  
raphael.mathey@cea.fr

**MATIC Ivan**

Institut Cochin  
PARIS – FRANCE  
+33 1 44 41 25 50  
ivan.matic@inserm.fr

**MAUBARET Clara**

Bactériologie moléculaire  
APHP Hôpital Saint-Louis  
PARIS – FRANCE  
clara.maubaret@aphp.fr

**MAUX Mélinda**

R&DP  
Laboratoires M&L - Groupe L'Occitane  
MANOSQUE – FRANCE  
33 (0) 4 92 70 26 51  
melinda.maux@loccitane.com

**MAYRAN Charly**

EFS TransDiag  
UMR 1058 PCCEI  
MONTPELLIER – FRANCE  
charly.mayran@efs.sante.fr

**MAZARS Edith**

Laboratoire  
Centre Hospitalier de Valenciennes  
VALENCIENNES – FRANCE  
+33 3 27 14 33 86  
mazars-e@ch-valenciennes.fr

**MECHOUCHE Meroua Safa**

École Nationale Supérieure de  
Biotechnologie  
CONSTANTINES – ALGÉRIE  
+33 5 55 57 52 41  
mechouche.safa@yahoo.com

**MEGRAUD Francis**

Inserm U1053  
Université de Bordeaux  
BORDEAUX – FRANCE  
francis.megraud@u-bordeaux.fr

**MEHADJI Mohamed**

Interscience  
SAINT-NOM-LA-BRETÈCHE – FRANCE  
mmehadji@interscience.com

**MEIER Caroline**

Institut de Microbiologie - CHUV  
LAUSANNE – SUISSE  
+41 7 88 15 42 25  
caroline.meier@chuv.ch

**MEILE Jean-Christophe**

UMR Qualisud  
Cirad  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 61 56 49  
meile@cirad.fr

**MENEGHEL Clarisse**

Smaltis  
BESANÇON – FRANCE  
+33 3 81 84 01 42  
clarisse.meneghel@smaltis.fr

**MERENS Audrey**

Biologie médicale  
SSA - HIA Bégin  
SAINT-MANDÉ – FRANCE  
+33 143984998  
merensbio@gmail.com

**MERRIEN Mickaël**

ELITech Microbio  
SIGNES – FRANCE  
m.merrien@elitechgroup.com

**MESSAUDI Tomas**

Cirad  
MONTPELLIER – FRANCE  
tomasmessaudi@gmail.com

**MEYER Sylvain**

ZU1092  
Inserm DRTLS  
TOULOUSE – FRANCE  
sylvain.meyer@unilim.fr

**MEYER Yanis**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
yanis.meyer@etu.umontpellier.fr

**MEZA TORRES Jazmin**

Microbiologie  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 93 22  
jazmin.meza-torres@pasteur.fr

**MIDELET-BOURDIN Graziella**

Laboratoire de sécurité des aliments  
ANSES  
BOULOGNE-SUR-MER – FRANCE  
+33 3 21 99 25 00  
graziella.midelet@anses.fr

**MILHAU Magali**

Divaec  
CHAPONNAY – FRANCE  
m.milhau@divaec.fr

**MILTGEN Guillaume**

Laboratoire de microbiologie  
CHU  
SAINT-DENIS (LA REUNION) – FRANCE  
guillaume.miltgen@chu-reunion.fr

**MIQUEL Sylvie**

LMGE Faculté de Pharmacie  
Université Clermont Auvergne  
CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
+33 4 73 17 79 94  
sylvie.miquel@uca.fr

**MOKEMIABEKA Saturnin Nicaise**

Faculté des Sciences  
Département de Biologie  
Université Marien Ngouabi  
CONGO-BRAZZAVILLE – RÉPUBLIQUE DU  
CONGO  
+24 2 06 66 23 05 0  
dackeur@gmail.com

**MOLINIER Olivier**

AGLAE  
HALLENNES-LEZ-HAUBOURDIN – FRANCE  
+33 320169140  
olivier.molinier@association-aglae.fr

**MOLLE Virginie**

UMR5235 - DIMNP - Université  
MONTPELLIER – FRANCE  
virginie.molle@umontpellier.fr

**MOLMERET Maëlle**

Laboratoire MAPIEM  
Université de Toulon  
LA GARDE – FRANCE  
molmeret@univ-tln.fr

**MONDAIN Anne-Marie**

Virologie  
CHU  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 33 83 31  
am-mondain@chu-montpellier.fr

**MONDANGE Lou**

Unité de Recherche Yersinia  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 83 27  
lou.mondange@pasteur.fr

**MONGELLAZ Doriane**

MMSB  
CNRS - Université de Lyon  
LYON – FRANCE  
+33 4 72 72 26 21  
doriane.mongellaz@ibcp.fr

**MONGIN Grégoire**

UMR5089 IPBS  
TOULOUSE – FRANCE  
gregoire.mongin@ipbs.fr

**MONTEIL Caroline**

CEA Cadarache  
SAINT-PAUL-LEZ-DURANCE – FRANCE  
+33 4 42 25 77 13  
caroline.monteil@cea.fr

**MORABANDZA Cyr Jonas**

École Normale Supérieure  
Dpt des Sciences  
Université Marien Ngouabi  
BRAZZAVILLE – RÉPUBLIQUE DU CONGO  
+242 068968333  
cymoras@yahoo.fr

**MORAND Philippe**

Biologie des cellules endothéliales  
Inserm U1016  
PARIS – FRANCE  
+33 1 58 41 15 44  
philippe.morand@inserm.fr

**MOREAU Karen**

Pathogénie des staphylocoques  
CIRI  
LYON – FRANCE  
+33 4 78 77 86 57  
karen.moreau@univ-lyon1.fr

**MOREIRA DE GOUVEIA Inès**

INRAe - UMR MEDIS  
SAINT-GÈNES-CHAMPANELLE – FRANCE  
+33 473624743  
maria-ines.moreira-de-gouveia@inrae.fr

**MORINIERE Lucas**

UMR 5557 Ecologie microbienne  
Université Claude Bernard Lyon 1  
VILLEURBANNE – FRANCE  
lucasmoriniere@gmail.com

**MORIO Florent**

Nantes Université  
NANTES – FRANCE  
florent.morio@chu-nantes.fr

**MOULIN Laurent**

Recherche et Développement  
Eau de Paris  
IVRY-SUR-SEINE – FRANCE  
+33 145154222  
laurent.moulin@eaudeparis.fr

**MOUNIER Jerome**

Biodiversité et écologie microbienne  
Université de Bretagne Occidentale  
PLOUZANÉ – FRANCE  
+33 2 90 91 51 21  
jerome.mounier@univ-brest.fr

**MOYEN Nanikaly**

Faculté des Sciences de la Santé  
Université Marien Ngouabi  
BRAZZAVILLE – RÉPUBLIQUE DU CONGO  
+24 2 06 94 56 25 2  
mimimoyen@yahoo.fr

**MOYEN Rachel**

Université Marien Ngouabi  
Faculté des Sciences et Techniques  
BRAZZAVILLE – RÉPUBLIQUE DU CONGO  
+242 06 667 13 63  
rmoyen@yahoo.fr

**MUJA Cristina**

Laboratoire DPHE  
INU J.F. Champollion  
ALBI – FRANCE  
+33 5 63 48 64 31  
cristina.muja@univ-jfc.fr

**MULOT Matthieu**

Byg Informatique  
L'UNION – FRANCE  
+33 5 34 25 07 10  
matthieu.mulot@byg4lab.com

**MUNO Julius**

Represented by: aquila biolabs GmbH  
Scientific Bioprocessing (SBI)  
BAESWEILER – ALLEMAGNE  
+49 1 59 04 53 20 86  
julius.muno@aquila-biolabs.de

**MUTTELET Florence**

Direction commerciale et marketing  
Biocentric  
BANDOL – FRANCE  
+33 4 94 29 06 30  
florence.muttelet@bruker.com

**NADHUMA Youssouf Abdou Bedja**

UMR 5235  
Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 14 47 26  
nadhuma.youssouf@umontpellier.fr

**NCIR Sana**

ANSES  
LYON – FRANCE  
+33 478696560  
sana.ncir@anses.fr

**NDAGIJIMANA Sophie**

Laboratoires M&L  
MANOSQUE – FRANCE  
+33 4 92 70 26 17  
sophie.ndagijimana@loccitane.com

**NEYROLLES Olivier**

CNRS  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 5 61 17 54 75  
olivier.neyrolles@ipbs.fr

**NGARI Chrissie**

Microbiologie  
Laboratoires Clarins  
PONTOISE – FRANCE  
+33 1 34 35 15 15  
chrissie.ngari@clarins.com

**NGOM Isaac**

Mast Diagnostic  
AMIENS – FRANCE  
+33 3 22 80 80 67  
ingom@mast-diagnostic.fr

**NGUIMBI Etienne**

Université Marien Ngouabi  
BRAZZAVILLE – RÉPUBLIQUE DU CONGO  
+242 055476155  
etienne.ng1612@gmail.com

**NIDELET Thibault**

UMR SPO  
INRAe  
MONTPELLIER – FRANCE  
thibault.nidelet@inrae.fr

**NILLY Flore**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
flore.nilly@umontpellier.fr

**NIMIRF Aurélie**

Illumina  
PARIS – FRANCE  
animirf@illumina.com

**NIVET Jean-Baptiste**

Abbott Rapid Diagnostics  
BIÈVRES – FRANCE  
jeanbaptiste.nivet@abbott.com

**NOUAÏLE Clémence**

MSD France  
PUTEAUX – FRANCE  
clemence.nouaille@msd.com

**OCCHIALINI Alessandra**

IRIM  
Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 34 35 94 51  
alessandra.occhialini@irim.cnrs.fr

**ODDOUX Olivier**

Centre Hospitalier de Béthune  
BÉTHUNE – FRANCE  
olivier.oddoux@ch-bethune.fr

**OLLIVAUX Maël**

Devea  
ST ETIENNE DE MONTLUC – FRANCE  
mollivaux@devea-environnement.com

**ONILLON Laura**

IHPE UMR5244  
MONTPELLIER – FRANCE  
lauraonillon@gmail.com

**ONTSIRA NGOYI Esther Nina**

Faculté des Sciences de la santé, Université  
BRAZZAVILLE – RÉPUBLIQUE DU CONGO  
+242 066445063  
esther\_muller2003@yahoo.fr

**OREGIONI Olivier**

Bioesterel  
Biogroup  
NICE – FRANCE  
olivier.oregioni@gmail.com

**ORTIZ DE ZARATE Julien**

Illumina  
PARIS – FRANCE  
jortizdezarate@illumina.com

**ORY Jérôme**

Equipe Opérationnelle d'hygiène  
CHU  
NÎMES – FRANCE  
+33 6 47 69 86 52  
jerome.ory@chu-nimes.fr

**OSTYN Emeline**

Inserm U1230 BRM  
Université de Rennes 1  
RENNES – FRANCE  
emeline.ostyn@univ-rennes1.fr

**OSWALD Éric**

Institut de Recherche en Santé Digestive  
Inserm  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 5 67 69 04 17  
eric.oswald@inserm.fr

**OUAFI Mahdi**

CHU  
LILLE – FRANCE  
+33 3 20 44 54 80  
mahdi.ouafi@chu-lille.fr

**OUSSALAH Anissa**

Bruker France  
CHAMPS-SUR-MARNE – FRANCE  
+33 3 88 73 68 00  
anissa.oussalah@bruker.com



**PAGET-BAILLY Philippe**

MIVEGEC - Virostyle  
CNRS - IRD  
MONTPELLIER – FRANCE  
philippe.paget-bailly@ird.fr

**PAILLÉ Christel**

D/TEC  
ESA - ESTEC  
NOORDWIJK – PAYS-BAS  
+31 7 15 65 48 71  
Christel.Paille@esa.int

**PAPON Nicolas**

Université d'Angers - CHU  
ANGERS – FRANCE  
+33 2 44 68 83 61  
nicolaspapon49@gmail.com

**PAQUIN Paul**

DTBS - LSIV  
CEA - LETI  
GRENOBLE – FRANCE  
+33 4 38 78 92 18  
paul.paquin@cea.fr

**PARIS Theo**

LPHI - UMR5235  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 14 92 11  
theo.paris@umontpellier.fr

**PARNAUDEAU Sylvain**

LSEM  
Ifremer  
NANTES – FRANCE  
+33 2 40 37 41 07  
sylvain.parnaudeau@ifremer.fr

**PASQUIER Grégoire**

Département de parasitologie et mycologie  
CHU  
MONTPELLIER – FRANCE  
gregoire.pasquier1@gmail.com

**PASSERINI Delphine**

RBE - BRM - LEMMMB  
Ifremer  
NANTES – FRANCE  
+33 2 40 37 40 63  
delphine.passerini@ifremer.fr

**PASTERNICKI Celia**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
celia.pasternicki@etu.umontpellier.fr

**PATIN Constance**

INRAe  
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE  
+33 134652121  
constance.patin@inrae.fr

**PAUL Etienne**

Toulouse Biotechnology Institute  
INSA Toulouse  
MONTCLAR LAURAGAIS – FRANCE  
paul@insa-toulouse.fr

**PECOUT Marjorie**

BD  
LE PONT-DE-CLAIX – FRANCE  
marjorie.pecout@bd.com

**PEETERS Martine**

IRD  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 41 61 61  
martine.peeters@ird.fr

**PELTIER Johann**

ARNClo  
I2BC  
GIF-SUR-YVETTE – FRANCE  
+33 1 69 82 61 96  
johann.peltier@i2bc.paris-saclay.fr

**PEREYRE Sabine**

UMR 5234 MFP  
Université de Bordeaux  
BORDEAUX – FRANCE  
+33 5 57 57 16 25  
sabine.pereyre@u-bordeaux.fr

**PÉREZ BERNAL María Fernanda**

LBE-INRAE  
NARBONNE – FRANCE  
+33 4 68 42 51 91  
maria-fernanda.perez-bernal@inrae.fr

**PEREZ ROMAND Clément**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
clement.perezromand@biomerieux.com

**PERRET Angélique**

University of Geneva  
GENÈVE – SUISSE  
angelique.perret@unige.ch

**PERROT Océane**

My Planet  
ICM-Paris Brain Institute  
PARIS – FRANCE  
oceane.perrot@icm-institute.org

**PERROTTE Marina**

IDS  
Becton Dickinson  
MORANCÉ – FRANCE  
marina.perrotte@bd.com

**PERSONNIC Nicolas**

CIRI - CNRS UMR5308  
VILLEURBANNE – FRANCE  
+33 4 72 44 81 05  
nicolas.personnic@cnrs.fr

**PEYROTTE Suzanne**

Équipe Nucléosides et effecteurs  
phosphorylés  
UMR5247 CNRS - UM - ENSCM  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 48 79 20 53  
suzanne.peyrottes@umontpellier.fr

**PEYROUX Julien**

CHU Grenoble Alpes  
GRENOBLE – FRANCE  
julien.peyroux@gmail.com

**PICARD Martin**

UMR 7099  
CNRS  
PARIS – FRANCE  
+33 1 58 41 51 60  
martin.picard@ibpc.fr

**PICHON Elodie**

IAGE  
MONTPELLIER – FRANCE  
pichon.elodie@iage-france.com

**PICHON Maxime**

Département des agents infectieux - U1070  
PHAR2  
Université de Poitiers - CHU  
POITIERS – FRANCE  
+33 5 49 44 41 43  
maxime.pichon@chu-poitiers.fr

**PICOT Adeline**

Université de Brest  
POUZANÉ – FRANCE  
+33 2 90 91 51 21  
adeline.picot@univ-brest.fr

**PIEL Damien**

R&D  
Pherecydes Pharma  
ROMAINVILLE – FRANCE  
+33 184861613  
damien.piel@pherecydes-pharma.com

**PIGEYRE Laetitia**

IAGE  
MONTPELLIER – FRANCE  
pigeyre.laetitia@iage-france.com

**PINCHON Elena**

UMR 1058 PCCEI - EFS Montpellier  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 4 67 61 64 14  
elena.pinchon@efs.sante.fr

**PINHAL Stéphane**

IL BIOSYSTEMS FRANCE  
CHAMPAGNE-AU-MONT-D'OR – FRANCE  
sp@il-biosystems.fr

**PINILLA Miriam**

IPBS - CNRS  
TOULOUSE – FRANCE  
miriam.pinilla@ipbs.fr

**PISONI Amandine**

Laboratoire de virologie Lapeyronie  
CHU  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 33 58 86  
a-pisoni@chu-montpellier.fr

**PISSOT Stéphane**

LETI - DOPT  
CEA  
GRENOBLE – FRANCE  
+33 4 38 78 40 10  
stephan.pissot@cea.fr

**PIZARRO-CERDA Javier**

Unité de Recherche Yersinia  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 83 26  
javier.pizarro-cerda@pasteur.fr

**PLANAS Delphine**

Virus et immunité  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 45 68 89 01  
delphine.planas@pasteur.fr

**PLANCHE Arthur**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
arthur.planche@etu.umontpellier.fr

**PLUMEJEAUD Sophie**

Tillotts Pharma  
PARIS – FRANCE  
sophie.plumejeaud@tillotts.com

**POHER Isabelle**

MSD France  
PUTEAUX – FRANCE  
isabelle.poher@msd.com

**POMPON Julien**

IRD  
MONTPELLIER – FRANCE  
julien.pompon@ird.fr

**PONCET Marie-Eve**

Service de santé environnementale  
Ville de Paris  
PARIS – FRANCE  
marie-eve.poncet@paris.fr

**PONT Stéphane**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
stephane.pont@umontpellier.fr

**PORTA Christian**

Biosynex  
ILLKIRCH-GRAFFENSTADEN – FRANCE  
porta@biosynex.com

**PORTIER Marielle**

Nosotech  
PARIS – FRANCE  
marielle.portier@nosotech.com

**POTHERET Damien**

UPR Chrome  
Université de Nîmes  
NÎMES – FRANCE  
+33 4 78 77 87 26  
damien.potheret@unimes.fr

**POUGET Cassandra**

CHU  
NIMES – FRANCE  
cassandra.pouget@gmail.com

**POUMEYROL Thierry**

Direction Commerciale et Marketing  
Biocentric  
BANDOL – FRANCE  
+33 4 94 29 06 30  
thierry.poumeyrol@bruker.com

**POURCELOT Eléonore**

UMR SPO - INRAe  
Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
eleonore.pourceLOT@inrae.fr

**PRADEL Baptiste**

IRIM UMR9004  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 34 35 94 55  
baptiste.pradel@irim.cnrs.fr

**PRÉVOST Hervé**

UMR 1014 Secalim  
Oniris - INRAe  
NANTES – FRANCE  
herve.prevost@oniris-nantes.fr

**PREVOT Jeanne**

Roche Diagnostics France  
MEYLAN – FRANCE  
jeanne.prevot@roche.com

**PUGNI Romain**

Eurobio Scientific  
LES ULIS – FRANCE  
r.pugni@eurobio-scientific.com

**RACHED Bahia**

Analyses biologiques et CCMM  
Centre National de la Recherche  
Scientifique et Technique  
RABAT – MAROC  
+212537569877  
rached@cnrst.ma

**RAMBAUD Maxence**

R&D Microbiology - Sequencing platform  
bioMérieux  
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE  
maxence.rambaud@biomerieux.com

**RAMI Jean-Francois**

Cirad  
MONTPELLIER – FRANCE  
rami@cirad.fr

**RAMPARANY Lalaniriana Lovasoa Juli**

Biologie clinique  
Institut Pasteur  
ANTANANARIVO – MADAGASCAR  
(+261020)2240165  
lova@pasteur.mg

**RAZAK Abdoul**

Lab'Science  
FRANCE  
a.razak@lab-science.eu

**REBENDENNE Antoine**

IRIM  
MONTPELLIER – FRANCE  
antoine.rebendenne@irim.cnrs.fr

**REFFUVEILLE Fany**

UFR Pharmacie - EA 4691 BIOS  
 Université Reims Champagne-Ardenne  
 REIMS – FRANCE  
 +33 3 26 91 81 12  
 fany.reffuveille@univ-reims.fr

**RENIER Adèle**

IBS  
 GRENOBLE – FRANCE  
 +33 4 57 42 86 53  
 adele.renier@ibs.fr

**REYNAUD Yann**

Unité MASAE - LSEM  
 Ifremer  
 NANTES – FRANCE  
 +33 2 40 37 40 87  
 yann.reynaud@ifremer.fr

**REZZOUG Inès**

Bactériologie moléculaire  
 APHP Hôpital Saint-Louis  
 PARIS – FRANCE  
 ines.rezzoug@aphp.fr

**RICHARD Fanny**

bioMérieux  
 CRAPONNE – FRANCE  
 fanny.richard@biomerieux.com

**RICHARD Nicolas**

Quantamatrix  
 VILLEJUIF – FRANCE  
 nicolas.richard@quantamatrix.com

**RIEU Aurélie**

UMR PAM  
 Université de Bourgogne-Franche-Comté  
 DIJON – FRANCE  
 +33 3 80 39 62 62  
 aurelie.rieu@u-bourgogne.fr

**RIOU Mickaël**

UE-1277 Plateforme d'infectiologie  
 expérimentale  
 INRAe  
 NOUZILLY – FRANCE  
 +33 2 47 42 79 45  
 mickael.riou@inrae.fr

**ROBERT Julien**

Alliance Bio Expertise  
 BRUZ – FRANCE  
 julien.b@abioexpertise.com

**ROBY Bertrand**

SFM  
 FRANCE  
 bertrand.robby@ligamen.net

**ROCHA Walter**

Takara Bio Europe  
 SAINT-GERMAIN-EN-LAYE – FRANCE  
 walter\_rocha@takarabio.com

**ROCHARD Camille**

Inserm U938  
 PARIS – FRANCE  
 juliette.guitard@aphp.fr

**RODRIGUEZ Catherine**

Qvella  
 MECHELEN – BELGIQUE  
 catheriner@qvella.com

**ROGUES Anne-Marie**

Hygiène hospitalière  
 CHU Bordeaux - GH PELLEGRIN  
 BORDEAUX – FRANCE  
 +33 5 56 79 55 53  
 anne-marie.rogues@chu-bordeaux.fr

**ROMAN Véronica**

LHN - Anses  
 NANCY – FRANCE  
 +33 3 83 38 87 20  
 veronica.roman@anses.fr

**ROMANITA Lucia**

Beckman Coulter  
 VILLEPINTE – FRANCE  
 LROMANITA@beckman.com

**ROMANO-BERTRAND Sara**

Département d'Hygiène Hospitalière  
 CHU  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 s-romano@chu-montpellier.fr

**ROQUES Christine**

Biodiversité  
 Faculté de Pharmacie  
 TOULOUSE – FRANCE  
 +33 562256860  
 christine.roques@univ-tlse3.fr

**ROQUES Pierre**

Virologie  
 Institut Pasteur  
 CONAKRY – GUINÉE  
 +33603264217  
 pierre.roques@pasteur.fr

**ROQUET-BANERES Francoise**

UMR9004 IRIM  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 +33434359448  
 francoise.roquet-baneres@irim.cnrs.fr

**ROSALES HURTADO Miyanou**

IBMM  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 +33 4 48 79 21 80  
 miyanou.rosales-hurtado@umontpellier.fr

**ROSSO Marie-Noëlle**

Biodiversité et biotechnologie fongiques  
 INRAe - SBFC  
 MARSEILLE – FRANCE  
 +33 4 91 82 86 07  
 marie-noelle.rosso@inrae.fr

**ROUS Axel**

INRAe  
 NARBONNE – FRANCE  
 +33 468425171  
 axel.rous@inrae.fr

**ROUSSEAU Angelique**

Innovative - Diagnostics  
 GRABELS – FRANCE  
 +33 4 67 41 49 33  
 accueil@innovative-diagnostics.com

**ROUX Anne-Emmanuelle**

ISP - Bactéries et risque materno-foetal  
 UMR1282 ISP - Université de Tours - INRAe  
 TOURS – FRANCE  
 +33 2 47 47 61 94  
 anne-emmanuelle.roux@etu.univ-tours.fr

**ROUX-JALLET Valérie**

Santé  
 CEA  
 GRENOBLE – FRANCE  
 valerie.roux@cea.fr

**RUART Dylan**

IRIM CNRS UMR9004  
 MONTPELLIER – FRANCE  
 +33 4 34 35 94 59  
 dylan.ruart@irim.cnrs.fr

**RUIZ Sonia**

MP Biomedicals  
 ILLKIRCH – FRANCE  
 sonia.ruiz@mpbio.com

**RUIZ-VALENCIA Azariel**

École Centrale de Lyon  
ECULLY – FRANCE  
+33 4 72 18 61 11  
azariel.ruiz-valencia@ec-lyon.fr

**RUL Françoise**

UMR Micalis - AgroParisTech  
INRAe  
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE  
+33 1 34 65 21 48  
francoise.rul@inrae.fr

**SAADAoui Sirine**

Université Paul Sabatier Toulouse III  
Laboratoire de Génie Chimique - CNRS  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 6 17 11 14 91  
sirine.saadaoui@toulouse-inp.fr

**SAADI Sarah**

IAGE/CIRAD  
MONTPELLIER – FRANCE  
sarah.saadi@cirad.fr

**SABABADICHETTY Loik**

UMR PIMIT  
Institut de Recherche pour le  
Développement  
SAINTE-CLOTILDE – FRANCE  
loik.sababadichetty@ird.fr

**SABIN Charline**

Alliance Bio Expertise  
BRUZ – FRANCE  
+33 2 40 51 79 53  
charline.s@abioexpertise.com

**SAINT-FELIX Jacques**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
jacques.saint-felix@biomerieux.com

**SALCEDO Suzana**

MMSB  
CNRS - Université de Lyon  
LYON – FRANCE  
+33 437652925  
suzana.salcedo@ibcp.fr

**SALGUEIRO Christophe**

Labo and Co  
MAROLLES-EN-BRIE – FRANCE  
+33 1 45 98 67 61  
christophe.salgueiro@laboandco.com

**SALMONA Maud**

Virologie  
APHP  
PARIS – FRANCE  
+33 1 42 49 94 80  
maud.salmona@aphp.fr

**SANCHEZ Lucie**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
lucie.sanchez01@etu.umontpellier.fr

**SANCHEZ-CID Concepcion**

Environmental Microbial Genomics  
Université de Lyon  
ECULLY – FRANCE  
+33 4 72 18 61 18  
concepcion.sanchezcid-torres@ec-lyon.fr

**SANTONI Karin**

IPBS - CNRS  
TOULOUSE – FRANCE  
+33 632539014  
karin.santoni@ipbs.fr

**SARRAZIN Morgane**

LISM - UMR7255  
CNRS  
MARSEILLE – FRANCE  
+33 4 91 16 40 93  
msarrazin@imm.cnrs.fr

**SARTORI Véronique**

Pfizer  
PARIS – FRANCE  
+33 1 58 07 45 65  
veronique.sartori@pfizer.com

**SASSO Milène**

Laboratoire de microbiologie  
CHU  
NÎMES – FRANCE  
+33 664031649  
milene.sasso@chu-nimes.fr

**SAULDE Benjamin**

INNOVATIVE DIAGNOSTICS  
GRABELS – FRANCE  
+33 4 67 41 49 33  
accueil@innovative-diagnostics.com

**SAULOU-BÉRIION Claire**

UMR SAYFOOD  
AgroParisTech - Université Paris-Saclay  
PALAISEAU – FRANCE  
+33 1 30 81 54 17  
claire.saulou@agroparistech.fr

**SAULTIER Marion**

bioMérieux  
VILLEURBANNE – FRANCE  
+33 665449042  
marion.saultier@biomerieux.com

**SAYEH Raja**

Mast Diagnostic  
AMIENS – FRANCE  
+33 3 22 80 80 67  
rsayeh@mast-diagnostic.fr

**SBAGHDI Thania**

Université Clermont Auvergne  
AUBIÈRE – FRANCE  
thania.sbaghdi@uca.fr

**SCAVAZZIN Victor**

Bactériologie - Virologie  
CHU  
POITIERS – FRANCE  
+33 6 98 51 88 53  
vscavazzin@gmail.com

**SCHIMMICH Cécile**

ANSES  
GOUSTRANVILLE – FRANCE  
cecile.schimmich.ext@anses.fr

**SCHMITT Said**

Biocentric  
BANDOL – FRANCE  
+33 4 94 29 06 30  
said.schmitt@bruker.com

**SCHORR-GALINDO Sabine**

UMR Qualisud  
Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 14 46 03  
sabine.galindo@umontpellier.fr

**SCIBOR Zofia**

Smaltis  
BESANÇON – FRANCE  
+33 3 81 84 01 42  
zofia.scibor@smaltis.fr

**SCUVEE Diva**

IPREM UPPA  
PAU – FRANCE  
diva.scuvec@univ-pau.fr

**SEGARD Christine**

Virologie  
CHU  
AMIENS – FRANCE  
+33 3 22 08 70 63  
segard.christine@chu-amiens.fr

**SEGARD Haniaa**

Biologie des cellules endothéliales  
Inserm  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 51 64 39  
haniaa.segard@inserm.fr

**SERVAL Manon**

CIRAD  
MONTPELLIER – FRANCE  
manon.serval@cirad.fr

**SEZNEC Erwan**

Specific diagnosctics  
CALIFORNIA – ÉTATS-UNIS  
esezniec@specificdx.com

**SICARD Delphine**

INRAe  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 99 61 24 60  
delphine.sicard@inrae.fr

**SIMON Jean-Luc**

FFBiotech  
MARCEUIL – FRANCE  
jeanlucsimon56@gmail.com

**SIMONET Michel**

VERRIÈRES-LE-BUISSON – FRANCE  
michellouis.simonet@gmail.com

**SINOÛ Véronique**

MCT - UMR\_MD1 - Inserm U1261  
Aix-Marseille Université  
MARSEILLE – FRANCE  
+33 4 91 32 47 93  
veronique.sinou@univ-amu.fr

**SMATI-LAFARGE Mounira**

Laboratoire d'analyse médicale  
Centre Hospitalier Intercommunal  
CRÉTEIL – FRANCE  
+33 1 57 02 20 34  
mounira.smati-lafarge@chicreteil.fr

**SOFONEA Mircea**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
mircea.sofonea@umontpellier.fr

**SOLIS Morgane**

Laboratoire de virologie  
Inserm U1109  
STRASBOURG – FRANCE  
+33 3 69 55 10 87  
morgane.solis@chru-strasbourg.fr

**SORLIN Pauline**

Laboratoire de bactériologie - Équipe Physé  
Faculté de Pharmacie  
MONTPELLIER – FRANCE  
pauline.sorlin1@gmail.com

**SOUGUIR Meriem**

ANSES  
LYON – FRANCE  
+33 478696560  
meriem.souguir@anses.fr

**SOUSSAN Diane**

Université de Caen-Normandie  
CAEN – FRANCE  
+33 2 31 56 53 10  
diane.soussan@unicaen.fr

**STAALI Leïla**

Université d'Oran1 Ahmed Ben Bella  
Département de Biotechnologie  
Faculté SNV  
ORAN – ALGÉRIE  
+213 07 79 15 63 99  
lstaali1@yahoo.com

**STAHL Valérie**

Microbiologie  
Aerial ITAI  
ILLKIRCH – FRANCE  
+33 388191516  
v.stahl@aerial-crt.com

**STORME Emilie**

MP Biomedicals  
ILLKIRCH – FRANCE  
emilie.storme@mpbio.com

**STRUBBIA Sofia**

Secalim  
INRAe  
NANTES – FRANCE  
+33 2 40 68 78 46  
Sofia.strubbia@oniris-nantes.fr

**SUROWIEC Claire**

TB-BIO  
MIONS – FRANCE  
+33 4 72 68 69 09  
claire.surowiec@tb-bio.com

**SYLLA Khadime**

Laboratoire de parasitologie-mycologie  
Université Cheikh Anta Diop  
DAKAR – SÉNÉGAL  
+221775217644  
khadimesylla@yahoo.fr

**TALON Régine**

MEDIS  
INRAe  
SAINT-GÈNES-CHAMPANELLE – FRANCE  
+33 4 73 62 41 70  
regine.talon@inrae.fr

**TAVEAU Nicolas**

Greenphage  
CLAPIERS – FRANCE  
nicolas.taveau@bactolytix.com

**TEIXEIRA Chloé**

CIRI - Inserm U1111  
LYON – FRANCE  
+33 4 78 77 86 57  
chloe.teixeira@univ-lyon1.fr

**TESSANDIER Nicolas**

CIRB  
CNRS - UMR7241 - Collège de France  
PARIS – FRANCE  
+33 1 44 27 16 63  
nicolas.tessandier@ird.fr

**TESSON Samuel**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
samuel.tesson@biomerieux.com

**TEYSSIER Corinne**

UMR Qualisud  
Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 61 59 05  
corinne.teyssier@umontpellier.fr

**THIERRY Anne**

UMR STLO  
INRAe  
RENNES – FRANCE  
+33 223485322  
anne.thierry@inrae.fr

**THINEY Pierre-Louis**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
pierre-louis.thiney@biomerieux.com

**THOREL Justine**

Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
justine.thorel@etu.umontpellier.fr

**TORTUEL Damien**

LMGE Faculté de Pharmacie  
Université Clermont Auvergne  
CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
+33 4 73 17 79 94  
damien.tortuel@uca.fr

**TOURÉ Hamadoun**

U1173 - Infection & inflammation  
Inserm - UVSQ  
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE  
hamadoun.toure@uvsq.fr

**TOURNAIRE Guilhem**

MSD France  
PUTEAUX – FRANCE  
guilhem.tournaire@msd.com

**TROUCHE Blandine**

Biologie et écologie des écosystèmes  
marins profonds  
Université de Bretagne Occidentale  
BREST – FRANCE  
Blandine.Trouche@univ-brest.fr

**TUAILLON Edouard**

Laboratoire de virologie  
Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
+33 4 67 33 84 69  
e-tuailon@chu-montpellier.fr

**UMINSKI Pierre**

Devea  
ST ETIENNE DE MONTLUC – FRANCE  
puminski@devea-environnement.com

**VACARISAS Alexandre**

Tillotts Pharma France  
PARIS – FRANCE  
alexandre.vacarisas@tillotts.com

**VALENZUELA MONTENEGRO Camila**

Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 6 64 08 07 87  
camila.valenzuela-montenegro@pasteur.fr

**VALLS ONTANON Gisela**

Insmed  
PARIS – FRANCE  
gisela.vallsontanon@insmed.com

**VAN MAELE Cleophee**

Unité Inserm UMR-S 1250  
Université de Reims Champagne-Ardenne  
REIMS – FRANCE  
cleophee.van-maele@univ-reims.fr

**VARBANOV Mihayl**

UL - CNRS - L2CM  
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE  
+33 3 72 74 73 19  
mihayl.varbanov@univ-lorraine.fr

**VAREILLE-DELARBRE Marjolaine**

LMGE Faculté de Pharmacie  
Université Clermont Auvergne  
CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
+33 4 73 17 79 94  
marjolaine.vareille-delarbre@uca.fr

**VARIN-SIMON Jennifer**

Université de Reims Champagne-Ardenne  
REIMS – FRANCE  
+33 3 26 91 81 12  
jennifer.varin-simon@univ-reims.fr

**VASSE Marie**

CNRS  
MONTPELLIER – FRANCE  
marie.vasse@ird.fr

**VERDON Julien**

EBI - UMR - CNRS 7267  
POITIERS – FRANCE  
+33 5 49 45 36 93  
julien.verdon@univ-poitiers.fr

**VERLAGUET Julien**

LMGE Faculté de Pharmacie  
Université Clermont Auvergne  
CLERMONT-FERRAND – FRANCE  
+33 4 73 17 79 94  
julien.verlaguet@uca.fr

**VERNET Marie-Astrid**

Bio-X Diagnostics  
ROCHEFORT – BELGIQUE  
+3284 32.23.77  
ma.vernet@biox.com

**VERNEY Mylène**

MilliDrop  
MASSY – FRANCE  
m.verney@millidrop.com

**VIDAL Cyril**

ELITech Distribution  
FRANCE  
c.vidal@elitechgroup.com

**VIGUE Lucile**

Inserm DR Paris IDF Centre Nord  
PARIS – FRANCE  
lucile.vigue@inserm.fr

**VILLE Laurent**

Abbott Rapid Diagnostics  
BIÈVRES – FRANCE  
laurent.ville@abbott.com

**VILLEMAGNE Baptiste**

U1177 - Drugs and Molecules for Living  
systems  
Université de Lille  
LOOS – FRANCE  
baptiste.villemagne@univ-lille.fr

**VILLENA Isabelle**

Parasitologie et mycologie  
CHU - Université de Reims  
REIMS – FRANCE  
+33 3 26 78 42 20  
ivillena@chu-reims.fr

**VILLET Régis**

Bioaster  
LYON – FRANCE  
Regis.VILLET@bioaster.org

**VINCENT-HUBERT Françoise**

Laboratoire Santé-Environnement-  
Microbiologie  
Ifremer  
NANTES – FRANCE  
+33 2 40 37 43 39  
fvincent@ifremer.fr

**VIRIEUX-PETIT Maxine**

Equipe Pathogènes hydriques Santé  
et Environnement  
Université de Montpellier  
MONTPELLIER – FRANCE  
maxine.virieuxpetit@orange.fr

**VIROLLE Marie-Joelle**

Département de microbiologie  
Université Paris Saclay  
ORSAY – FRANCE  
33 (0) 1 69 82 61 97  
marie-joelle.violle@i2bc.paris-saclay.fr

**VONARX Véronique**

Beckman Coulter France  
VILLEPINTE – FRANCE  
vvonarx@beckman.com

**VONG Olivia**

SFM - Société Française de Microbiologie  
PARIS – FRANCE  
+33 9 63 04 70 73  
secretariat@sfm-microbiologie.org

**WANG Xiaoqing**

INRAe  
ANTONY – FRANCE  
xiaoqing.wang@inrae.fr

**WEIDMANN Stéphanie**

UMR PAM  
Université de Bourgogne-Franche-Comté  
DIJON – FRANCE  
+33 3 80 39 62 62  
stephanie.weidmann@u-bourgogne.fr

**WITTMANN ROCHER Gaelle**

Research, bacteriology  
Sanofi  
BRIGNAIS – FRANCE  
+33 4 37 37 08 51  
gaelle.wittmann@sanofi.com

**YAKHLEF Faysal**

bioMérieux  
CRAPONNE – FRANCE  
faysal.yakhlef@biomerieux.com

**YVORRA Augustin**

i2a  
MONTPELLIER – FRANCE  
augustin.yvorra@i2a.info

**ZAGOREC Monique**

UMR 1014 Secalim  
INRAe  
NANTES – FRANCE  
+33 2 40 68 78 46  
monique.zagorec@inrae.fr

**ZIRAH Severine**

Muséum national d'Histoire naturelle  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 79 31 40  
severine.zirah@mnhn.fr

**ZIVERI Jason**

Biologie des cellules endothéliales  
Inserm U1016  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 51 64 29  
jason.ziveri@inserm.fr

**ZOGNO Diego**

Copan  
BRESCIA – ITALIE  
+39 3 38 73 31 10 1  
diego.zogno@copangroup.com

**ZONGO Pengdbamba Dieudonné**

Unité EERA  
Institut Pasteur  
PARIS – FRANCE  
+33 1 40 61 39 95  
pengdbamba-dieudonne.zongo@pasteur.fr

**ZRIBI Meriam**

Microbiologie  
Hopital La rabta  
TUNIS – TUNISIE  
+21 6 98 33 40 80  
meriamzribimiled@gmail.com



Société Française  
de Microbiologie

# MICROBES 2022

17<sup>e</sup> Congrès National de la SFM



Au CORUM de **MONTPELLIER**

**3 > 5**  
Octobre

## LISTES DES SPONSORS ET DES EXPOSANTS



## Abbott Rapid Diagnostics

### Stand 25

*Abbott Rapid Diagnostics propose des solutions de biologie décentralisée dans 3 domaines thérapeutiques que sont les maladies infectieuses, les maladies cardiométaboliques, et la toxicologie. Nos tests de diagnostic rapides rendent des résultats exploitables en quelques minutes seulement, pour une prise en charge rapide et adaptée au client.*

Parc Burospace  
6 route de Gisy  
91570 BIEVRES – FRANCE  
+33 1 72 10 00 80  
france@abbott.com  
www.abbott.com

## Agilent Technologies

### Stand 59

*Agilent fournit des réponses fiables qui aident nos clients à répondre à leurs enjeux scientifiques et à accroître les performances de leurs laboratoires et à améliorer leur qualité de vie.*

Parc Technopolis - ZA Courtaboeuf  
3 avenue du Canada - CS 90263  
91940 LES ULIS CEDEX – FRANCE  
+33 1 64 53 60 00  
customercare\_france@agilent.com  
www.agilent.com

## Alliance Bio Expertise

### Stand 17

*Nous sommes partenaire des laboratoires de microbiologie, nous proposons des solutions pour l'industrie agroalimentaire, cosmétique, pharmaceutique mais aussi pour le secteur clinique et la recherche.*

19 rue Louis Blériot  
35170 BRUZ – FRANCE  
+33 2 30 06 20 12  
contact@abioexpertise.com  
www.alliance-bio-expertise.com

## Appolon Biotech

### Stand 34

*APPOLON BIOTECK est une société française spécialisée dans le développement, la fabrication et la commercialisation de tests de biologie moléculaire innovants en infectiologie, génétique humaine, oncologie...*

205 rue des Frères Lumière  
69970 CHAPONNAY – FRANCE  
+33 4 37 57 00 54  
poleclients@appolonbiotech.com  
www.appolonbiotech.fr

## BD

### Stand 16

*Depuis plus de 120 ans, BD accompagne soignants et patients, partout, tout le temps. Notre mission : faire progresser le monde de la santé, en améliorant la découverte médicale, les diagnostics et l'administration des soins.*

11 rue Astride Bergès  
38800 LE PONT-DE-CLAIX – FRANCE  
+33 4 76 68 36 36  
diaginfo@bd.com  
www.bd.com

## Beckman Coulter

### Stand 38

*Commerce de gros (commerce inter-entreprises) de produits pharmaceutiques. Commercialisation d'automates et de réactifs dédiés à l'analyse cellulaire pour la routine et la recherche.*

Immeuble le Rimbaud  
22 avenue des Nations  
93420 VILLEPINTE – FRANCE  
+33 1 49 90 90 00  
Beckman\_france@beckman.com  
www.beckman.com/contact-us/france

## Biocentric - Bruker

### Stand 15

*Biocentric : Solutions de diagnostic clinique, d'analyse et d'identification microbienne.*

276 chemin de Roumpinas  
Immeuble Horus  
83150 BANDOL – FRANCE  
+33 4 94 29 06 30  
info.mdx.fr@bruker.com  
www.biocentric.com

*BRUKER France : Commercialisation de spectromètres de masse et de spectromètres Infra-Rouge.*

34 rue de l'Industrie - BP 10 002  
67166 WISSEMBOURG  
+33 3 88 73 68 00  
order.bdal.fr@bruker.com  
www.bruker.com

## bioMérieux

### Stand 35

*Acteur mondial dans le domaine du diagnostic in vitro depuis plus de 50 ans, bioMérieux reste animé par son esprit pionnier et son engagement pour l'amélioration de la santé publique dans le monde.*

5 rue des Aqueducs  
69290 CRAPONNE CEDEX – FRANCE  
+33 4 78 87 20 00  
webmaster.france@biomerieux.com  
www.biomerieux.fr

## Biosynex

### Stand 32

*Société spécialisée dans le diagnostic in vitro située dans l'Eurométropole de Strasbourg.*

22 boulevard Sébastien Brant  
67400 ILLKIRCH-GRAFFENSTADEN  
FRANCE  
+33 3 88 78 78 87  
client.pro@biosynex.com  
www.biosynex.com

## Byg4lab

### Stand 39

*Editeur de solution Data Management à destination des laboratoires de biologie médicale.*

13 rue d'Ariane  
31240 L'UNION – FRANCE  
+33 5 34 25 07 10  
contact@byg4lab.com  
www.byg4lab.com

## Devea

### Stand 21

*Spécialiste français de la désinfection des surfaces par voie aérienne, Devea propose un couple machine/biocide (AMM FR-2019-0071) sûr et efficace pour les environnements les plus exigeants.*

ZA du Bois de la Noue  
Bâtiment MRY4 - Cellule 5D  
44360 SAINT-ÉTIENNE-DE-MONTLUC  
FRANCE  
+33 2 40 57 07 40  
info@devea-environnement.com  
www.devea-environnement.com

## ELITech Microbio

### Stand 57

*ELITech Microbio fabricant et distributeur de réactifs et produits tiers de diagnostics in vitro, en France et à l'international.*

Allée d'Athènes  
83870 SIGNES – FRANCE  
+33 4 83 36 10 82  
elitechfrance@elitechgroup.com  
www.elitechgroup.com

*ELITech Distribution est le spécialiste de la coloration de lames Aerospray® déclinée en une large gamme d'automates.*

13-15 rue Jean Jaures  
92800 PUTEAUX – FRANCE

## Eurobio Scientific

### Stand 53

*Le groupe Eurobio Scientific est un acteur majeur du diagnostic in vitro en France intervenant de la recherche à la commercialisation de produits diagnostiqués de spécialité et de produits pour la recherche dans le domaine des sciences de la vie.*

7 avenue de Scandinavie  
ZA de Courtaboeuf  
91940 LES ULIS – FRANCE  
+33 1 69 79 64 80  
marketing@eurobio-scientific.com  
www.eurobio-scientific.eu

## Eurofins Millidrop

### Stand 11

*MilliDrop développe des automates pour l'analyse haut-débit des micro-organismes.*

Rue Pierre Adolphe Bobierre  
44323 NANTES CEDEX 3 – FRANCE  
+33 1 42 02 68 50  
contact@millidrop.com  
www.millidrop.com

## i2A

### Stand 23

*Spécialisée en bactériologie, i2a conçoit, fabrique et commercialise des automates, logiciels, réactifs et consommables permettant l'automatisation globale des antibiogrammes.*

401 avenue du Walhalla  
Parc Eurêka - CS 83406  
34060 MONTPELLIER CEDEX – FRANCE  
+33 4 67 50 48 00  
i2a@i2a.info  
www.i2a-diagnostics.fr

## Illumina France

### Stand 24

*De la surveillance génomique du SARS-CoV-2 aux tests de résistance génotypique, en passant par la détection directe des agents pathogènes et de leurs mécanismes de résistance, l'étude de la diversité des populations microbiennes chez l'hôte humain et le typage des souches, nous sommes là pour accélérer vos découvertes.*

52 boulevard de Sébastopol  
75003 PARIS – FRANCE  
+44 7 72 14 90 10 4  
customercare@illumina.com  
www.illumina.com

## Insméd France

### Stand 52

*Insméd est une entreprise biopharmaceutique qui a pour mission de transformer la vie des patients atteints de maladies rares et graves ayant peu, voire aucune option thérapeutique.*

50 rue de Paradis  
75015 PARIS – FRANCE  
+33 1 40 79 64 37  
yves.levallant@insmed.com  
www.insmed.com

## Interscience

### Stand 37

*Concepteur et fabricant français d'automates 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 12

*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

## Life Technologies (Thermo Fisher Scientific)

### Stand 13

*Leader mondial spécialisé dans la conception, la fabrication et la commercialisation d'équipement de laboratoire, d'instruments scientifiques de réactifs/consommables et services à façon.*

16 avenue du Québec - BP 30210  
91941 COURTABOEUF – FRANCE  
+44 141 814 61 00  
pierre.leninan@thermofisher.com  
www.thermofisher.com

## Logos Biosystems

### Stand 50

*Fournisseurs de solutions d'imagerie cellulaire, en particulier un compteur automatique de bactéries. Nous proposons également des microscopes High Content Imaging et du Tissue Clearing.*

1 allée Lavoisier  
59650 VILLENEUVE-D'ASCQ – FRANCE  
+33 3 74 09 44 35  
info-france@logosbio.com  
www.logosbio.com

## Luminex

## A DiaSorin Company

### Stand 62

*At Luminex, our mission is to empower labs to obtain reliable, timely, and actionable answers, ultimately advancing health.*

*We offer flexible solutions for hospitals, reference labs and researchers.*

Het Zuiderkruis 1  
5215 MV 'S-HERTOGENBOSCH CEDEX 17  
THE NETHERLANDS  
+31 73 800 1900  
europe@luminexcorp.com  
www.luminexcorp.com

## Mast Diagnostic

### Stand 14

*Mast Diagnostic 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

## Metasystems Hard & Software GmbH

### Stand 54

*Développeur de systèmes et logiciels d'analyse d'images pour la microscopie automatisée en microbiologie.*

Robert-Bosch-Str. 6  
68804 ALTLUSSHEIM – ALLEMAGNE  
+49 6 20 53 96 10  
info@metasystems-international.com  
www.metasystems-international.com

## Miltenyi Biotec

### Stand 58

*Société de Biotechnologie, leader dans le domaine de la séparation cellulaire, intervenant novateur en cytométrie en flux, culture cellulaire, préparation d'échantillons et microscopie.*

10 rue Mercoeur  
75011 PARIS – FRANCE  
+33 1 56 98 16 16  
macsfr@miltenyi.com  
www.miltenyibiotec.com

**MP Biomedicals****Stand 10**

*MP Biomedicals soutient les chercheurs et l'industrie du monde entier avec des produits pour les marchés des sciences de la vie, de la chimie et du diagnostic.*

220 rue Geiler de Kaysersberg  
67400 ILLKIRCH-GRAFFENSTADEN  
FRANCE  
+33 3 88 67 54 25  
info.europe@mpbio.com  
www.mpbio.com/eu

**MSD France****Stand 51**

*MSD se donne pour mission de découvrir, développer et proposer des médicaments et vaccins innovants.*

10-12 Cours Michelet  
92800 PUTEAUX – FRANCE  
+33 1 80 46 40 00  
antoine.seite@msd.com  
www.msd-france.com

**Nosotech****Stand 42**

*Nosotech est une entreprise spécialisée dans le développement et l'implémentation de logiciels de prévention des maladies infectieuses, d'antibiogouvernance et de surveillance épidémiologique en temps réel.*

55 avenue Marceau  
75116 PARIS – FRANCE  
+1-418-723-0862  
info@nosotech.com  
www.nosotech.com

**Pfizer****Stand 61**

*Laboratoire biopharmaceutique.*

23/25 avenue du Docteur Lannelongue  
75668 PARIS CEDEX 14 – FRANCE  
+33 1 58 07 45 65  
www.pfizer.fr/nous-contacter  
www.pfizer.fr

**Qiagen France****Stand 44**

*QIAGEN sert plus de 500 000 clients dans le monde entier, tous à la recherche de réponses à partir des éléments constitutifs de la vie - ADN, ARN et protéines.*

3 avenue du Canada  
LP 809  
91972 COURTABOEUF CEDEX – FRANCE  
0800 912 965  
customercare-fr@qiagen.com  
www.qiagen.com

**Quantamatrix Europe****Stand 56**

*Antibiogrammes rapides directement à partir des flacons d'hémocultures positives.*

1 Mail du Pr Georges Mathé  
Villejuif Bio Park  
94800 VILLEJUIF – FRANCE  
+33 9 75 29 18 65  
contact-europe@quantamatrix.com  
www.quantamatrix.com

**Qvella Corporation Belgium****Stand 26**

*Qvella a pour vocation d'améliorer les résultats pour les patients et sauver des vies en réduisant le temps nécessaire à l'obtention de résultats en microbiologie et en maladies infectieuses.*

Generaal de Wittelaan 17C  
2800 MECHELEN – BELGIUM  
+32 470 52 79 02  
catheriner@qvella.com  
www.qvella.com

**Roche Diagnostics France****Stand 31**

*Roche crée et partage de la valeur pour l'écosystème de santé grâce à son expertise scientifique et industrielle, et en collaboration avec les établissements de santé et les sociétés savantes.*

2 avenue du Vercors  
CS 60059  
38240 MEYLAN – FRANCE  
+33 4 76 76 30 00  
[https://diagnostics.roche.com/fr/fr/contact-forms/contact-us-support\\_gp.html](https://diagnostics.roche.com/fr/fr/contact-forms/contact-us-support_gp.html)  
<https://diagnostics.roche.com/fr>

**Scientific Bioprocessing, Inc (SBI)****Stand 22**

*Sbi est une société spécialisée dans les sciences de la vie qui se concentre sur le développement de capteurs intelligents innovants et de logiciels d'analyse de données de pointe pour les applications de biotraitement.*

Represented by: Aquila Biolabs GmbH  
Arnold-Sommerfeld-Ring 2  
52499 BAESWEILER – GERMANY  
+49 1 63 29 22 61 5  
info@aquila-biolabs.de  
www.scientificbio.com

**Smaltis****Stand 55**

*Smaltis est un laboratoire spécialisé en microbiologie, proposant des services in vitro sur mesure pour accompagner le développement de produits de santé et bien-être.*

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)****Stands 33-36**

36 avenue Jean Moulin  
75014 PARIS – FRANCE  
+33 9 63 04 70 73  
secretariat@sfm-microbiologie.org  
www.sfm-microbiologie.org

**Sysmex France****Stand 41**

*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  
93420 VILLEPINTE CEDEX – FRANCE  
+33 1 48 17 01 90  
info@sysmex.fr  
www.sysmex.fr

**Takara Bio Europe****Stand 63**

*Takara Bio Europe est la filiale européenne du groupe Takara Bio Inc., qui développe, fabrique et distribue une large gamme de réactifs pour les sciences de la vie.*

34 rue de la Croix de Fer  
78100 ST-GERMAIN-EN-LAYE – FRANCE  
+33 1 39 04 68 80  
infoEU@takarabio.com  
www.takarabio.com

## Tillotts Pharma France

### Stand 43

*Tillotts Pharma est une entreprise pharmaceutique entièrement dédiée aux traitements des pathologies gastro-intestinales.*

40-48 rue Cambon  
75001 PARIS – FRANCE  
contactfrance@tillotts.com  
www.tillotts.com

### SPONSOR

**Molzym**  
www.molzym.com

### PRESSE

**La gazette du laboratoire**  
www.gazettelabo.fr

PLAN DE L'EXPOSITION - LE CORUM, MONTPELLIER

ESPACE ANTIGONE 1, 2 & 3 - NIVEAU 2

**SESSION POSTERS 1 - Numéros pairs :**  
mardi 4 octobre de 17h15 à 18h00

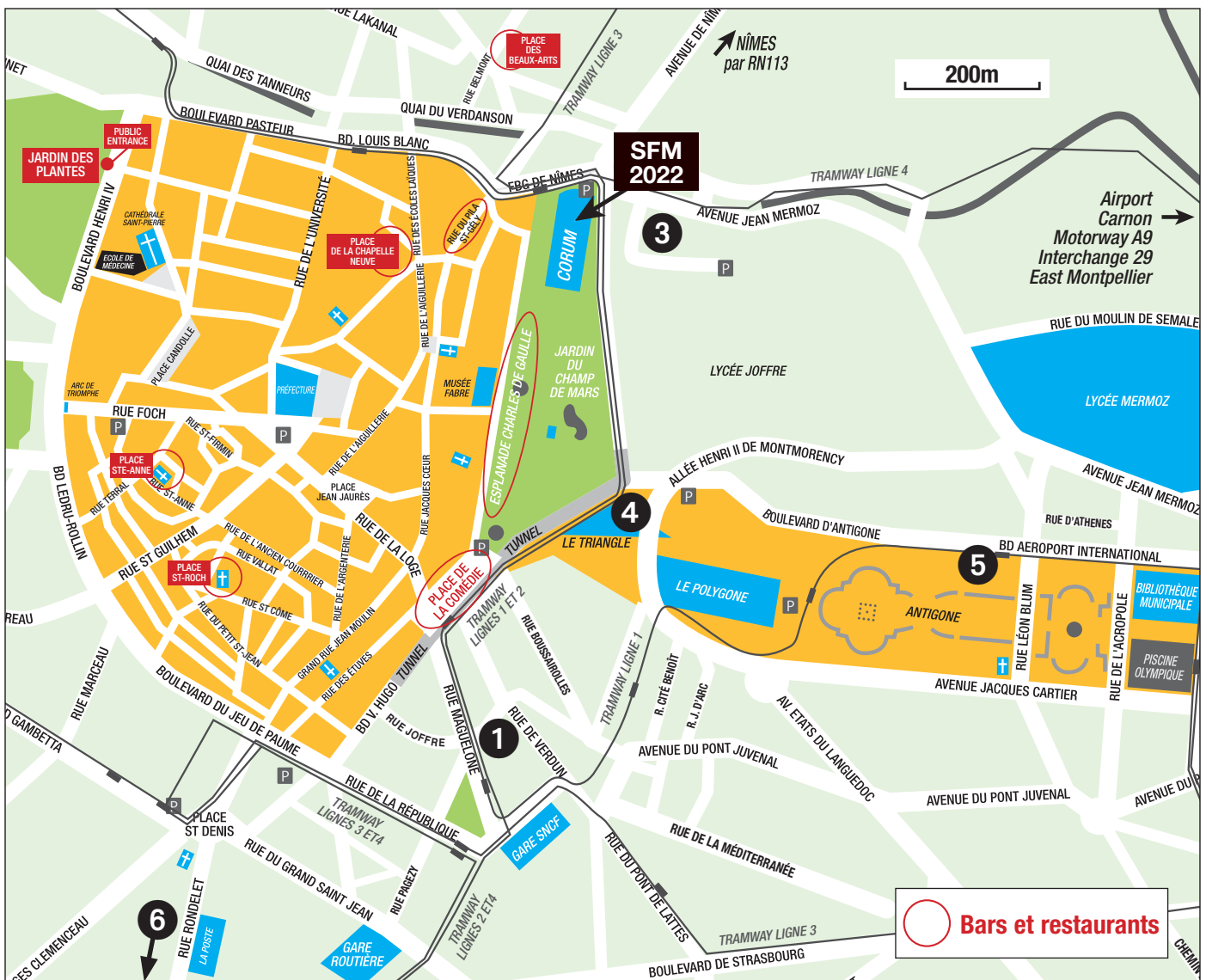
**SESSION POSTERS 2 - Numéros impairs :**  
mercredi 5 octobre de 10h15 à 11h



LISTE DES STANDS

ABBOTT	STAND 25	BIOSYNEX	STAND 32	INTERSCIENCE	STAND 37	MP BIOMEDICALS	STAND 10	SBI	STAND 22
AGILENT	STAND 59	BYG4LAB	STAND 39	LABO & CO	STAND 12	MSD FRANCE	STAND 51	SMALTIS	STAND 55
ALLIANCE BIO EXPERTISE	STAND 17	DEVEA	STAND 21	THERMO FISHER SCIENTIFIC	STAND 13	NOSOTECH	STAND 42	SFM	STANDS 33-36
APOLLON BIOTECK	STAND 34	ELITECH MICROBIO / ELITECH DISTRIBUTION	STAND 57	LOGOS BIOSYSTEMS	STAND 50	PFIZER	STAND 61	SYSMEX	STAND 41
BD	STAND 16	EUROBIO SCIENTIFIC	STAND 53	LUMINEX	STAND 62	QIAGEN	STAND 44	TAKARA BIO EUROPE	STAND 63
BECKMAN COULTER	STAND 38	I2A	STAND 23	MAST DIAGNOSTIC	STAND 14	QUANTAMATRIX	STAND 56	TILLOTTS PHARMA	STAND 43
BIOCENTRIC / BRUKER	STAND 15	ILLUMINA	STAND 24	METASYSTEMS	STAND 54	QVELLA	STAND 26		
BIOMÉRIEUX / SPECIFIC DIAGNOSTICS	STAND 35	INSMED	STAND 52	MILTENYI BIOTEC	STAND 58	ROCHE	STAND 31		

## PLAN DE SITUATION DES HÔTELS - SFM 2022 - MONTPELLIER



### 1 Hôtel Oceania Le Métropole \*\*\*\*

Situé à 800 m du Corum (10 min. à pieds). Parking privé : 20 € / 24h.



### 3 Crowne Plaza Montpellier Corum \*\*\*\*

Situé à 150 m du Corum (accès direct par passerelle, 2 min. à pieds).  
Parking privé : 15 € / 24h.



### 4 Ibis Montpellier Centre Comédie \*\*\*

Situé à 450 m du Corum (5 min. à pieds) - Parking public : 14 € / 24h.



### 5 Citadines Antigone Montpellier \*\*\*

Situé à 1,2 km du Corum (15 min. à pieds) - Parking privé : 11 € / 24h.



### 6 Appart'City Confort Montpellier St Roch \*\*\*

Situé à 1,9 km du Corum (25 min. à pieds) - Parking privé : 7 € / 24h.

