



Société Française
de Microbiologie

RENCONTRES ●

EXPOSITION ●

CONFÉRENCES ●

COMMUNICATIONS ●

16^e congrès national de la SFM

NANTES

Cité des Congrès

22-24 SEPT

2021

MICROBES
2021

...mille lieux
au cœur de la
microbiologie

LIVRE DES RÉSUMÉS

Programme • Résumés des communications

Liste des posters • Liste des participants • Listes des sponsors et exposants

FastPrep-24™ 5G

Un broyeur à billes puissant qui lyse tout type d'échantillons en quelques secondes, y compris les plus résistants.

Une garantie d'obtenir des résultats fiables et reproductibles pour toutes vos applications de microbiologie.



Broyer - Lyser - Extraire

- ▶ Aucun risque de contamination grâce aux tubes de Lysing Matrix à usage unique
- ▶ Rendements d'extraction élevés dans un temps très court
- ▶ Maintien de l'intégrité de l'ADN, de l'ARN et des protéines
- ▶ Les ADN et ARN purifiés sont prêts à l'emploi pour de nombreuses applications
- ▶ Un large choix de portoirs amovibles: de 2 mL à 50 mL et jusqu'à 48 tubes.
- ▶ Des broyages en conditions cryogéniques. Des adaptateurs tout en métal pour faciliter la stérilisation.



Nouveaux kits prêts à l'emploi pour l'extraction d'ADN -tubes de Lysing Matrix inclus



SPINeasy DNA Kit for Tissue and Bacteria

- Tissus humains et animaux - Bactéries Gram + et Gram -
- Méthode de purification à base de colonnes à centrifuger ayant une membrane de silice



MagBeads FastDNA™ Kit for Soil

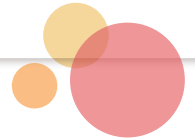
- Echantillons de l'environnement: sol, sédiment, eau, boue, compost, rhizosphère
- Méthode de purification utilisant des billes magnétiques



MagBeads FastDNA™ Kit for Feces

- Echantillons de selles humaines et animales
- Méthode de purification utilisant des billes magnétiques





BIENVENUE

Cher(e)s ami(e)s et collègues,

Nous sommes heureux de vous annoncer le **16^e congrès national de la SFM « MICROBES »** qui se tiendra du **mercredi 22 au vendredi 24 septembre 2021 à la Cité des Congrès de Nantes**.

Le Conseil Scientifique et les Comités d'Organisation, avec l'aide des sections et des Groupes de Travail, et des sociétés savantes partenaires, ont élaboré un programme, riche et divers.

À très bientôt.

Très cordialement,

*Gérard Lina,
Président de la SFM*

Comme indiqué par le Président nous vous proposons pour Microbes 2021... mille lieux au cœur de la microbiologie, un Voyage A Nantes (VAN pour les curieux...). Vous aurez la possibilité, le mercredi matin avant le début du congrès et le vendredi après-midi après 15h30, d'effectuer un léger « pas de côté » pour profiter des nombreuses animations du VAN, visibles dans le proche rayon de la Cité des Congrès, sans oublier l'éléphant bien sûr...

Programme riche et divers a dit le Président, dense, à coup sûr, et passionnant, on l'espère, grâce aux acteurs suscités et grâce à vos abstracts. 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 2019, avec un peu plus de rendez-vous pléniers et un peu moins de sessions parallèles. Le programme s'est également construit avec la reconduction pour **Microbes 2021** des désormais incontournables :

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

Et des nouveautés comme un « apéritif microbiologique » le mercredi et la soirée du congrès le jeudi soir.

Bienvenue à Nantes & bienvenue à Microbes 2021... mille lieux au cœur de la microbiologie.

Les Comités d'Organisation national et local.

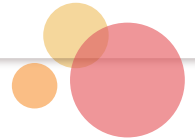


Société Française
de Microbiologie

MICROBES 2021

16^e Congrès National de la SFM

22-24
SEPT



COMITÉ D'ORGANISATION

Président : Gérard Lina

Marielle Bouix

Michel Federighi

Sonia Burrel

Mathilde Lescat

Olivier Dussurget

Mily Leblanc-Maridor

Hervé Prévost

COMITÉ SCIENTIFIQUE

Corentine Alauzet

Sébastien Allix

Laurent Andreoletti

Theodore Bouchez

Céline Bressollette

Carmen Buchrieser

Monika Coton

Matthieu Eveillard

Pascal Garry

Yann Héchard

Jean-Louis Herrmann

Sophie Jarraud

Isabelle Kempf

Marie Kempf

Brigitte Lamy

Marie-Frédérique Lartigue

Frédéric Laurent

Jérôme Le Goff

Julie Leloup

Didier Lepelletier

Nicolas Lévêque

Olivier Neyrolles

Eric Oswald

Nicolas Papon

Maxime Pichon

Marie Noëlle Rosso

Alain Sarniguet

Régine Talon

François-Xavier Weill

Monique Zagorec

SECRÉTARIAT ADMINISTRATIF

Alpha Visa Congrès / SFM 2021

624 rue des Grèzes

34070 Montpellier - France

Tél. : +33 4 67 03 03 00

sfm@alphavisa.com - www.alphavisa.com/sfm/2021

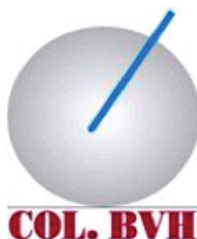
REMERCIEMENTS

Les Comités d'Organisation et Scientifique remercient vivement le partenaire public et les sociétés savantes partenaires pour leur soutien dans le cadre du 16^e congrès national de la SFM.

Partenaire public



Sociétés savantes partenaires



FFBiotech

INRAE



REMERCIEMENTS

Les Comités d'Organisation et Scientifique remercient vivement les sponsors et exposants pour leur soutien dans le cadre du 16^e congrès national de la SFM.

Sponsors - Exposants



REMERCIEMENTS

Les Comités d'Organisation et Scientifique **remercient vivement les exposants pour leur soutien** dans le cadre du 16^e congrès national de la SFM.

Exposants




Miltenyi Biotec



OZYME
Des femmes et des hommes
au service de vos recherches




ThermoFisher
SCIENTIFIC

Presse





TABLE DES MATIÈRES

PROGRAMME

• Planning	12
• Mercredi 22 septembre	14
• Jeudi 23 septembre	18
• Vendredi 24 septembre	27

RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS DU MERCREDI 22 SEPTEMBRE

SESSIONS PARALLÈLES

• SP1-T Microbiologie des aliments / Microbiologie clinique Assemblages microbiens : quelles utilisations ?	33
• SP2-T Microbiologie clinique / Pathogénie Mycobactéries - One Health	37
• SP3 Pathogénie  Signaling: do you have a message?	41
• SP4 Pathogénie  Role of bacterial membranes vesicles and secretion systems	46
• SP5-T Anti-microbiens & résistance / Mycologie / Virologie Mécanismes moléculaires de la résistance aux anti-infectieux	51
• SP6-T Parcours Charles Mérieux - Biosécurité / Environnement Dynamique des réservoirs environnementaux	56

SESSIONS PLÉNIÈRES

• Audition Prix de thèse	61
• Conférences plénières	67

RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS DU JEUDI 23 SEPTEMBRE

SESSIONS PARALLÈLES

• SP7 Microbiologie des aliments Connaissance et maîtrise de l'altération microbiologique des aliments	71
• SP8-T Anti-microbiens & résistance / Microbiologie clinique / Virologie Modélisation - Flux de microbes et de gènes de résistance & établissements de santé (en association avec la SF2H)	76
• SP9 Mycologie Mécanismes pathogéniques des agents de mycoses humaines (en association avec la SFMM)	81

.../...

• SP10	Pathogénie	
	Interactions moléculaires hôtes/pathogènes	85
• SP11-T	Anti-microbiens & résistance / Microbiologie clinique	
	Nouvelles recommandations pour l'antibiogramme : actualités et retours d'expérience (en association avec le Col.BVH)	90
• SP12	Environnement	
	Explorer la diversité microbienne environnementale : nouvelles perspectives ?	93

SESSIONS PARALLÈLES

• SP13	Microbiologie des aliments	
	Sécurité microbiologique de la chaîne alimentaire	98
• SP14-T	Environnement / Microbiologie clinique	
	Biofilm : une session qui va vous coller !	103
• SP15	Mycologie	
	Plasticité génomique et fonctionnelle	108
• SP16-T	Pathogénie / Mycologie	
	Pathogénie comparée (plantes, animaux, être humain) (en association avec la SFMM)	112
• SP17	Anti-microbiens & résistance	
	Optimisation des anti-microbiens	116
• SP18	Virologie	
	Génomique et transcriptomique, de nouvelles approches en virologie	121

SESSIONS PARALLÈLES



• SP19-T	Microbiologie des aliments / Microbiologie clinique	
	Bio-contrôles : de la sécurité du consommateur à la santé du patient	125
• SP20	Virologie	
	Défenses cellulaires aux infections (en association avec l'ACAI)	129
• SP21-T	Parcours Charles Mérieux – Biosécurité / Microbiologie clinique	
	Anciens et nouveaux risques biologiques : où en sommes-nous en 2021 ?	133
• SP22	Pathogénie	
	ARN régulateurs	138
• SP23	Anti-microbiens & résistance	
	Résistome et WGS : de la souche au prélèvement clinique	143
• SP24	Biotechnologies microbiennes With the support of ANR 16-CE04-0003 Thermomic 	
	New energy-based modelling approaches for engineering microbiomes (in association with FFBiotech)	147

SESSIONS PARALLÈLES


• SP25	Session Histoire	152
• SP26	Session Prix poster Jeunes Microbiologistes	154

RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS DU VENDREDI 24 SEPTEMBRE

SESSIONS PARALLÈLES

- SP27 **Microbiote**
Microbiote et réponse immune (en association avec la SFI) 165
 - SP28-T **Virologie** / **Aliments**
Virus entériques : persistance, infectiosité et approches novatrices
(en association avec la SFV) 169
 - SP29 **Microbiologie clinique**
Épidémiologie et susceptibilité aux infections 173
 - SP30-T **Pathogénie** / **Microbiologie clinique** 
Tolerance, persistence, resistance... 178
 - SP31 **Omic(s) et autres méthodes d'études**
Nouvelle génération d'outils en microbiologie 183
 - SP32-T **Microscopy** / **Omic(s) et autres méthodes d'études** 
New contributions of microscopy: journey into the infinitely small (in association with SFμ) 187
-
- **Conférence plénière** 191

SESSIONS PARALLÈLES

- SP34 **Virologie**
Réponse de l'hôte à l'infection virale 192
- SP35-T **Environnement** / **Biotechnologies microbiennes**
Dynamiques microbiennes : de la cellule à la communauté microbienne
(en association avec la FFBiotech) 196
- SP36 **Pathogénie** 
Recent advances in pathophysiology and treatment of infectious diseases 201
- SP37 **Innovations pédagogiques**
Innovations pédagogiques dans l'enseignement de la microbiologie :
comment booster votre enseignement ? 206
- SP38 **Anti-microbiens & résistance**
Peptides antimicrobiens (en association avec la SFPAM et le GTPAM) 210

RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES

• A-P	Autres	217
• AR-P	Anti-microbiens & résistance	230
• BM-P	Biotechnologies microbiennes	257
• EE-P	Environnement et Écologie	265
• M-P	Mycologie	285
• MA-P	Microbiologie des aliments	287
• MC-P	Microbiologie clinique	325
• MI-P	Microbiotes et interactions microbiennes	345
• OM-P	Omic(s) et autres méthodes d'études	355
• PR-P	Pathogénie et réponse de l'hôte	370
• RS-P	Risques et sécurité biologiques	394
• SC-P	SARS-CoV-2	398
• SP26-P	Session Prix poster Jeunes Microbiologistes	404
• V-P	Virologie	414
• VR-P	Vaccination et réponse immune	420
<hr/>		
•	Liste des posters	421
<hr/>		
•	Liste des participants	431
<hr/>		
•	Liste des sponsors et exposants	457
<hr/>		
•	Plan de l'exposition & Liste des stands	461
<hr/>		
•	Plan de situation des hôtels	462

Société Française de Microbiologie
MICROBES 2021
 16^e Congrès National de la SFM
 Cité des Congrès de NANTES

MERCREDI 22 SEPTEMBRE

09h00-12h00	Atelier de microscopie confocale et super résolution, appliqué à l'imagerie du biofilm bactérien jusqu'à la cellule unique		Salle i
10h00-12h30	2 ^e Forum "Carrières en Microbiologie" pour les jeunes microbiologistes		Salle KL
11h30-12h30	Réunion des responsables de sections		Salle GH
12h30-13h30	Accueil des participants		
13h30-15h00	SP1 - T - MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS / MICROBIOLOGIE CLINIQUE	SP3 - PATHOGÉNIE	SP4 - PATHOGÉNIE
13h30-15h00	SP2 - T - MICROBIOLOGIE CLINIQUE / PATHOGÉNIE	SP3 - PATHOGÉNIE	SP4 - PATHOGÉNIE
13h30-15h00	Assemblages microbiens : quelles utilisations ?	Signaling: do you have a message ?	Role of bacterial membranes vesicles and secretion systems
15h00-15h45	ATLANT	Salle J	Audit.
15h45-17h15	Pause café - Visite exposants - Posters		
17h15-19h30	AUDITION Prix de thèse		
19h30	3 conférences plénières - <i>Karine Alain, Marie-Agnès Jacques et Odile Launay</i>		

JEUDI 23 SEPTEMBRE - MATINÉE

07h45-08h30	Accueil des participants		
08h30-10h00	SP7 - MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS	SP9 - MYCOLOGIE	SP10 - PATHOGÉNIE
08h30-10h00	SP8 - T - ANTI-MICROBIENS & RÉSISTANCE / MICROBIOLOGIE CLINIQUE / VIROLOGIE	SP9 - MYCOLOGIE	SP10 - PATHOGÉNIE
08h30-10h00	Connaissance et maîtrise de l'altération microbiologique des aliments	Mécanismes pathogéniques des agents de mycoses humaines (SFMM)	Interactions moléculaires hôtes/pathogènes
10h00-10h45	Salle GH	Salle i	Audit.
10h45-12h15	SP13 - MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS	SP15 - MYCOLOGIE	SP16 - T - PATHOGÉNIE / MYCOLOGIE
10h45-12h15	SP14 - T - ENVIRONNEMENT / MICROBIOLOGIE CLINIQUE	SP15 - MYCOLOGIE	SP16 - T - PATHOGÉNIE / MYCOLOGIE
12h15-13h55	Sécurité microbiologique de la chaîne alimentaire	Biofilm : une session qui va vous coller !	Pathogénie comparée (plantes, animaux, être humain) (SFMM)
12h15-13h55	Salle GH	Audit.	Salle i
12h15-13h55	Déjeuner - Visite exposants - Posters		

JEUDI 23 SEPTEMBRE - APRÈS-MIDI			
Parole aux industriels Audit.			
Changement de salle			
13h55-14h55	SP19 - T - MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS / MICROBIOLOGIE CLINIQUE	SP20 - VIROLOGIE	SP21 - T - PARCOURS CHARLES MÉRIEUX - BIOSECURITÉ / MICROBIOLOGIE CLINIQUE
14h55-15h00			
15h00-16h30	Bio-contrôles : de la sécurité du consommateur à la santé du patient	Défenses cellulaires aux infections (ACAI)	Anciens et nouveaux risques biologiques : où en sommes-nous en 2021 ?
	ATLANT	Salle KL	Salle i
16h30-17h15	Pause café - Visite exposants - Posters M-R2		
16h45-17h15	SESSION POSTERS 1 - Numéros pairs M-R2		
17h15-18h00	Parole aux industriels Audit.		
18h00-18h45	Symposium bioMérieux Audit.		
18h45-19h30	SP25 - SESSION HISTOIRE - Jean Freney et Antoine Andremont ATLANT		
19h30	Soirée du congrès + annonce des prix M-R2		
SP26 - SESSION PRIX POSTER JEUNES MICROBIOLOGISTES Audit.			
VENDREDI 24 SEPTEMBRE			
Accueil des participants GHalle			
07h45-08h30			
08h30-10h00	SP27 - MICROBIOTE	SP28 - T - VIROLOGIE / ALIMENTS	SP29 - MICROBIOLOGIE CLINIQUE
	Microbiote et réponse immunitaire (SFI)	Virus entériques : persistance, infectiosité et approches novatrices (SFV)	Épidémiologie et susceptibilité aux infections
	Salle KL	Salle i	Salle GH
10h00-11h00	Pause café - Visite exposants - Posters M-R2		
10h15-11h00	SESSION POSTERS 2 - Numéros impairs M-R2		
11h00-11h45	Symposium Shionogi ATLANT		
11h45-12h30	1 conférence plénière - Joël Dore Audit. - Diffusion en direct Salle i		
12h30-12h45	Présentation du groupe de travail « Microbiomes et applications cliniques » Audit. - Diffusion en direct Salle i		
12h45-14h00	Déjeuner - Visite exposants - Posters M-R2		
14h00-15h30	SP34 - VIROLOGIE	SP35 - T - ENVIRONNEMENT / BIOTECHNOLOGIES MICROBIENNES	SP36 - PATHOGÉNIE
	Réponse de l'hôte à l'infection virale	Dynamiques microbiennes : de la cellule à la communauté microbienne (FFBiotech)	Innovations pédagogiques dans l'enseignement de la microbiologie : comment booster votre enseignement ?
	Salle KL	Audit.	ATLANT
			SP37 - INNOVATIONS PÉDAGOGIQUES
			SP38 - ANTI-MICROBIENS & RÉSISTANCE
			Peptides antimicrobiens (SFPAM) (GT PAM)
			Salle i
			Salle GH
			Clôture du congrès
			SP31 - OMIC(S) ET AUTRES MÉTHODES D'ÉTUDES
			Nouvelle génération d'outils en microbiologie
			Audit.
			ATLANT
			SP32 - T - MICROSCOPY / OMIC(S) ET AUTRES MÉTHODES D'ÉTUDES
			New contributions of microscopy: journey into the infinitely small (SFμ)
			Salle J
			Symposium BD Audit.



PROGRAMME - MERCREDI 22 SEPTEMBRE

09:00-12:00	Atelier de microscopie confocale et super résolution, appliqué à l'imagerie du biofilm bactérien jusqu'à la cellule unique	<i>Salle i - Foyer Haut - Niv. 2</i>
10:00-12:30	2^e Forum "Carrières en Microbiologie" pour les jeunes microbiologistes	<i>Salle KL - Foyer Haut - Niv. 4</i>
11:30-12:30	Réunion des responsables de sections	<i>Salle GH - Foyer Haut - Niv. 2</i>
12:30-13:30	Accueil des participants	<i>Grande Halle - Niv. 0</i>

SESSIONS PARALLÈLES

13:30-15:00	SP1-T Microbiologie des aliments / Microbiologie clinique	<i>Club Atlantique - Niv. 2</i>
<p>Assemblages microbiens : quelles utilisations ? <i>Modérateurs : Régine Talon et Pascal Bonnarme</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Approches permettant d'obtenir des assemblages microbiens fonctionnels : les produits fermentés comme modèle d'étude <i>Pascal Bonnarme (INRAE, Thiverval-Grignon)</i> • Suivi rapide de la composition du microbiote par cytométrie en flux et culturomique ciblée d'espèces d'intérêt <i>Vincent Thomas (Bioaster, Paris)</i> <p><i>Communications orales courtes</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Transcriptomic and proteomic response of a <i>Liquorilactobacillus mali</i> strain from cider to a lytic phage infection <i>Pierre Ledormand - UR ABTE, Normandie Univ, UNICAEN, UNIROUEN, Caen, France</i> • Évolution expérimentale d'un consortium de 3 souches de <i>L. lactis</i> dans le lait : modélisation de la dynamique des souches reflétant des interactions métaboliques <i>Marie-Aurore Caillaud - Toulouse Biotechnology Institute, Toulouse, France</i> 		
13:30-15:00	SP2-T Microbiologie clinique / Pathogénie	<i>Salle GH - Foyer Haut - Niv. 2</i>
<p>Mycobactéries - One Health <i>Modérateurs : Alain Baulard et Marie Kempf</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Histoire naturelle de l'infection par <i>Mycobacterium ulcerans</i> <i>Estelle Marion (Inserm, Angers)</i> • Intérêt des inhibiteurs de bêta-lactamases pour la thérapeutique anti-mycobactérienne <i>Jean-Luc Mainardi (Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris)</i> <p><i>Communications orales courtes</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Étude microbiologique et phylogénétique des souches de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex par séquençage du génome complet <i>Typhaine Billard-Pomares - Service de Microbiologie, Hôpital Avicenne, Bobigny, France</i> • Mycobacteriophage-antibiotic synergism promotes enhanced bacterial clearance of drug resistant <i>Mycobacterium abscessus</i> in zebrafish <i>Laurent Kremer - CNRS UMR9004, Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, Montpellier, France</i> 		

... / ...

- 13:30-15:00 **SP3** **Pathogénie**  *Salle J - Foyer Haut - Niv. 4*
- Signaling: do you have a message?**
Chairs: Jean-Louis Herrmann and Typhaine Brual
- **StkP-mediated signaling in pneumococcal cell division**
Christophe Grangeasse (CNRS, Lyon)
- Short oral presentations*
- **Uncovering the role of ComR, a protein involved in competence regulation in the human pathogen *Legionella pneumophila***
Kévin Picq - Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France
 - **FabT, a transcriptional regulator involved in *Streptococcus pyogenes* virulence**
Clara Lambert - Bactéries et Périnatalité, Institut Cochin, Paris, France
 - **Détermination du régulon de CcpA, un régulateur pléiotropique chez le pathogène *Streptococcus agalactiae***
Anne-Emmanuelle Roux - ISP, Université de Tours, INRAe, Tours, France
 - **The role of the transcriptional regulator AgrA of *Staphylococcus lugdunensis* in the oxidative stress response**
Marion Aubourg - U2RM, Université de Caen Normandie, Caen, France
-
- 13:30-15:00 **SP4** **Pathogénie**  *Salle i - Foyer Haut - Niv. 2*
- Role of bacterial membranes vesicles and secretion systems**
Chairs: Olivier Neyrolles and Carmen Buchrieser
- **Trans-kingdom RNA signaling by small regulatory *Legionella* RNAs**
Carmen Buchrieser (Institut Pasteur, Paris)
- Short oral presentations*
- **Outer membrane vesicles produced by pathogenic strains of *Escherichia coli* block autophagic flux and exacerbate inflammasome activation**
Eric Oswald - IU1220, INSERM, Toulouse, France
 - **Environmental Plasticity of the RNA Content of *Staphylococcus aureus* Extracellular Vesicles**
Brenda Silva Rosa da Luz - STLO, INRAe, Institut Agro, Rennes, France
 - **Study of the contribution of the type IVB secretion system to the pathogenicity of *Yersinia pseudotuberculosis* causing the Far East scarlet-like fever**
Marion Lemarignier - Unité de Recherche Yersinia, Département de Microbiologie, Institut Pasteur, Paris, France
 - **Les protéines sécrétées par le système ESX-4 de *Mycobacterium abscessus* (Mabs) : leur immunogénicité et leur rôle dans la virulence**
Marion Lagune - U1173 Infection et Inflammation, UVSQ / INSERM, Montigny-le-bretonneux, France
-
- 13:30-15:00 **SP5-T** **Anti-microbiens & résistance** / **Mycologie** / **Virologie** *Auditorium 450
Foyer Haut - Niv. 2*
- Mécanismes moléculaires de la résistance aux anti-infectieux**
Modératrices : Mathilde Lescat et Marie-Frédérique Lartigue
- Communications orales courtes*
- **YraN : un nouvel acteur impliqué dans la transformation naturelle des bactéries gram négatives**
Léo Hardy - Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI U1111), Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France

... / ...

- **Toutes les données sur les intégrons de résistance aux antibiotiques : INTEGRALL database**
Thomas Jové - UMR1092 / RESINFIT, INSERM / Université de Limoges, Limoges, France
- **Role of the SOS response in the conjugative transfer and genome maintenance of multidrug resistance Salmonella Genomic Island 1**
Marine C. Pons - Infectiologie et Santé Publique, INRAe, Nouzilly, France
- **Deep mutational scanning of essential genes in bacteria using Cas9-mediated recombineering**
Alaksh Choudhury - IAME, U1137, INSERM, Paris, France
- **New fluorescent chemical probes targeting bacterial efflux to early detect and fight the first barrier in gram-negative bacteria antibiotic resistance**
Johan Revol-Tissot - UMR MD1, U-1261, MCT, INSERM, IRBA, Aix-Marseille Universités, Marseille, France

13:30-15:00 **SP6-T** **Parcours Charles Mérieux - Biosécurité** / **Environnement** *Salle KL - Foyer Haut - Niv. 4*

Dynamique des réservoirs environnementaux

Modérateurs : *Sonia Burrel et Théodore Bouchez*

- **Les hydrosystèmes : des intégrateurs de l'antibiorésistance ?**
Estelle Jumas-Bilak (Université de Montpellier, Montpellier)

Communications orales courtes

- **Flux journalier de SARS-CoV-2 dans les eaux usées : un des indicateurs opérationnels pour la gestion de la crise sanitaire au Luxembourg**
Henry-Michel Cauchie - Environmental Microbiology and Biotechnology, Luxembourg Institute of Science and Technology, Belvaux, Luxembourg
- **Séquençage de génomes complets du SARS-CoV-2 dans les eaux usées : de l'optimisation du séquençage par technologie Oxford Nanopore à la surveillance des variants à Nantes**
Laure Barbé - Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie (LSEM), IFREMER, Nantes, France
- **Optimisation des capteurs passifs pour la détection du SARS-CoV-2 en milieu aquatique : application dans les eaux usées**
Françoise Vincent-Hubert - SG2M/LSEM, IFREMER, Nantes, France
- **The active resistance mobilome in hospital and urban wastewater biofilms**
Elena Buelow - University Grenoble Alpes, CNRS, Grenoble INP, TIMC-IMAG, Institut Jean Roget, Grenoble, France

15:00-15:45 **Pause café - Visite de l'exposition - Posters** *Mezzanine + R2 - Niv. 2*

SESSION PLÉNIÈRE

15:45-17:15 **Audition Prix de thèse** *Auditorium 450 + diffusion en direct : Salle i Foyer Haut - Niv. 2*

Modérateurs : *Maxime Pichon et Gérard Lina*

- **Intracellular replication and persistence strategies of the Q fever pathogen *Coxiella burnetii***
Mélanie Burette - CNRS IRIM, Montpellier, France
- **Rôle de l'inflammation locale dans le développement des lésions causées par *Mycobacterium ulcerans* et sa toxine**
Mélanie Foulon - Université de Genève, Genève, Suisse
- **Impact des ARN génomiques des Entérovirus-B tronqués en région 5' non-codante sur l'activation de la réponse interféron de type I dans les cardiomyocytes humains**
Marie Glenet - UFR Médecine de Reims, Reims, France

... / ...

- **Étude du microbiote de l'environnement de l'usine agroalimentaire et de son impact sur la qualité et la sécurité des aliments**
Aurélien Maillet - Mars Global Services Laboratories, Aimargues, France
- **Loss of heterozygosity: Its impact on generating and shaping genetic variations in the human fungal pathogen *Candida albicans***
Timéa B. Marton - Institut Pasteur, Paris, France
- **Les Ruminococcines C, une nouvelle famille de sactipeptides comme alternatives aux antibiotiques conventionnels**
Clarisse Roblin - Aix Marseille Université, Marseille, France

CONFÉRENCES PLÉNIÈRES

- 17:15-18:00 *Modératrice : Monika Coton* *Auditorium 450 + diffusion en direct : Salle i
Foyer Haut - Niv. 2*
- **La biosphère invisible des fonds océaniques : diversité, physiologie, écologie et potentiel biotechnologique**
Karine Alain (CNRS, Le Conquet)
-
- 18:00-18:45 *Laurent Andreoletti*
- **Bilan de la vaccination anti-COVID 19 : quels vaccins pour quelle efficacité ?**
Odile Launay (Université Paris-Descartes, Paris)
-
- 18:45-19:30 *Modérateur : Alain Sarniguet*
- **La crise sanitaire engendrée par *Xylella fastidiosa* : une bactérie phytopathogène émergente en Europe**
Marie-Agnès Jacques (INRAe, Beaucauzé)
-
- 19:30 **Aliments et microbiologie : travaux pratiques** *Mezzanine + R2 - Niv. 2*
Apéritif microbiologique

PROGRAMME - JEUDI 23 SEPTEMBRE

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

Grande Halle - Niv. 0

SESSIONS PARALLÈLES

08:30-10:00 **SP7 Microbiologie des aliments**

Salle GH - Foyer Haut - Niv. 2

Connaissance et maîtrise de l'altération microbiologique des aliments

Modératrices : Régine Talon et Marie-France Pilet

- L'altération microbiologique des produits de la mer : où en est-on ?

Marie-France Pilet (INRAe Oniris - UMR SECALIM, Nantes) et

Françoise Leroi (Ifremer, Nantes)

Communications orales courtes

- Application de l'approche PathComDim pour la modélisation des liens de causalité entre microbiote, volatilome et profils d'odeurs associés à l'altération de la viande
Sandrine Guillou - SECALIM, INRAe, Oniris, Nantes, France
- Lactobacillus sp. et la piqure acroléique dans les cidres: nouvelles perspectives sur le métabolisme du glycérol
Boris Misery - Normandie Univ, UNICAEN, UNIROUEN, ABTE, CAEN, France
- Quantification des cellules viables de *Brochothrix thermosphacta* dans le saumon fumé par une nouvelle méthode de rpoC-PMA-qPCR
Agnès Bouju-Albert - UMR 1014 Secalim, Oniris, INRAe, Nantes, France
- Sensibilité comparée des spores bactériennes et fongiques à la lumière-pulsée et au rayonnement UV-C à 254 nm
Imed Dorbani - UMR 408 SQPOV, INRAe, Avignon Université, Avignon, France

08:30-10:00 **SP8-T Anti-microbiens & résistance / Microbiologie clinique / Virologie**

Salle i
Foyer Haut - Niv. 2

Modélisation - Flux de microbes et de gènes de résistance & établissements de santé (en association avec la SF2H)

Modérateurs : Didier Lepelletier et Agathe Capitaine

- Modélisation de la transmission intra-hospitalière des entérocoques résistants aux glycopeptides selon différentes mesures barrières
Stéphanie Deboscher (SF2H), (Hôpitaux universitaires de Starsbourg, Starsbourg)
- Infections nosocomiales en établissement de santé : gare aux virus
Sylvie Pillet (SFM), (CHU, Saint-Étienne)

Communications orales courtes

- Suivi d'une épidémie de *Klebsiella pneumoniae* NDM-1 : de l'épidémiologie à l'analyse génétique
Sylvain Meyer - Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Limoges, Limoges, France
- Outbreak of linezolid-resistant *S. aureus*/CoNS in a French hospital: evidence of clonal spread and interspecies transfer of cfr-positive plasmid
Frédéric Laurent - Hospices Civils de Lyon, Institut des Agents Infectieux, Department of Bacteriology, French National Reference Centre for Staphylococci, Lyon, France
- De la comparaison d'antibiogrammes à la modélisation évolutive pour détecter une transmission bactérienne entre patients
Florian Peron - CIRI, INSERM, CNRS, ENS Lyon, Université de Lyon, Lyon, France

... / ...

08:30-10:00

SP9 Mycologie

Salle J - Foyer Haut - Niv. 4

Mécanismes pathogéniques des agents de mycoses humaines*(en association avec la SFMM)*

Modérateurs : Jean-Philippe Bouchara et Jean-Pierre Gangneux

- **Dermatophytes zoonotiques : de l'expression clinique aux mécanismes pathogéniques**
Jacques Guillot (Oniris, ENV, Nantes)
- **Candida albicans et le franchissement de la barrière intestinale**
Frédéric Dalle (SFMM), (CHU, Dijon)

Communications orales courtes

- **Étude du rôle physiologique des structures amyloïdes chez la levure pathogène *Candida albicans***
Thierry Mourer - Département de mycologie, Institut Pasteur, Paris, France
- **Algorithme de prise en charge des teignes de l'enfant après l'arrêt de la commercialisation de la griséofulvine en France**
Jean-Pierre Gangneux - Parasitologie-Mycologie, CHU de Rennes, Univ. Rennes, Inserm, Institut de recherche en santé, environnement et travail - UMR_S 1085, Rennes, France



08:30-10:00

SP10 Pathogénie

Auditorium 450 - Foyer Haut - Niv. 2

Interactions moléculaires hôtes/pathogènes

Modérateurs : Eric Oswald et Sophie Jarraud

- **Les lipides produits par le microbiote : acteurs clés de l'homéostasie intestinale**
Nicolas Cenac (Inserm, Toulouse)

Communications orales courtes

- **The cytotoxic necrotizing factor 1 hinders the tumorigenesis induced by colibactin-producing *Escherichia coli* in ApcMin/+ mice**
Héloïse Chat - M2ISH UMR INSERM 1071, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France
- **Étude du rôle protecteur de CFTR dans la résistance innée à *Staphylococcus aureus***
Audrey Bernut - UMR 1173, Infection & inflammation, INSERM/UVSQ, Montigny-le-Bretonneux, France
- **Role of innate intraepithelial lymphocytes in the immune protection against *Cryptosporidium***
Fatima Hariss - U1286 - INFINITE - Institute for Translational Research in Inflammation, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Lille, France
- **Identification of a novel nucleomodulin, LegK4 from *Legionella pneumophila*, and its metaeffector**
Margaux Pillon - CIRI, Inserm U1111, Université Lyon 1, Villeurbanne, France

08:30-10:00

SP11-T Anti-microbiens & résistance / Microbiologie clinique

Club Atlantique - Niv. 2

Nouvelles recommandations pour l'antibiogramme : actualités et retours d'expérience *(en association avec le Col.BVH)*

Modérateurs : Gérard Lina et Marie-Frédérique Lartigue

- **CA SFM 2021, l'année des grands changements**
Frederic Schramm (Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg)
- **Retour d'expériences du réseau du Col.BVH sur les nouvelles recommandations**
Christian Cattoen (Centre Hospitalier, Valenciennes)

Communication orale courte

- **Catégorisation « Sensible à Forte Posologie (SFP) » : importance de la communication pour le choix thérapeutique**
Auréli Beaudron - Microbiologie, CH Le Mans, Le Mans, France



... / ...


- 08:30-10:00 **SP12 Environnement** *Salle KL - Foyer Haut - Niv. 4*
- Explorer la diversité microbienne environnementale : nouvelles perspectives ?**
- Chairs: Théodore Bouchez and Yann Héchard*
- Communautés microbiennes des stations d'épuration : de l'écologie moléculaire à l'écologie fonctionnelle
Emilie Muller (CNRS, Strasbourg)
- Communications orales courtes*
- A novel network-based approach for deep probing of microbial dark matter in metagenomic samples
Duncan Sussfeld - UMR 7205 Institut de Systématique, Evolution, Biodiversité (ISYEB), Sorbonne Université, CNRS, MNHN, EPHE, Université des Antilles, Paris, France
 - Microbial diversity as a barrier to ARG invasion in the environment
Elisa Catão - LCPME, Université de Lorraine, CNRS, Nancy, France
 - Les phoques : une source potentielle de contamination fécale bactérienne et virale du littoral ?
Michèle Gourmelon - DYNECO/PELAGOS, IFREMER, Plouzané, France
 - Occurrence et dissémination des *e. coli* STEC dans les eaux de surface exemple de la Moselle et de l'Orne
Stéphanie Etienne - LHN Microbiologie des eaux, ANSES, Nancy, France

- 10:00-10:45 **Pause café - Visite de l'exposition - Posters** *Mezzanine + R2 - Niv. 2*

SESSIONS PARALLÈLES

- 10:45-12:15 **SP13 Microbiologie des aliments** *Salle GH - Foyer Haut - Niv. 2*
- Sécurité microbiologique de la chaîne alimentaire**
- Modérateurs : Michel Federighi et Pauline Kooch*
- TIAC & coupables : retour aux sources... d'attribution !
Pauline Kooch (ANSES, Maisons-Alfort)
- Communications orales courtes*
- Physiologie d'un *Escherichia coli* O157:H7 au cours de la digestion gastrique d'une viande hachée de bœuf
Sabine Leroy - MEDIS, UCA, INRAe, Clermont-Ferrand, France
 - Détection et caractérisation de souches de *Clostridioides difficile* d'origines alimentaires et animales en France
Olivier Firmesse - Laboratoire de Sécurité des Aliments, Anses, Maisons-Alfort, France
 - Réponses moléculaires du pathogène *Campylobacter jejuni* aux stress inspirés du procédé d'abattage du poulet
Nabila Haddad - UMR INRAe SECALIM, ONIRIS, Nantes, France
 - Quels sont les impacts de conditions abiotiques sur la croissance cellulaire de deux pathogènes alimentaires *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* 0157:H7 ?
Valérie Stahl - Aerial ITAI, Illkirch, France

... / ...

- 10:45-12:15 **SP14-T** Environnement / Microbiologie clinique Auditorium 450 - Foyer Haut - Niv. 2
- Biofilm : une session qui va vous coller !**
 Modérateurs : Brigitte Lamy et Jean-Marc Ghigo
- Évolution expérimentale de la formation de biofilm chez *Escherichia coli*
 Jean-Marc Ghigo (Institut Pasteur, Paris)
- Communications orales courtes*
- *Staphylococcus aureus* biofilm formation in response to bone factors
 Fabien Lamret - EA 4691 BIOS, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France
 - Composition et contribution de la couche S aux propriétés de surface de *Bacillus cereus* AH187
 Cécile Boutonnet - UMR 408 SQPOV (INRAE), Université Avignon, Avignon, France
 - Le mode de vie en biofilm renforce les activités probiotiques des lactobacilles
 Aurélie Rieu - UMR PAM, Université de Bourgogne, Dijon, France
 - Spatial organization of food pathogens *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* in jellified media
 Cédric Saint Martin - MICALIS, INRAE, Jouy-en-Josas, France
-
- 10:45-12:15 **SP15** Mycologie Salle J - Foyer Haut - Niv. 4
- Plasticité génomique et fonctionnelle**
 Modérateurs : Marie-Noëlle Rosso et Théo Ghelfenstein-Ferreira
- Alternative ends in *Cryptococcus*
 Guilhem Janbon (Institut Pasteur, Paris)
 - Mining the fungal biodiversity for novel bioactive compounds
 Jerome Collemare (Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands)
- Communications orales courtes*
- La phylosystémique : annotation phylogénétique et comparaison des réseaux d'interactions biologiques dans une perspective évolutive
 Hugo Bonnefous - ISYEB (MNHN), Paris, France
 - Tester la pression de sélection à l'échelle du gène en prenant en compte l'effet des mutations
 Lucile Vigué - UMR 1137, IAME, Université de Paris, INSERM, Paris, France
-
- 10:45-12:15 **SP16-T** Pathogénie / Mycologie Salle i - Foyer Haut - Niv. 2
- Pathogénie comparée (plantes, animaux, être humain)**
 (en association avec la SFMM)
- 
- Modérateurs : Alain Sarniguet et Sarah Dellière
- Adaptation et pathogénie de *Xanthomonas* dans sa niche végétale
 Laurent Noël (CNRS, Castanet-Tolosan)
 - Insights into the pathogenic lifestyle of *Alternaria brassicicola*, a necrotrophic fungal pathogen of the Brassicaceae family
 Philippe Simoneau (Université d'Angers, Angers)
- Communications orales courtes*
- Transposable elements mediate a rapid phenotypic switch between virulent and avirulent states in the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*
 Bo-Hyung Lee - VIM, INRAE, Jouy-en-Josas, France
 - Rôle de l'antigène O dans la reconnaissance d'*Escherichia coli* par le système immunitaire inné et adaptatif des bovins
 Pierre Germon - INRAE, Nouzilly, France
- ... / ...

- 10:45-12:15 **SP17** **Anti-microbiens & résistance** Club Atlantique - Niv. 2
- Optimisation des anti-microbiens**
 Modérateur : Maxime Pichon
- Optimisation de l'utilisation des anti-microbiens : faire plus ou faire mieux ?
 Julien Buyck (Université de Poitiers, Poitiers)
- Communications orales courtes*
- NAD kinase: an original bacterial target for antibiotic development
 Clarisse Leseigneur - Unité de Recherche Yersinia, Institut Pasteur, Paris, France
 - Innovative antimicrobial strategy based on Targeted-Antibacterial-Plasmids (TAPs) combining bacterial conjugation and CRISPR systems
 Sarah Bigot - MMSB-UMR5086, CNRS-Université Lyon, Lyon, France
 - An expected antibacterial property of decellularized Wharton's jelly derived matrix: an innovative matrix for tissue engineering
 Marie Dubus - EA4691 BIOS, Univ. de Reims Champagne-Ardenne, Laboratoire BIOS, Reims, France
 - Activité antibactérienne d'extraits issus de macromycètes méditerranéens sur une collection de souches cliniques à Gram positif
 Alessandra Occhialini - IRIM, Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, UMR9004, Université de Montpellier et CNRS, Montpellier, France

- 10:45-12:15 **SP18** **Virologie** Salle KL - Foyer Haut - Niv. 4
- Génomique et transcriptomique, de nouvelles approches en virologie**
 Modérateurs : Sonia Burrel et Gaëtan Ligat
- Acquisition de la résistance aux antiviraux chez les virus *herpes simplex*
 David Boutolleau (AP-HP, Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris)
- Communications orales courtes*
- Génétique des sous-populations virales intra tissulaires au cours des néphropathies associées au polyomavirus BK après transplantation rénale
 Louise Manceau - Laboratoire de Virologie, CHU Nantes, Nantes, France
 - Étude transcriptomique hôte/virus comparative dans le cas des infections génitales par les virus *herpes simplex 1* (HSV-1) et 2 (HSV-2)
 Sonia Burrel - AP-HP, Sorbonne Université GHU Pitié-Salpêtrière, Inserm UMR_S 1136 équipe THERAVIR - iPLESP, Paris, France
 - Analyse métagénomique shotgun de liquides broncho-alvéolaires après transplantation pulmonaire
 Sarah Marchand - Laboratoire de Virologie, CHU Nantes, Nantes, France








- 12:15-13:55 **Déjeuner** Mezzanine + R2 - Niv. 2
Visite de l'exposition - Posters

SESSION PLÉNIÈRE

- 13:55-14:55 **Parole aux industriels** Auditorium 450 - Foyer Haut - Niv. 2
- Modérateurs : Jean-Louis Herrmann et Marie-Frédérique Lartigat
- Molzym : Approche moléculaire large spectre pour l'identification des agents infectieux bactériens et fongiques, directement à partir des échantillons cliniques
 Présentation & impact clinique - Laureen Ferchaud (Molzym)



... / ...

- **Fluidigm : Biomark HD : l'outil idéal pour la détection multi-cibles de pathogènes et augmenter votre débit qPCR**
Aurélié Bouchareine (Fluidigm) 
- **bioMérieux : VIDAS® TB-IGRA, nouvelle solution 100% automatisée pour la détection de la tuberculose latente et active**
Camille Pease (bioMérieux) 
- **bioMérieux : Un pas en avant pour la spectrométrie de masse**
Victoria Girard (bioMérieux) 
- **Agilent : Découvrez les technologies Agilent pour vos recherches en Microbiologie**
Jérôme Darakdjian (Agilent Technologies) 
- **Interscience : Automatisation de la microbiologie pasteurienne**
Nicolas Guillot (Interscience) 
- **Biocentric / Bruker : Nos solutions d'identification microbienne et de diagnostic rapide**
Thierry Poumeyrol (Biocentric) et Renaud Joly (Bruker) 
- **Perkin Elmer : Vaincre l'antibiorésistance : Quand la microscopie à haut contenu montre la voie**
Julian Bursztyka (PerkinElmer) 

14:55-15:00 **Changement de salle**

SESSIONS PARALLÈLES

- 15:00-16:30 SP19-T** **Microbiologie des aliments** / **Microbiologie clinique** *Club Atlantique - Niv. 2*
- Bio-contrôles : de la sécurité du consommateur à la santé du patient**
Modérateurs : Hervé Prévost et Mathilde Lescat
- **Transplantation de microbiote fécal : où en sommes-nous en clinique en 2021 ?**
Victoire De Lastours (Hôpital Beaujon - APHP, Paris)
- Communications orales courtes*
- **Assembling immunomodulatory strains of *Propionibacterium freudenreichii*, *Lactobacillus delbrueckii* and *Streptococcus thermophilus* to produce an anti-inflammatory Emmental cheese**
Gwénaél Jan - UMR STLO, INRAe, Institut Agro, Agrocampus Ouest, INRAe, Rennes, France
 - **Could cereal-based fermented food compete with animal-based foods as a vitamin B12 source?**
Christèle Humblot - QualiSud, IRD, Montpellier, France
 - **Thermophilic strains of *Bacillus* sp. from the Coordinated Collection of Moroccan Micro-organisms (CCMM) as new fibre-degrading probiotic candidates**
Serigne Inssa Ngom - Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Micalis Institute, Jouy-en-Josas, France
-
- 15:00-16:30 SP20** **Virologie** *Salle KL - Foyer Haut - Niv. 4*
- Défenses cellulaires aux infections** *(en association avec l'ACAI)*
Modérateurs : Laurent Andreoletti et Florence Margottin 
- **Facteurs de restriction et infections virales**
Jean-Pierre Vartanian (SFM), (Institut Pasteur, Paris)
 - **HUSH, un nouveau protagoniste de la bataille moléculaire entre facteurs de restriction et VIH**
Florence Margottin (ACAI), (Institut Cochin - Inserm, Paris)

... / ...

Communications orales courtes

- A cell-based cccDNA reporter assay combined with functional genomics identifies YBX1 as HBV cccDNA host factor and antiviral target
Gaëtan Ligat - Université de Strasbourg, Inserm, UMRS 1110, Strasbourg, France
- Les mécanismes régulant la spécificité d'hôte chez les virophages des virus géants
Said Mougari - Microbes, Evolution, Phylogénie et Infection (MEPHI), IHU Méditerranée Infection, Marseille, France

15:00-16:30

SP21-T Parcours Charles Mérieux - Biosécurité / Microbiologie clinique

Salle i

Anciens et nouveaux risques biologiques : où en sommes-nous en 2021 ?

Foyer Haut - Niv. 2

Modérateurs : Philippe Marianneau et Sébastien Allix

- Prions et risques pour les dispositifs médicaux : bilan et implications potentielles pour la maladie d'Alzheimer et les autres maladies neurodégénératives
Jean-Philippe Deslys (CEA, Fontenay-aux-Roses)
- Expériences et enjeux de sécurités et sûretés biologiques à l'international, paradoxe entre besoins et principes de précautions
François-Xavier Babin (Fondation Mérieux, Lyon)

Communications orales courtes

- Apport de la caractérisation des communautés microbiennes dans l'air dans un contexte de polyexposition à la prévention des risques professionnels: exemple des centres de tri de déchets ménagers recyclables
Philippe Duquenne - INRS, Vandoeuvre-les-Nancy, France
- Adaptation d'une structure confinée de niveau 3 pour la manipulation du virus SARS-CoV-2 et retour d'expérience
Franca Rizzo - Laboratoire de la Rage et de la Faune Sauvage de Nancy, ANSES, Malzéville, France
- Biorisque au laboratoire : est-ce que la COVID-19 a changé quoi que ce soit ?
Arnaud Orelle - Direction Scientifique, Lab'Science, Nazelles-Négron, France

15:00-16:30

SP22 Pathogénie

Salle GH - Foyer Haut - Niv. 2



ARN régulateurs*Modératrices : Marie-Frédérique Lartigue et Olga Soutourina*

- Diversité des ARN régulateurs chez un pathogène humain *Clostridium difficile* et leurs applications potentielles
Olga Soutourina (Université Paris-Saclay - I2BC, Orsay)

Communications orales courtes

- Implication d'un cis-ARN dans la régulation du gène de résistance aux tétracyclines tet(M)
Killian Le Neindre - Service de bactériologie-hygiène hospitalière, CHU de Rennes, Rennes, France
- Srn024, un petit ARN impliqué dans l'adaptation du pathogène *Streptococcus agalactiae* à son environnement
Nancy Jabbour - Université de Tours, Tours, France
- Uncovering RNA-based regulations in *Clostridioides difficile*
Emma Piattelli - ARNCLO, Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, I2BC, Gif-sur-Yvette, France
- A 3'UTR-derived sRNA produced into two forms that interacts with different RNA partners in the human pathogen *Staphylococcus aureus*
Yoann Augagneur - Inserm U1230 - BRM, Université Rennes 1, Rennes, France

... / ...

15:00-16:30	SP23 Anti-microbiens & résistance	<i>Auditorium 450 - Foyer Haut - Niv. 2</i>
	Résistome et WGS : de la souche au prélèvement clinique <i>Modérateurs : Frédéric Laurent et Anne Jamet</i>	
	<ul style="list-style-type: none"> • Séquençage et résistome de <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Anne Jamet (Institut Necker Enfants Malades - INSERM AP-HP, Paris)</i> 	
	<i>Communications orales courtes</i>	
	<ul style="list-style-type: none"> • Émergence de différentes populations de <i>Shigella sonnei</i> hautement résistantes aux antibiotiques <i>Sophie Lefèvre - Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Institut Pasteur, Paris, France</i> • Caractérisation par NGS de la diversification intra- et inter-hôte de <i>Helicobacter pylori</i> <i>Maxime Pichon - Laboratoire de Bactériologie - Département des Agents Infectieux, CHU de Poitiers, Poitiers, France</i> • Genomic evolution of the globally disseminated multidrug-resistant <i>K. pneumoniae</i> clonal group 147 <i>Carla Rodrigues - BEBP, Institut Pasteur, Paris, France</i> 	
15:00-16:30	SP24 Biotechnologies microbiennes 	<i>Salle J - Foyer Haut - Niv. 4</i>
	New energy-based modelling approaches for engineering microbiomes <i>(in association with FFBiotech) With the support of ANR 16-CE04-0003 Thermomic</i>	FFBiotech
	<i>Chairs: Théodore Bouchez and Marielle Bouix</i>	
	<ul style="list-style-type: none"> •  Understanding microbial interactions and their driving forces <i>Hadrien Delattre - University of warwick, Coventry, United Kingdom</i> 	
	<i>Short oral presentations</i>	
	<ul style="list-style-type: none"> • Non-equilibrium physical principles explain the temperature dependency of microbial growth: theory and experiments <i>Subrata Dev - Université Paris-Saclay, INRAe, UR PROSE, Antony, France</i> • An approach towards the model construction of the microbial community dynamics in reactors <i>Pablo Ugalde - LBE, INRAe, Narbonne, France</i> • Analyse thermodynamique et cinétique des processus microbiens de la digestion acidogène <i>Etienne Paul - Toulouse Biotechnology Institute (TBI), INSA Toulouse, Toulouse, France</i> • Comparison of traditional and new energy-based models for modeling activated sludge dynamics <i>Tugce Katipoglu-Yazan - PROSE, Université Paris-Saclay, INRAe, Antony, France</i> 	
16:30-17:15	Pause café - Visite de l'exposition - Posters	<i>Mezzanine + R2 - Niv. 2</i>
16:45-17:15	SESSION POSTERS 1 - Numéros pairs	<i>R2 - Niv. 2</i>
	<i>Modérateur : Olivier Dussurget</i>	
SESSION PLÉNIÈRE		
17:15-18:00	Parole aux industriels	<i>Auditorium 450 - Foyer Haut - Niv. 2</i>
	<i>Modérateurs : Jean-Louis Herrmann et Frédéric Laurent</i>	
	<ul style="list-style-type: none"> • BYG4lab® : Des solutions agnostiques et adaptées à tous types de laboratoires permettant une liberté totale de vos choix analytiques <i>Cyril Verhille (BYG4lab®)</i> • BYG4lab® : Nos nouvelles solutions microbiologie BYG4lab® <i>Matthieu Mulot (BYG4lab®)</i> 	<p>BYG4lab®</p> <p>BYG4lab®</p> <p>... / ...</p>

- Beckman Coulter Life Sciences : Living up to a high standard - The modern Art of microbe characterization
Anis Larbi (Beckman Coulter)
- Logos Biosystem : Découvrez le Quantum Tx ou comment compter vos bactéries en quelques minutes
Jordan Collette (Logos Biosystems, part of Aligned Genetics)
- Milteny Biotec : Tri de cellules facile, sous faible pression et sans aérosol, idéal pour les échantillons infectieux avec le MACSQuant® Tyto® Cell Sorter
Kahina Khouas (Miltenyi Biotec)



SESSION PLÉNIÈRE

18:00-18:45

Symposium bioMérieux

Auditorium 450 - Foyer Haut - Niv. 2

L'antibiogramme dans tous ses états !

Modérateur : *Gérard Lina*

- L'antibiogramme ciblé : mythe ou réalité
Thierry Guffond (Cysoing) et Karine Faure (Lilles)
- Antibiogrammes VITEK® 2 à partir des flacons d'hémocultures positives
Christian Cattoen (Valenciennes)



SESSIONS PARALLÈLES

18:45-19:30

SP25 Session Histoire

Club Atlantique - Niv. 2

Modératrices : *Sophie Jarraud et Marine Jourdain*

18:45-19:05

- La belle histoire des antiseptiques halogénés
Jean Freney (Université Claude Bernard Lyon I, Lyon)

19:10-19:30

- Voir ou ne pas voir les antibiotiques: telle est la question
Antoine Andreumont (Université de Paris, Malakoff)

18:45-19:30

SP26 Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

Auditorium 450 - Foyer Haut - Niv. 2

Modérateurs : *Yann Dumont et Margaux Heuschkel*

- 6 communications Prix poster sélectionnées

19:30

Cocktail dînatoire du congrès - Annonce des Prix

Mezzanine + R2 - Niv. 2

PROGRAMME - VENDREDI 24 SEPTEMBRE

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

Grande Halle - Niv. 0

SESSIONS PARALLÈLES

08:30-10:00

SP27 **Microbiote**

Salle KL - Foyer Haut - Niv. 4

Microbiote et réponse immune (en association avec la SFI)

Modératrices : Valérie Gaboriau-Routhiau et Marielle Bouix



- **IgA et microbiote intestinal : des interactions croisées ?**
Delphine Sterlin (AP-HP, Paris)
- **Microbiote et maturation post natale de la réponse immunitaire de l'hôte**
Valérie Gaboriau-Routhiau (SFI), (INRAe, Paris)

Communications orales courtes

- **Characterisation of the lung virome in patients with Legionnaires' disease**
Marine Ibranosyan - Centre National de Référence des Légionelles, Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
- **Mini-BioReactor Arrays (MBRA) : un modèle pour étudier l'impact des traitements anticancéreux sur la flore fécale humaine**
Claire Hobson - U1137, IAME, équipe QEM, INSERM, Paris, France

08:30-10:00

SP28-T **Virologie** / **Aliments**

Salle i - Foyer Haut - Niv. 2

Virus entériques : persistance, infectiosité et approches novatrices

(en association avec la SFV)

Modérateurs : Pascal Garry et Nicole Pavio



- **Challenges en virologie alimentaire : apports des nouvelles technologies**
Sandra Martin-Latil (SFV), (Anses, Maisons-Alfort)
- **Utilisation de nouveaux outils pour évaluer la diversité des norovirus dans l'environnement littoral**
Soizick Le Guyader (Ifremer, Nantes)

Communications orales courtes

- **Characterization of a cell culture system of persistent hepatitis E virus infection in the human HepaRG hepatic cell line**
Virginie Doceul - UMR 1161 Virologie INRAe-ANSES-ENVA, Maisons-Alfort, France
- **Prévalence des norovirus dans les huîtres prélevées dans les zones de production conchylicole et les centres d'expédition en France**
Joanna Ollivier - Laboratoire Santé, Environnement et Microbiologie, IFREMER, Nantes, France

08:30-10:00

SP29 **Microbiologie clinique**

Salle GH - Foyer Haut - Niv. 2

Épidémiologie et susceptibilité aux infections

Modérateurs : Céline Bressollette et Frédéric Laurent

- **Prédisposition génétique aux maladies infectieuses**
Emmanuelle Jouanguy (Inserm, Paris)

... / ...

Communications orales courtes

- **Ongoing diphtheria outbreak in Yemen: Epidemiological, clinical and genomic insights**
Sylvain Brisse - Institut Pasteur, Paris, France
- **Long-lasting disturbance of the nasal microbiota after mupirocin treatment**
Anaïs Barry - CIRI U1111, INSERM, Lyon, France
- **Portage et niveau d'excrétion de Salmonella en élevage porcin alternatif en France**
Annaëlle Kerouanton - Laboratoire de Ploufragan-Plouzane-Niort, Unité HQPAP, Anses, Ploufragan, France
- **Adénites à mycobactéries atypiques chez l'enfant : épidémiologie et stratégie de prise en charge en France durant la dernière décennie**
Cécile Le Brun - Bactériologie, CHU Tours, Tours, France

08:30-10:00

SP30-T Pathogénie / Microbiologie clinique *Club Atlantique - Niv. 2***Tolerance, persistence, resistance...***Chairs: Olivier Neyrolles and Carmen Buchrieser*

- **Clinical perspective on chronic - recurring staphylococcal infections**
Annelies Zinkernagel (University Zurich, Zurich, Suisse)

Short oral presentations

- **Molecular atlas of *Acanthamoebacastellanii* remodeling during cyst formation**
Ascel Samba Louaka - Laboratoire Ecologie et Biologie des Interactions, Poitiers, France
- **Suivi de l'état répliatif de *Staphylococcus aureus* intraostéoblastique par microscopie confocale automatisée et dilution de fluorescence : mise en évidence de persisters**
Florian Marro - In Vitro Biology, Infectious Diseases and Antibacterials Unit, Evotec ID Lyon, Lyon, France
- **The unforeseen intracellular lifestyle of *Enterococcus faecalis* in human hepatocytes**
Cristel Archambaud - Micalis Institute, CPE team, Université Paris-Saclay, INRAe, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France
- ***Staphylococcus aureus* gamma-toxin BC: unexpected strain-dependent expression and regulation profiles**
Mariane Pivard - U1111 - Pathogénie des Staphylocoques, CIRI, Lyon, France

08:30-10:00





SP31 Omic(s) et autres méthodes d'études*Auditorium 450 - Foyer Haut - Niv. 2***Nouvelle génération d'outils en microbiologie***Modérateurs : Brigitte Lamy et Jean-Louis Herrmann*

- **Approches volatolomiques : étude des composés organiques volatils en microbiologie**
Stanislas Grassin-Delyle (Université Versailles Saint-Quentin, Montigny-Le-Bretonneux)
- **Analyse taxonomique et fonctionnelle par spectrométrie de masse en tandem : de l'isolat aux microbiotes complexes**
Jean Armengaud (CEA Marcoule, Bagnols-sur-Cèze)

Communications orales courtes


- **Identification sans marquage de colonies sur agar par imagerie multispectrale dans l'infrarouge**
Joël Le Galudec - LETI/DOPT, CEA, Grenoble, France
- **Performances des outils bio-informatiques pour l'analyse des données de séquençage des souches du complexe *Mycobacterium tuberculosis***
Pauline Quagliari - Microbiologie, Hopital Avicenne, Bobigny, France

... / ...

08:30-10:00	SP32-T Microscopy / Omic(s) et autres méthodes d'études 	<i>Salle J - Foyer Haut - Niv. 4</i>
	New contributions of microscopy: journey into the infinitely small (in association with SFμ) 	
	<i>Chairs: Laurence Dubreil and Eric Oswald</i>	
	<ul style="list-style-type: none"> • Contribution of atomic force microscopy to the study of biofilm formation and antibiotic resistance <i>Cécile Formosa-Dague (SFμ), (INSA, Toulouse)</i> • Multimodular imaging and microfluidics to understand the intracellular niche formation of enteroinvasive pathogens <i>Jost Enninga (Institut Pasteur, Paris)</i> 	
	<i>Short oral presentations</i>	
	<ul style="list-style-type: none"> • Optical tweezing for the trapping and characterization of single-cells facing antimicrobial stress <i>Simon Glicenstein - Univ. Grenoble Alpes, Grenoble INP, CEA, IRIG, Pheliqs, SiNaPS Lab., Grenoble, France</i> • Étude de l'imagerie sans lentilles grand champ pour l'analyse et le diagnostic en phagothérapie <i>Pierre Marcoux - LETI/DTBS/LSIV, CEA, Grenoble, France</i> 	
10:00-11:00	Pause café - Visite de l'exposition - Posters	<i>Mezzanine + R2 - Niv. 2</i>
10:15-11:00	SESSION POSTERS 2 - Numéros impairs	<i>R2 - Niv. 2</i>
	<i>Modérateur : Olivier Dussurget</i>	
SESSIONS PARALLÈLES		
11:00-11:45	Symposium Shionogi	<i>Club Atlantique - Niv. 2</i>
	Les sidérophores ou comment exploiter une stratégie de survie des bactéries : l'exemple de Pseudomonas 	
	<i>Modérateurs : Gérard Lina et Vincent Cattoir</i>	
	<ul style="list-style-type: none"> • Comment détourner les voies d'assimilation du fer de Pseudomonas aeruginosa pour l'import d'antibiotiques - <i>Isabelle Schalk (Illkirch)</i> • De la théorie à la pratique, l'exemple du céfidérocol - <i>Patrick Plésiat (Besançon)</i> 	
11:00-11:45	Symposium BD	<i>Auditorium 450 - Foyer Haut - Niv. 2</i>
	Observatoire national du diagnostic des bactériémies : résultats préliminaires 	
	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Christian Cattoën (Valenciennes)</i> • <i>Brigitte Lamy (Nice)</i> 	
11:45-12:30	Conférence plénière	<i>Auditorium 450 + diffusion en direct : Salle i Foyer Haut - Niv. 2</i>
	<i>Modératrice : Monique Zagorec</i>	
	• Microbiote humain : 20 ans d'étude <i>Joël Dore (INRAe, Jouy-en-Josas)</i>	
12:30-12:45	Présentation du groupe de travail "Microbiomes et applications cliniques"	
12:45-14:00	Déjeuner Visite de l'exposition - Posters	<i>Mezzanine + R2 - Niv. 2</i>

... / ...

SESSIONS PARALLÈLES

- 14:00-15:30 **SP34** **Virologie** Salle KL - Foyer Haut - Niv. 4
Réponse de l'hôte à l'infection virale
Modérateurs : Jérôme Le Goff et Céline Bressollette
- **Virome and autoimmune diseases**
Ilka Engelmann (Université - CHU, Lille)
- Communications orales courtes*
- **Évolution de la réponse humorale et risque de réinfection jusqu'à 13 mois après une infection par le SARS-CoV-2**
Floriane Gallais - Laboratoire de Virologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
 - **Infections à Aichi virus chez les sujets présentant un déficit immunitaire héréditaire**
Jacques Fourgeaud - Laboratoire de virologie, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France
 - **Intérêt de la quantification des Torque Teno Virus chez les patients pris en charge aux urgences pour une infection à SARS-COV-2**
Amandine Caillault - Laboratoire de Virologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France
-
- 14:00-15:30 **SP35-T** **Environnement** / **Biotechnologies microbiennes** Auditorium 450 - Foyer Haut - Niv. 2
Dynamiques microbiennes : de la cellule à la communauté microbienne **FFBiotech**
(en association avec la FFBiotech)
Modérateurs : Théodore Bouchez et Sébastien Allix
- **Modélisation par contraintes pour comprendre les interactions microbiennes via des mesures incomplètes**
Damien Eveillard (LS2N - Université de Nantes, Nantes)
- Communications orales courtes*
- **Les inhibiteurs métaboliques induisent des changements populationnels en fermentation mixte microbienne**
Marie Noguer - UR0050, Lab. de Biotechnologie de l'Environnement (LBE), INRAe, Narbonne, France
 - **Characterization of the diversity of viruses infecting methanogens in anaerobic digestion processes by shotgun sequencing metagenomics**
Hoang Ngo - PROSE, INRAe, Antony, France
 - **Microbial dynamics and methanogenic activity during start-up of twelve replicated anaerobic digesters**
Baptiste Quentin - PRocédés biOtechnologiques au Service de l'Environnement, Université Paris-Saclay, INRAe, Antony, France
 - **Wastewater Reuse: the fate of mobile genetic elements vector of antibiotic resistance in the circular economy**
Nicolas Gallois - LCPME - UMR 7564 CNRS-Univ. de Lorraine, CNRS, Vandoeuvre-les-Nancy, France
-
- 14:00-15:30 **SP36** **Pathogénie**  Club Atlantique - Niv. 2
Recent advances in pathophysiology and treatment of infectious diseases
Chairs: Eric Oswald and Marie-Frédérique Lartigue
- ***Streptococcus agalactiae* neonatal infection: the role of perinatal sex hormones**
Asmaa Tazi (AP-HP - CUP Hôpital Cochin, Paris)

... / ...

Short oral presentations

- Neonatal susceptibility to the hypervirulent clone of Group B *Streptococcus* (GBS) in meningitis development - Julie Guignot - U1016 Bactéries et périnatalité, INSERM Institut Cochin, Paris, France
- PPK, the Achilles' heel of pathogenic *E. coli* strains? - Min Tang - INSERM IRSD U1220, Toulouse, France
- Positive selection of capsule and rapid emergence of hypervirulent traits in *K. pneumoniae* Amandine Buffet - Génomique Evolutive des Microbes, Institut Pasteur, Paris, France
- *In vivo* expression kinetics of the PagN *Salmonella* entry factor Michael Koczerka - UMR 1282 ISP, INRAe, Université de Tours, Nouzilly, France

14:00-15:30

SP37 Innovations pédagogiques

Salle i - Foyer Haut - Niv. 2

Innovations pédagogiques dans l'enseignement de la microbiologie : comment booster votre enseignement ?

Modérateurs : Michel Federighi et Mathilde Lescat

- Innovations pédagogiques : what's next?? - Christelle Lison (Canada)

Communications orales courtes

- Intégration d'un Escape Game dans un parcours pédagogique Julien Delmas - Service de bactériologie, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France
- Résultats de notre enquête nationale via la SFM sur les enseignements distanciés en Microbiologie - Mathilde Lescat - Microbiologie, APHP Avicenne, Bobigny, France
- La transdisciplinarité dans un jeu sérieux pour conduire une investigation de toxi-infection alimentaire et encourager la coopération entre vétérinaire et ingénieurs en agroalimentaire Géraldine Boué - Oniris, Nantes, France

14:00-15:30

SP38 Anti-microbiens & résistance

Salle GH - Foyer Haut - Niv. 2

Peptides antimicrobiens (en association avec la SFPAM et le GTPAM)

Modérateurs : Nicolas Lévêque et Séverine Zirah



- Les mécanismes de résistance aux polymyxines chez *Pseudomonas aeruginosa* Katy Jeannot (Hôpital Jean Minjot, Besançon)

Communications orales courtes

- Chimiodiversité et biosynthèse des altérines : des peptides antibactériens produits par des bactéries marines du genre *Pseudoalteromonas* Hélène Cuny - Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines LBCM EA 3884, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, Quimper, France
- Acquisition de résistances aux peptides antimicrobiens *in vivo* : le modèle de *Staphylococcus aureus* - Daptomycine Brigitte Lamy - Laboratoire de bactériologie, CHU Nice, Université Côte d'Azur, Nice, France
- Ruminococcin C, a remarkable sactipeptide as an alternative to conventional antibiotics Clarisse Roblin - Aix-Marseille Université, CNRS, Centrale Marseille, iSm2, Marseille, France
- Expression et mise en évidence d'une activité anti-*Escherichia coli* y compris *E. coli* résistant à la colistine, d'une nouvelle bactériocine de classe II, produite par *Lactocaseibacillus paracasei* CNCM I-5369 - Désiré Madi-Moussa - UMRT BioEcoAgro 1158 INRAe, Université de Lille, Villeneuve-d'Ascq, France

Clôture du 16^e congrès national de la SFM

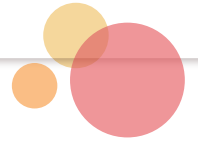


Société Française
de Microbiologie

MICROBES 2021

16^e Congrès National de la SFM

22-24
SEPT



RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS

Mercredi 22 septembre

MICROBES 2021

...mille lieux
au cœur de la
microbiologie

SP1-T Assemblages microbiens : quelles utilisations ?**SP1-T-O.1****Approches, permettant d'obtenir des assemblages microbiens fonctionnels : les produits fermentés comme modèle d'étude**

Pascal Bonnarme (pascal.bonnarme@inrae.fr)

SayFood, INRAE, Thiverval-Grignon, France

La communauté microbienne du fromage est majoritairement composée de micro-organismes procaryotes et eucaryotes cultivables. Cet écosystème microbien réduit constitue donc un modèle de choix pour développer des stratégies d'assemblages microbiens pour réaliser des fonctions spécifiques. Plusieurs approches d'assemblage fonctionnel de communautés dans des produits fermentés seront présentées (ex : fromages, produits végétaux fermentés) et les stratégies développées seront décrites. D'autres domaines et d'autres usages pourront également être présentés, l'objectif de la présentation étant de mettre en perspective les travaux menés sur les mécanismes/stratégies d'assemblage des communautés microbiennes.

Mots clés : Microbiotes synthétiques - Écologie fonctionnelle - Omiques - Fonctions - Matrice.

SP1-T Assemblages microbiens : quelles utilisations ?**SP1-T-O.2****Suivi rapide de la composition du microbiote par cytométrie en flux et culturomique ciblée d'espèces d'intérêt**

Samuel Bellais¹ (samuel.bellais@bioaster.org), Mélanie Nehlich¹, Maryne Ania¹, Aurore Duquenoy², Wilfrid Mazier³, Ger van den Engh⁴, Jan Baijer⁴, Nicole Simone Treichel⁵, Thomas Clavel⁵, Ilia Belotserkovsky¹, Vincent Thomas¹

¹ BIOASTER, Paris, France

² MaaT Pharma, Lyon, France

³ YSOPIA Bioscience, Bordeaux, France

⁴ Marine Cytometry, Concrete, États-Unis

⁵ University Hospital of RWTH, Aachen, Allemagne

Sequencing studies have highlighted the association of deficiencies in a variety of gut commensal species with various pathological conditions. It is therefore of great interest to use well-characterized strains to complement dysbiotic microbiota. However, this approach is still hampered by the fact that there are usually only few or even no strains available for many species of interest, due to specific nutritive requirements, extreme oxygen sensitivity (EOS) or under-representation in the gut ecosystem. In an attempt to circumvent these limitations, we developed flow cytometry and cell sorting under anaerobic conditions using a modified BD Influx[®] cell sorter. Viability- and Gram-staining as well as specific polyclonal antibodies were investigated as characterization tools. We demonstrated that viability of the EOS species *Faecalibacterium prausnitzii* was preserved during the anaerobic sorting process, while complete loss of viability was observed in normal sorting conditions. Staining procedures had only marginal effects on cultivability. Using antibodies directed against strains that belong to two different phylogroups, we established a collection of 15 strains of the EOS species *F. prausnitzii*. We then focused on the species *Christensenella minuta* that is usually found in very low amount in the human fecal microbiota and were able to establish a collection of 7 strains that belong to this health-related species. These developed tools allow rapid fingerprint of microbiota composition and accurate isolation of EOS bacteria from complex microbial communities. New developments are underway to apply reverse genomics strategies to identify sequences encoding immunogenic proteins in order to produce antibodies even in the absence of already cultivated strains.

Mots clés : Microbiome - Cytometry - Culture - Anaerobic.

SP1-T Assemblages microbiens : quelles utilisations ?

SP1-T-1

Transcriptomic and proteomic response of a *Liquorilactobacillus mali* strain from cider to a lytic phage infection

Pierre Ledormand¹ (pierre.ledormand@unicaen.fr), Nathalie Desmasures¹, Benoit Bernay², Olivier Rué^{3,4}, Cédric Midoux^{3,4,5}, Christophe Monnet⁶, Marion Dalmasso¹

¹ UR ABTE, Normandie Univ, UNICAEN, UNIROUEN, Caen, France

² Proteogen Platform, Normandie Univ, UNICAEN, SFR ICORE, Caen, France

³ MaIAGE, Université Paris-Saclay, INRAE, Jouy-en-Josas, France

⁴ BioinfOmics, MIGALE Bioinformatics Facility, Université Paris-Saclay, INRAE, Jouy-en-Josas, France

⁵ PROSE, Université Paris-Saclay, INRAE, Antony, France

⁶ UMR SayFood, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Thiverval-Grignon, France

Introduction and objectives:

Bacterial communities of fermented foods are well known for their technological and health potentialities. Although studies are dedicated to microbial diversity and fluxes within fermented food matrices, phages-bacteria interactions are still poorly described in these ecosystems. This is especially true when it comes to cider, an alcoholic fermented apple beverage. The current work aimed at studying the transcriptomic and proteomic response of the lactic acid bacterium (LAB) *Liquorilactobacillus mali* UCMA16447 during the lytic infection by phage UCMA21115, both originating from cider.

Materials and methods:

The morphology of phage UCMA21115, targeting *L. mali* UCMA16447 strain, was visualized by transmission electron microscopy. The phage was characterized by assessing its adsorption, its life cycle (one step growth curve), and by analysing its genome. A RNAseq approach together with a proteomic study were used to monitor the transcriptomic and the proteomic response of *L. mali* UCMA16447 strain after fifteen minutes (T15) and after one hour (T60) of phage infection, a non-infected culture being used as a control.

Results, discussion and conclusion:

Phage UCMA21115 is a member of the Caudovirales order belonging to the *Siphoviridae* family and its lytic features were characterized. More than 100 and 200 genes appeared to be up- or downregulated in *L. mali* UCMA 16447 at T15 and at T60, respectively. Overall, genes involved in translation, carbohydrates metabolism and signal transduction were downregulated, while genes implicated in nucleotide metabolism and in the control of DNA integrity were upregulated, and this phenomenon increased over time. The same trends were confirmed by the proteomic study. As phage infection affects the host metabolism, it possibly has an impact on the fermentation process. One major result of this first study of the interactions between a LAB host and its phage from a fermented beverage showed that phage infection affects cell motility, with many genes being downregulated, and this particular pattern was explored. Getting knowledge about host response to phage infection is crucial to better control and understand microbial population equilibria throughout fermentation processes. This will possibly contribute to guaranteeing the production of safe foods and to preventing spoilage in the future.

Mots clés : Transcriptomic - Proteomic - Host-phage interaction - Fermented beverages - Cider.

SP1-T Assemblages microbiens : quelles utilisations ?**SP1-T-2****Évolution expérimentale d'un consortium de 3 souches de *L. lactis* dans le lait : modélisation de la dynamique des souches reflétant des interactions métaboliques**

Marie-Line Daveran-Mingot¹ (daveran@insa-toulouse.fr), Marie-Aurore Caillaud¹, Ignacio Gonzalez², Marjorie Audonnet¹, Valérie Laroute¹, Hélène Tormo³, Isabelle Queinnec², Muriel Coacign-Bousquet¹

¹ Toulouse Biotechnology Institute, Toulouse, France

² LAAS-CNRS, Toulouse, France

³ Ecole d'Ingénieurs de Purpan, Toulouse, France

Introduction et objectifs :

En milieu laitier, des interactions inter-espèces et intra-espèces se mettent en place modelant les propriétés de l'écosystème. Si les interactions entre espèces sont largement décrites, celles existant entre souches d'une même espèce ont très peu été analysées. L'objectif de ce travail est d'étudier et de modéliser les interactions qui se mettent en place au cours du temps entre souches d'une même espèce (*Lactococcus lactis*) lors de leur croissance en lait stérile. Ceci dans le but de comprendre l'adaptation d'un consortium microbien à environnement laitier.

Matériels et méthodes :

Le consortium étudié est constitué de 3 souches de *L. lactis* choisies de façon raisonnée. Ces souches ont évolué seules ou en mélange, sur environ 800 générations et à 22°C. Des repiquages journaliers ont été effectués et à chaque stade évolutif, des prélèvements ont été réalisés permettant d'analyser 3 types de descripteurs : les cinétiques d'acidification (CINAC), les substrats consommés et les produits relargués (sucres, acides et acides aminés dosés par HPLC), ainsi que la dynamique de chaque souche dans le mélange (ddPCR). Ces dynamiques ont été modélisées par un système d'équations différentielles décrivant l'évolution d'une population bactérienne prenant en compte la conversion des nutriments en biomasse et sous-produits.

Résultats, discussion et conclusion :

La dynamique des souches se décompose en 3 phases. Durant la phase 0, une souche est perdue. Les 2 autres phases ont pu être modélisées. Le modèle permet d'expliquer l'adaptation à l'acide lactique produit ainsi que la modulation du métabolisme azoté pour une souche durant la phase 1. L'adaptation de ce métabolisme azoté permet un relargage d'acides aminés qui sera utilisé par la deuxième souche dans une relation de cross-feeding. Ce modèle a permis d'expliquer des interactions métaboliques mises en place lors d'une adaptation en lait.

Mots clés : Evolution expérimentale - Interactions - Adaptation - Modélisation.

SP2-T Mycobactéries - One Health**SP2-T-O.1****Histoire naturelle de l'infection par *Mycobacterium ulcerans***Estelle Marion*Inserm, Angers, France*

Résumé non parvenu

Pathogénie

/ Microbiologie clinique

SP2-T Mycobactéries - One Health

SP2-T-O.2

Intérêt des inhibiteurs de bêta-lactamases pour la thérapeutique anti-mycobactérienne

Jean-Luc Mainardi^{1, 2, 3} (jean-luc.mainardi@crc.jussieu.fr)

¹ Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

² AP-HP.Centre Université de Paris-Université de Paris, Paris, France

³ UMRS 1138 Equipe 12, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, France

Les mycobactéries produisent naturellement un bêta-lactamase présentant un large spectre de substrat. Les bêta-lactamases BlaC de *Mycobacterium tuberculosis* et BlaMab de *M. abscessus* ont un comportement différent vis-à-vis des inhibiteurs de bêta-lactamases. BlaC est inhibée par le clavulanate alors que BlaMab hydrolyse cet inhibiteur mais est inhibée par l'avibactam, le prototype d'une deuxième génération d'inhibiteurs de bêta-lactamases, les diazabicyclooctanes (DBOs). Ce comportement opposé de BlaC et de BlaMab avec l'avibactam et le clavulanate est déterminé par un polymorphisme d'un seul acide aminé, i.e, la présence du motif SDG dans la séquence de BlaC à la place du motif SDN présent chez BlaMab et la plupart des bêta-lactamases. Nous avons montré que l'inhibition de BlaMab par l'avibactam augmente significativement le spectre d'activité des bêta-lactamines, et en particulier de l'imipénème *in vitro*, *ex vivo* dans le modèle de macrophages infectés, et dans un modèle d'infection chez le poisson-zèbre. Des résultats similaires ont été trouvés avec un autre dérivé de DBOs, le relebactam, qui est développé en association avec l'imipénème.

D'une manière surprenante, nous avons récemment montré que l'avibactam et des dérivés des DBOs obtenus par chimie de synthèse possédaient une double activité, à la fois en tant qu'inhibiteurs de bêta-lactamases mais également en tant qu'inhibiteurs des enzymes responsables de la polymérisation de la paroi de *M. abscessus*, les L,D-transpeptidases formant les ponts interpeptidiques du peptidoglycane.

Ces résultats récents indiquent qu'en dehors de leur activité en tant qu'inhibiteurs de bêta-lactamase, l'optimisation des DBOs pour l'inhibition des L,D-transpeptidases est une stratégie attractive pour obtenir des antibiotiques sélectivement actifs sur les mycobactéries.

Mots clés : Inhibiteurs de bêta-lactamases - Mycobactérie - Clavulanate - Diazabicyclooctanes - Imipénème.

SP2-T Mycobactéries - One Health

SP2-T-1

Étude microbiologique et phylogénétique des souches de *Mycobacterium tuberculosis complex* par séquençage du génome complet

Typhaine Billard-Pomares^{1,2} (typhaine.billard-pomares@aphp.fr), Julie Marin², Pauline Quagliaro³, Frédéric Méchai^{2,4}, Violaine Walewski^{1,2}, Samira Dziri¹, Etienne Carbonnelle^{1,2}

¹ Service de Microbiologie, Hôpital Avicenne, Bobigny, France

² INSERM UMR 1137, IAME, Paris, France

³ Service de Pédiatrie, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France

⁴ Service de Maladies infectieuses, Hôpital Avicenne, Bobigny, France

Introduction et objectifs :

La Seine-Saint-Denis est le département de France métropolitaine où l'incidence de la tuberculose (TB) est la plus élevée. C'est aussi un département cosmopolite avec plus de 80 nationalités représentées. Le séquençage du génome complet (WGS) est un outil en plein essor qui joue un rôle majeur dans l'exploration de la tuberculose. Notre objectif était d'explorer les caractéristiques microbiologiques et phylogénétiques des souches de *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) circulant en Seine-Saint-Denis.

Matériels et méthodes :

Cent quatre-vingt-seize souches de MTBC isolées de patients venus à l'hôpital Avicenne entre 2016 et 2020 ont été séquencées à l'aide de la technologie MiSeq Illumina®(USA). Un pipeline utilisant des outils bio-informatiques a été développé localement. Les données cliniques et démographiques ont été collectées pour chaque patient.

Résultats, discussion et conclusion :

L'âge moyen des patients était de 37 ans et étaient originaire d'Afrique (44 %), d'Europe (27 %), d'Asie (25 %) et d'Amérique (4 %). Les souches isolées d'échantillons extrapulmonaires étaient associées aux patients asiatiques ($p=0,003$) alors que les souches isolées d'échantillons pulmonaires étaient associées aux patients européens ($p=0,02$).

Nos résultats montrent une grande diversité de lignées comparable à la diversité mondiale connue : lignée 1 (6%), lignée 2 (5%), lignée 3 (13%), lignée 4 (70%), lignée 5 (2%), lignée 6 (2%), et lignée bovis (2%). La lignée 3 (Afrique de l'Est et Asie centrale) était associée aux formes ganglionnaires ($p=0,04$).

Concernant la sensibilité aux antituberculeux : 87 % des souches étaient sensibles, 11 % étaient résistantes à l'un des antituberculeux de première ligne et 2 % étaient multirésistantes. La concordance globale avec les tests de sensibilité par méthode phénotypique était de 94 %. Les données de WGS montraient une résistance à un antituberculeux de seconde ligne dans 9% des cas.

Enfin, les données de séquençage nous ont permis de distinguer les réinfections des cas de rechute.

Dans cette étude basée sur le WGS, nous avons établi les lignées circulantes et les tendances observées concernant la sensibilité aux antituberculeux à l'échelon local. Le WGS constitue un outil essentiel pour mieux comprendre l'épidémiologie locale de la tuberculose et la circulation des souches.

Mots clés : Séquençage du génome complet - Tuberculose - Phylogénie - Résistance aux antituberculeux.

SP2-T Mycobactéries - One Health

SP2-T-2

Pathogénie

Microbiologie clinique

Mycobacteriophage-antibiotic synergism promotes enhanced bacterial clearance of drug resistant *Mycobacterium abscessus* in zebrafish

Laurent Kremer¹ (laurent.kremer@irim.cnrs.fr), Matt Johansen¹, Matthéo Alcaraz¹, Rebekah Dedrick², Françoise Roquet-Banères¹, Claire Hamela¹, Graham Hatfull²

¹ CNRS UMR9004, Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, Montpellier, France

² Department of Biological Sciences, University of Pittsburgh, Pittsburgh, États-Unis

Introduction and objectives:

Infection by multidrug-resistant *Mycobacterium abscessus* is increasingly prevalent in cystic fibrosis (CF) patients, often leaving clinicians with few therapeutic options. A recent compassionate study unraveled the clinical improvement of a CF patient with a disseminated *M. abscessus* (GD01) infection, following intravenous injection of a phage cocktail, including phage Muddy. Broadening the use of phage therapy in patients as a potential antibacterial alternative necessitates the development of new biological models to improve the reliability and successful prediction of phage therapy in the clinic. Herein, we exploited the CFTR zebrafish model of infection to evaluate the synergistic activity of specific phages and antibiotics for the treatment of *M. abscessus* infection.

Materials and methods:

Cfr morphants were generated by injecting at the 1-4 cell stage a morpholino specifically targeting the zebrafish *cfr* gene. At 30 hours post-fertilization, embryos were infected with fluorescent GD01 *via* caudal vein injection. From 1 to 5 days post-infection, embryos were microinjected with mycobacteriophage Muddy at a daily basis and treated or not with rifabutin. Survival curves were determined by counting dead larvae for up to 12 days. Fluorescent Pixel Count measurements were determined to monitor the bacterial loads during phage/rifabutin treatment. Granulomas were identified based on the co-localization of fluorescent macrophages (zebrafish *mpeg1:mCherry* reporter line) and fluorescent GD01.

Results, discussion and conclusion:

We found that Muddy very efficiently lyses GD01 *in vitro*, an effect substantially increased with standard anti-mycobacterial drugs. Remarkably, the synergistic activity with rifabutin was retained in the *M. abscessus* model of infection in CFTR-depleted zebrafish, associated with a striking increase in larval survival and reduction in bacterial burden and pathological signs. This work paves the way towards the development of a pre-clinical platform to rapidly assess the most optimal phage/antibiotic combinations prior to implementation in *M. abscessus* patients.

Mots clés : *Mycobacterium abscessus* - Phage therapy - Zebrafish - Infection - CFTR.

Références :

1. R. M. Dedrick, et al., 2019. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*. *Nat. Med.* 25, 730–733.
2. A. Bernut, et al., 2019. CFTR protects against *Mycobacterium abscessus* infection by fine-tuning host oxidative defenses. *Cell Rep.* 26, 1828–1840.e4.

SP3 Signaling: do you have a message?**SP3-O.1**

Pathogénie

StkP-mediated signaling in pneumococcal cell divisionChristophe Grangeasse (christophe.grangeasse@ibcp.fr)*MMSB-UM5086, CNRS - Université de Lyon, Lyon, France*

The serine-threonine-kinase StkP has emerged as a key player of cell division and morphogenesis of *Streptococcus pneumoniae*. StkP is a membrane protein with a single transmembrane span separating the cytoplasmic catalytic domain from the extracellular domain. The latter is characterized by the presence of four PASTA motifs (for Penicillin-binding protein And Ser/Thr protein kinase Associated) that bind peptidoglycan fragments. The current model proposes that PASTA domains of StkP would sense the status of the cell wall through specific muropeptide binding, triggering StkP activation to ultimately phosphorylate its endogenous downstream targets. StkP would thus behave as an authentic kinase receptor for signal transduction controlling cell division. Besides phosphorylating diverse cell division proteins, StkP also controls the activity of others through direct interaction but not phosphorylation. In my presentation, I will give an overview of the current knowledge regarding StkP-mediated regulation.

Mots clés : *Streptococcus pneumoniae* - Protein phosphorylation - Cell division - Peptidoglycan - Protein-kinase.

SP3 Signaling: do you have a message?

SP3-1

Pathogénie

Uncovering the role of ComR, a protein involved in competence regulation in the human pathogen *Legionella pneumophila*

Kévin Picq (kevin.picq@univ-lyon1.fr), Laetitia Attaiech

Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France

Introduction and objectives:

Legionella pneumophila is an accidental human pathogen capable of natural transformation, a Horizontal Gene Transfer mechanism which allows bacteria to internalize exogenous DNA and to integrate it in their chromosome. This process is tightly regulated, and only possible during a specific physiological state called competence. We previously discovered that competence regulation in *L. pneumophila* involves two partners: RocC, a new type of RNA chaperone, and RocR, its cognate trans-acting small noncoding RNA. Together, they repress the development of competence during the early phase of growth¹. We are currently working on understanding the role of another protein involved in this particular regulation: ComR, an HTH-domain protein specific of *L. pneumophila*.

Material and methods:

To study the role of ComR, we used multiple approaches: bacterial genetics (creation of mutants), transcriptomic (RNAseq) and biochemistry methods (Western Blots, Northern Blots).

Results, discussion, conclusion:

L. pneumophila becomes transiently naturally competent at the end of the exponential growth phase when grown at 30°C in liquid medium. By RNAseq analysis, we showed that the amount of *comR* mRNA is low at the beginning of the growth and high at the transition between the exponential and stationary phases.

We compared the stability of RocR in a WT strain and in a $\Delta comR$ mutant by Northern Blot. Our results indicate that ComR is implicated, directly or indirectly, in the stability of RocR during the early growth phase.

We then tested if the quantity of ComR had an impact on competence development: we artificially increased the quantity of ComR produced in the bacteria by adding another copy of the *comR* gene under the control of an inducible promoter (Ptac). We showed that ComR overexpression lowers the intensity of the competence response, independently of the presence of the RocC/RocR system.

These results suggest that ComR could have a dual role on competence regulation in *L. pneumophila*. First a low amount is required for the activity of the RocC/RocR system in early growth phase. Then a high amount of ComR could be required to be able to shut down competence in the stationary phase, independently of the RocC/RocR system.

Mots clés : HGT - Transformation - Répression post-transcriptionnelle - Régulation génique.

Références :

1. Attaiech, L. et al., 2016, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 113, 8813–8818.

SP3 Signaling: do you have a message?

SP3-2
Pathogénie

FabT, a transcriptional regulator involved in *Streptococcus pyogenes* virulence

Clara Lambert^{1,2,3} (clara.lambert@inserm.fr), Alexandra Gruss⁴, Karine Gloux⁴, Audrey Soldagi⁵, Benjamin Saint-Pierre^{2,3,6}, François Guillonnet^{2,3,7}, Cedric Broussard^{2,3,7}, Claire Poyart^{1,8,9}, Agnès Fouet^{1,2,3}

¹ Bactéries et Périnatalité, Institut Cochin, Paris, France

² Université de Paris, Paris, France

³ INSERM, CNRS, Paris, France

⁴ MICALIS, INRAe, Jouy-en-Josas, France

⁵ Service d'Analyse des Médicaments et Métabolites, Université Paris-Saclay, Chatenay Malabry, France

⁶ Genom'ic facility, Institut Cochin, Paris, France

⁷ 3P5-proteom'IC facility, Institut Cochin, Paris, France

⁸ Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris, France

⁹ Centre National de Référence des Streptocoques, Paris, France

The strictly human pathogen *Streptococcus pyogenes*, also known as Group A Streptococcus (GAS), is a Gram-positive bacterium responsible for non-invasive and invasive infections and post streptococcal sequelae, leading altogether to 517,000 deaths yearly. A recent study has shown that *fabT* GAS mutant strains display an attenuated virulence, particularly in a non-human primate model of necrotizing fasciitis [1]. FabT is the transcriptional repressor of the Fatty Acid Synthesis pathway (FASII) in numerous Streptococci. Fatty acids are main constituents of membrane phospholipids and are essential for maintaining membrane homeostasis. Streptococci incorporate exogenous fatty acids in their membranes [2], and long chain fatty acids coupled to an acyl carrier protein are FabT corepressors.

The causes of the virulence defect of the *fabT* GAS mutant strains have not been investigated in depth. We hypothesized that overproduction of membrane fatty acids in the *fabT* mutants also has consequences on cell wall composition. These changes could impair adaptation and explain attenuated virulence of the *fabT* variants.

We characterized the role of FabT as a transcriptional repressor by establishing the transcriptome profiles of wild-type and *fabT* mutant strains after growth in the presence and absence of exogenous fatty acids. In parallel, changes in GAS membrane and cell-wall compositions (fatty acids, lipids, proteins) were analyzed by appropriate "omic" approaches.

Our data suggest that changes in surface composition due to *fabT* mutations also impact the capacity of GAS to adapt to its environment. This is currently under investigation. Our data establish a first link between *fabT* mutations and the virulence defect of these strains.

Mots clés : *Streptococcus pyogenes* - Fatty acids - Membrane - Virulence.

Références :

1. Eraso et al. 2016. Genomic Landscape of Intra-host Variation in Group A Streptococcus: Repeated and Abundant Mutational Inactivation of the FabT Gene Encoding a Regulator of Fatty Acid Synthesis. *Infection and Immunity*. 84:3268-3281.
2. Brinster et al. 2009. Type II Fatty Acid Synthesis Is Not a Suitable Antibiotic Target for Gram-Positive Pathogens. *Nature*. 458:83-86.

SP3 Signaling: do you have a message?

SP3-3

Pathogénie

Détermination du régulon de CcpA, un régulateur pléiotropique chez le pathogène *Streptococcus agalactiae*Anne-Emmanuelle Roux¹ (anne-emmanuelle.roux@etu.univ-tours.fr), Laurent Mereghetti^{1,2}, Emilie Camiade¹¹ ISP, Université de Tours, INRAe, Tours, France² Service de Bactériologie–Virologie, CHRU de Tours, Tours, France**Introduction et objectifs :**

Le pathogène opportuniste *Streptococcus agalactiae* est responsable de diverses infections chez un large spectre d'hôtes. La diversité des environnements rencontrés par cette bactérie montre sa grande adaptabilité et nécessite une grande capacité à acquérir des nutriments. Chez les bactéries, la répression catabolique permet de prioriser l'entrée et le catabolisme des sucres présents dans l'environnement. Chez les bactéries à Gram positif, CcpA (catabolite control protein A), un régulateur transcriptionnel pléiotrope, joue un rôle clé dans la répression catabolique. Complexée à son co-effecteur phosphorylé HPr (histidine-containing phosphocarrier protein), elle se lie à des séquences d'ADN spécifiques, les sites *cre* (*catabolite response element*) en entraînant l'activation ou la répression des gènes [1]. Certaines études ont montré l'implication de la répression catabolique dans l'adaptation et la résistance au stress chez certaines bactéries [2].

Le but de cette étude est de déterminer le régulon et le rôle de CcpA dans la physiologie et l'adaptation de *S. agalactiae*.

Matériels et méthodes :

Pour déterminer le régulon de CcpA, un transcriptome a été réalisé en milieu chimiquement défini additionné de 0,25% glucose en mi-phase exponentielle de croissance avec les souches de *S. agalactiae* sauvage et délétée du gène codant *ccpA*.

La présence de sites *cre* dans le génome de la souche de *S. agalactiae* A909 a été recherchée par analyse *in silico* avant de valider la séquence du site de fixation par retard sur gel.

Enfin, la régulation par CcpA de gènes codant des protéines putativement impliquées dans la réponse au stress est en cours d'étude via des expériences de fusion transcriptionnelles.

Résultats, discussion et conclusion :

Le transcriptome montre que CcpA régule 13,5% du génome (274 gènes). Parmi ces gènes, 77 possèdent un site *cre* selon notre recherche *in silico*. Les expériences de retard sur gel confirment le site *cre* prédit par Regprecise. Par ailleurs, les fusions transcriptionnelles ont permis de confirmer que CcpA réprimait fortement le gène *SAK_1689* (locus : *SAK_RS08505*), qui présente plus de 50% d'identité avec *Imo1580* de *Listeria monocytogenes* impliqué dans la résistance aux stress acide et oxydant [3].

Mots clés : *Streptococcus agalactiae* - CcpA - Adaptation.

Références :

1. Deutscher J, Francke C, Postma PW. 2006. How Phosphotransferase System-Related Protein Phosphorylation Regulates Carbohydrate Metabolism in Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 70(4):9391031.
2. Li C, Sun JW, Zhang GF, Liu LB. 2016. Effect of the absence of the CcpA gene on growth, metabolic production, and stress tolerance in *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. *Journal of Dairy Science*. 99(1):10411.
3. Seifart Gomes C, Izar B, Pazan F, Mohamed W, Mraheil MA, Mukherjee K, et al. 2011. Universal Stress Proteins Are Important for Oxidative and Acid Stress Resistance and Growth of *Listeria monocytogenes* EGD-e In Vitro and In Vivo. Cardona P-J, éditeur. *PLoS ONE*. 6(9):e24965.

SP3 Signaling: do you have a message?

SP3-4

Pathogénie

The role of the transcriptional regulator AgrA of *Staphylococcus lugdunensis* in the oxidative stress response

Marion Aubourg¹ (marion.aubourg@unicaen.fr), Anne Dhalluin¹, François Gravey², Cecilia Martini³, Maurizio Sanginetti³, Michel Auzou⁴, Jean-Christophe Giard¹

¹ U2RM, Université de Caen Normandie, Caen, France

² Gram 2.0, Université de Caen Normandie, Caen, France

³ Institute of Microbiology, Catholic University of Sacred Heart, Rome, Italie

⁴ CHU Caen, Université de Caen Normandie, Caen, France

Background and objectives:

Staphylococcus lugdunensis (SLU) is a coagulase-negative staphylococci that emerges as an opportunistic pathogen and can be the causative agent of infections similar to those generated by *Staphylococcus aureus* (SA). Based on the knowledge about the virulence of SA, it can be suspected that the transcriptional regulator AgrA could also play a role in the ability to cope with stresses. The *agr* locus of SLU N920143 displays 63% identity with the one of SA and is also transcribed in the opposite direction of RNAIII, another regulator of virulence genes. Thus, we constructed the *agrA* mutant ($\Delta agrA$) and analyzed its phenotypes compared to the parental strain (WT).

Materials and methods:

The *agrA* deletion mutant was constructed by homologous recombination using the pMAD vector. This $\Delta agrA$ mutant was compared to the WT in respect with H₂O₂ stress response, pigmentation, and survival in mouse macrophages. Transcriptomic study by RT-qPCR was also performed.

Results, discussion and conclusion:

Compared to WT, the $\Delta agrA$ mutant was affected in its ability to counteract oxidative stress that encountered during the infectious process. The growth of $\Delta agrA$ was significantly delayed by the addition of 0.4 mM H₂O₂ compared to the WT. Moreover, survival of $\Delta agrA$ after 2 h with 1 mM H₂O₂ was more than 10 fold reduced. Interestingly, the $\Delta agrA$ mutant colonies were white while they were slightly yellow for the WT colonies. SLU has two enzymes (CrtMN) of the pathway for the synthesis of 4,4'-Diaponeurosporene (yellow pigment) capable of absorbing excess energy from reactive oxygen species. In addition, the $\Delta agrA$ mutant was less able to survive into mouse macrophages. Our transcriptomic results were well correlated with the phenotypes since we showed repression of *crtMN* genes, as well as of *katA* encoding the catalase. As expected, the RNAIII gene was also found to be repressed in the $\Delta agrA$ mutant. However, RNAIII did not appeared involved in the observed phenotype since the corresponding mutant behaved like the WT.

Our results demonstrated that, in SLU, AgrA (and not RNAIII) was an important transcriptional regulator involved in the oxidative stress response, which is in line with its pathogenicity.

Mots clés : *Staphylococcus lugdunensis* - Oxidative stress - Virulence - Regulation - Agr.

SP4 Role of bacterial membranes vesicles and secretion systems**SP4-O.1****Trans-kingdom RNA signaling by small regulatory *Legionella* RNAs**Carmen Buchrieser*Institut Pasteur, Paris, France*

Résumé non parvenu

SP4 Role of bacterial membranes vesicles and secretion systems**SP4-1**

Pathogénie

Outer membrane vesicles produced by pathogenic strains of Escherichia coli block autophagic flux and exacerbate inflammasome activation

Laure David¹ (Laure.david@inserm.fr), Frédéric Taieb¹, Marie Penary¹, Pierre-jean Bordignon¹, Remy Planes², Valérie Duplan-Eche³, Etienne Meunier², Eric Oswald^{4,5}

¹ U1220, INSERM, Toulouse, France

² Institute of pharmacology and structural biology, CNRS, Toulouse, France

³ U1043, INSERM, Toulouse, France

⁴ IU1220, INSERM, Toulouse, France

⁵ Service de Bactériologie-Hygiène, Hôpitaux de Toulouse, Toulouse, France

Escherichia coli (E. coli) strains are responsible for a majority of human extra-intestinal infections, resulting in huge medical, economic and social costs. We had previously shown that HlyF encoded by a large virulence plasmid harbored by pathogenic E. coli is not a hemolysin but a cytoplasmic enzyme leading to the overproduction of outer membrane vesicles (OMVs). Here, we show that these specific OMVs inhibit the autophagic flux by impairing the autophagosome – lysosome fusion, thus preventing the formation of acidic autolysosome and autophagosome clearance. Furthermore, OMVs from E. coli producing HlyF are much more prone to activate the non-canonical inflammasome pathway. Since autophagy and inflammation are crucial in the host's response to infection especially during sepsis, our findings reveal an unsuspected role of OMVs in the crosstalk between bacteria and their host, highlighting the fact that these extracellular vesicles have exacerbated pathogenic properties compared to OMVs produced by isogenic strains unable to produce a functional HlyF.

Mots clés : Outer Membrane Vesicle - Escherichia coli - HlyF - Pathogenesis - Inflammasome.

SP4 Role of bacterial membranes vesicles and secretion systems**SP4-2**

Pathogénie

Environmental Plasticity of the RNA Content of *Staphylococcus aureus* Extracellular Vesicles

Brenda Silva Rosa da Luz^{1,2} (Brenda.Silva-Rosa-Da-Luz@inrae.fr), Aurélie Nicolas¹, Svetlana Chabelskaya³, Vinicius de Rezende Rodovalho^{1,2}, Yves Le Loir¹, Vasco Azevedo², Brice Felden³, Eric Guédon¹

¹ STLO, INRAE, Institut Agro, Rennes, France

² Laboratory of Cellular and Molecular Genetics, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

³ BRM [Bacterial Regulatory RNAs and Medicine] UMR_S 1230, University of Rennes, Rennes, France

Bacterial extracellular vesicles (EVs) carry various macromolecules able to affect host-pathogen interactions, such as RNAs. *Staphylococcus aureus*, an important human and animal pathogen, releases EVs whose RNA content is still unknown. Here, we investigated the RNA content of *S. aureus* EVs. A high-throughput RNA sequencing approach identified RNAs in EVs and in the EV-producing cells, the clinical *S. aureus* strain HG003, under different environmental conditions: early- and late-stationary growth phases, and presence or absence of vancomycin.

All the four main RNA functional classes (tRNAs, rRNAs, mRNAs, and sRNAs) were identified in both the purified EVs and the EV-producing cells. On average, sequences corresponding to 78.0% of the annotated transcripts in HG003 genome were identified in HG003 EVs. However, only ~5% of them were highly covered by reads ($\geq 90\%$ coverage) indicating that a large fraction of EV RNAs, notably mRNAs and sRNAs, were fragmented. According to growth conditions, from 86 to 273 highly covered RNAs were identified into the EVs. They corresponded to 286 unique RNAs, including 220 mRNAs. They coded for numerous virulence-associated factors (hld encoded by the multifunctional sRNA RNAlII, agrBCD, psm β 1, sbi, spa, and isaB), ribosomal proteins, transcriptional regulators, and metabolic enzymes. Twenty-eight sRNAs were also detected, including bona fide RsaC. The presence of 22 RNAs within HG003 EVs was confirmed by reverse transcription quantitative PCR (RT-qPCR) experiments. Several of these 286 RNAs were shown to belong to the same transcriptional units in *S. aureus*. Both nature and abundance of the EV RNAs were dramatically affected depending on the growth phase and the presence of vancomycin, whereas much less variations were found in the pool of cellular RNAs of the parent cells. Moreover, the RNA abundance pattern differed between EVs and EV-producing cells according to the growth conditions.

To our knowledge, this is the first work characterizing the RNA cargo of *S. aureus* EVs. Our findings show that EV RNAs are shaped by the environment, and suggest the selective packaging of RNAs into EVs. Finally, this study also sheds light to the possible roles of potentially functional RNAs in *S. aureus* EVs, notably in host-pathogen interactions.

Mots clés : Small regulatory RNAs - Virulence Factors - RNAlII - Vancomycin - RNA-seq.

SP4 Role of bacterial membranes vesicles and secretion systems

SP4-3

Pathogénie

Study of the contribution of the type IVB secretion system to the pathogenicity of *Yersinia pseudotuberculosis* causing the Far East scarlet-like fever

Marion Lemarignier¹ (marion.lemarignier@pasteur.fr), Anne Derbise¹, Cyril Savin¹, David Perez-Pascual², Hebert Echenique-Rivera¹, Rémi Beau¹, Julien Madej¹, Martin Sachse³, Javier Pizarro-Cerda¹

¹ *Unité de Recherche Yersinia, Département de Microbiologie, Institut Pasteur, Paris, France*

² *Unité Génétique des Biofilms, Département de Microbiologie, Institut Pasteur, Paris, France*

³ *Bioimagerie ultrastructurale, Département de Biologie Cellulaire et Infection, Institut Pasteur, Paris, France*

Yersinia pseudotuberculosis is a human pathogen conventionally associated to self-limiting gastroenteritis. However, a phylogenetically distinct cluster of *Y. pseudotuberculosis* strains is responsible for a unique syndrome named Far East scarlet-like fever (FESLF) characterized by erythematous skin rash, desquamation, and hyperemic tongue [1]. Genome sequencing of FESLF strains revealed the presence of a plasmid encoding a putative *icm/dot* type IVB secretion system (T4BSS), known to participate in the intracellular life cycle of persisting intracellular bacteria of the order Legionellales [2]. Our goal is to investigate how the T4BSS contributes to the pathogenicity of *Y. pseudotuberculosis* FESLF strains *in vitro* and *in vivo*.

Using single deletion mutants of essential structural (*dotA*) and enzymatic (*dotB*) T4BSS genes, we did not identify differences in their intracellular trafficking when comparing to wild type bacteria in human epithelial cells (HeLa and Caco-2) and murine macrophages (Raw264) at different times of infection. As observed by fluorescence microscopy and transmission electron microscopy, T4BSS mutants or wild type strains are first tightly surrounded by LAMP1-positive vacuoles which enlarge over time, allowing bacterial proliferation. By using gentamicin protection assays, no significance differences were found for their intracellular survival rate over time, suggesting no contribution of the T4BSS for bacterial intracellular survival. Interestingly, bioluminescent reporters of (*dotA*) and (*dotD*) are activated *in vitro* and upregulated at 37°C.

We are currently developing animal infection models to study FESLF disease. We use constitutive bioluminescent FESLF strains to track the spatiotemporal dynamics of infection in mice orally infected with bread. For the time being, no clear evidence was found in an attenuation of virulence of T4BSS mutants in mice. However, bioluminescent reporters are activated all along the course of infection, showing expression of the T4BSS in all infected organs. Histology and colony forming units counts in colonized organs will allow us to determine the potential role of T4BSS during FESLF progression in mice. In parallel, we have also implemented a Zebrafish infection model in which we detect a reduction in fish mortality for T4BSS mutants, suggesting that this model can be instrumental to dissect the contribution of the T4BSS to *Y. pseudotuberculosis* FESLF virulence.

Mots clés : *Yersinia pseudotuberculosis* - Type IVB secretion system - Pathogenicity - Bioluminescence.

Références :

1. Amphlett A. 2015. Far East Scarlet-Like Fever: A Review of the Epidemiology, Symptomatology, and Role of Superantigenic Toxin: *Yersinia pseudotuberculosis*-Derived Mitogen A. *Open Forum Infect Dis.* 3(1):ofv202.
2. Eppinger M, Rosovitz MJ, Fricke WF, Rasko DA, Kokorina G, Fayolle C, et al. 2007. The Complete Genome Sequence of *Yersinia pseudotuberculosis* IP31758, the Causative Agent of Far East Scarlet-Like Fever. Guttman DS, editor. *PLoS Genet.* 3(8):e142.

SP4 Role of bacterial membranes vesicles and secretion systems

SP4-4

Pathogénie

Les protéines sécrétées par le système ESX-4 de *Mycobacterium abscessus* (Mabs) : leur immunogénicité et leur rôle dans la virulence

Marion Lagune¹ (marion.lagune@uvsq.fr), Aurore Desquesnes¹, Vincent Le Moigne¹, Hamadoun Touré¹, Flor Vásquez Sotomayor², Thomas Gutschmann³, Florian Maurer², Laleh Majlessi⁴, Roland Brosch⁵, Jean-Louis Herrmann¹, Fabienne Girard-Misguich¹

¹ U1173 Infection et Inflammation, UVSQ/INSERM, Montigny-le-Bretonneux, France

² National and WHO Supranational Reference Center for Mycobacteria, Research Center Borstel, Leibniz Lung Center, Borstel, Germany

³ Division of Biophysics, Research Center Borstel, Leibniz Lung Center, Borstel, Germany

⁴ Institut Pasteur-TheraVectys Joint Lab, Institut Pasteur, Paris, France

⁵ Unité de Pathogénomique Mycobactérienne Intégrée, Institut Pasteur, Paris, France

Introduction et objectifs :

Les mycobactéries possèdent un système de sécrétion de type VII, dénommé ESX. *Mycobacterium abscessus* (Mabs), pathogène opportuniste chez l'homme, possède deux loci : *esx-3* et *esx-4*. ESX-4 est un acteur essentiel à la survie intracellulaire de Mabs au sein des cellules phagocytaires (1) à l'instar du locus *esx-1* de *Mycobacterium tuberculosis*. Nous étudions les protéines sécrétées par le système ESX-4 de Mabs, leur rôle dans la virulence ainsi que leur reconnaissance par le système immunitaire de l'hôte. L'analyse comparative du sécrétome de la souche sauvage et des mutants du système de sécrétion ESX-4 a permis d'identifier plusieurs candidats, dont EsxU et EsxT ainsi que des PE/PPE (1).

Matériels et méthodes :

Nous avons obtenu un mutant par knock-out pour *esxU* et *esxT* (Δ *esxU/T*) et nous disposons de mutants pour des protéines structurales du système ESX-4. La réponse cellulaire T vis-à-vis des protéines sécrétées est étudiée par la mesure d'interféron gamma produit par les splénocytes de la souris, après une injection sous-cutanée de Mabs.

Résultats, discussion et conclusion :

Le mutant Δ *esxU/T* ne provoque pas de rupture de la membrane du phagosome dans les macrophages comparativement à Mabs. Des expériences de biophysique ont permis de montrer que les protéines EsxUT peuvent interagir avec les membranes, suggérant un rôle de « pore-like » pour EsxUT pouvant entraîner la rupture de la membrane du phagosome. Cependant, le mutant Δ *esxU/T* a démontré une virulence accrue dans différents modèles animaux. De plus, nous avons pu observer l'absence de réponse T détectée vis-à-vis de EsxU/T chez la souris, posant la question de leur synthèse in vivo au cours de l'infection. Comparativement, une réponse T a été obtenue vis-à-vis de certains peptides issus des PE/PPE après injection de Mabs. Cette réponse T s'est avérée diminuée après injection du mutant ESX-4, démontrant pour la première fois, selon cette approche in vivo, leur sécrétion via ESX-4. Nous proposons que les substrats EsxU/T seraient essentiels à la mise en place de l'infection, mais non essentiels ensuite. Deux autres substrats, comme les PE/PPE étudiées, présentent une réponse T au cours de l'infection et pourraient représenter des cibles diagnostiques et vaccinales pertinentes.

Mots clés : Mycobactérie - ESX - Système de sécrétion de Type VII - PE - PPE.

Références :

1. Laencina L, Dubois V, Le Moigne V, Viljoen A, Majlessi L, Pritchard J, et al. Identification of genes required for *Mycobacterium abscessus* growth in vivo with a prominent role of the ESX-4 locus. Proc Natl Acad Sci USA. 2018 30;115(5):E1002–11.

SP5-T Mécanismes moléculaires de la résistance aux anti-infectieux

SP5-T-1

YraN : un nouvel acteur impliqué dans la transformation naturelle des bactéries gram négatives

Léo Hardy¹ (leo.hardy76@gmail.com), Xavier Charpentier²¹ Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI U1111), Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France² Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI U1111), INSERM, Villeurbanne, France**Introduction et objectifs :**

L'une des stratégies employée par les bactéries pour échapper aux traitements antibiotiques est l'acquisition de gènes de résistance par transferts horizontal de gènes (THG). Ces mécanismes permettent à une bactérie d'acquérir du matériel génétique d'une autre bactérie sans en être le descendant direct. L'un des mécanismes de THG employé par certaines bactéries est la transformation naturelle. Il permet à une bactérie dite « transformable » de capturer de l'ADN libéré par d'autres bactéries et de l'intégrer dans son génome par recombinaison homologue.

Notre projet de recherche s'attache à mieux comprendre ce mécanisme de transformation naturelle à travers l'étude de ce processus chez des bactéries gram négatives transformables et phylogénétiquement éloignées. Nos recherches ont permis d'identifier un nouvel acteur : YraN conservé chez la plupart des bactéries gram négatives et jusqu'alors de fonction inconnue.

Matériels et méthodes :

Pour comprendre le rôle d'YraN dans la transformation naturelle, nous avons réalisé diverses approches. Nous avons mené des études d'épistasie et de double hybride pour étudier les liens de YraN avec d'autres acteurs de la transformation. En collaboration avec l'équipe de Patrice Polard (LMGM, Toulouse) nous avons étudié la fonction d'YraN par des expériences de biochimie *in vitro*. Enfin, par des approches génétiques et génomiques, nous avons voulu comprendre le rôle de YraN dans la recombinaison de l'ADN exogène.

Résultats, discussion et conclusion :

Nos recherches ont permis de montrer que YraN était spécifiquement impliqué dans les voies moléculaires dédiées à la recombinaison de l'ADN transformant. YraN serait une nucléase qui agirait en partenariat avec ComM, une hélicase récemment découverte pour être spécifiquement impliquée dans la transformation. Ensemble ces deux protéines permettraient d'acquérir de plus larges fragments d'ADN et donc de contribuer plus activement à l'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques souvent présents sous la forme de larges îlots génomiques de résistance. La découverte d'un tel système conservé est une avancée significative dans la compréhension du mécanisme de transformation naturelle et aussi un réel espoir pour limiter de façon globale la dissémination des gènes de résistance.

Mots clés : Transformation naturelle - Transfert Horizontal de gènes - Recombinaison homologue.

SP5-T Mécanismes moléculaires de la résistance aux anti-infectieux**SP5-T-2****Toutes les données sur les intégrons de résistance aux antibiotiques : INTEGRALL database**

Thomas Jové¹ (thomas.jove@unilim.fr), Marie-Cécile Ploy¹, Sandra Da Re¹, Isabel Henriques²

¹ UMR1092/RESINFIT, INSERM/Université de Limoges, Limoges, France

² CESAM & Department of Biology, University of Aveiro, Aveiro, Portugal

Les intégrons sont des éléments génétiques bactériens très répandus et largement impliqués dans la dissémination et l'expression de gènes de résistance aux antibiotiques sous la forme de cassettes. L'essor des séquençages complets de génomes et métagénomes bactériens s'est accompagnée d'une augmentation considérable de la diversité des séquences d'intégrons disponibles et souvent non caractérisées. En effet, au moins 17% des génomes bactériens disponibles présentent des intégrons (1).

INTEGRALL (integrall.bio.ua.pt) est une base de données développée comme un centre de ressources sur les intégrons au service de la communauté scientifique(2). INTEGRALL est un outil de référence pour l'information, la recherche et l'annotation de ces structures génétiques. Cette base de données est la propriété conjointe de l'Université de Limoges et de l'Université d'Aveiro au Portugal, et est gérée par l'Université de Limoges (UMR 1092 RESINFIT) depuis 10 ans.

Librement accessible, elle opère une triple mission : (i) la mise à jour de la collection d'intégrons disponible en ligne, après leur analyse détaillée, (ii) la mise en place d'un système de numérotation des intégrons sur la base de leur contenu en cassettes et (iii) l'analyse d'intégrons dans toute séquence envoyée par des chercheurs.

Chaque année, environ 1000 nouvelles séquences d'intégrons sont compilées dans la base et une centaine de requêtes (questions, annotation d'intégrons dans séquence simple ou génomes complets) de chercheurs du monde entier sont traitées chaque année.

La présentation consistera à montrer comment INTEGRALL participe à l'effort de recherche contre l'antibiorésistance en augmentant la visibilité des connaissances sur les intégrons et en permettant l'initiation de projets de recherche collaboratifs.

Les limites actuelles et perspectives souhaitées pour la base seront aussi discutées.

Mots clés : Intégrons - Antibiorésistance, Base de données, Éléments Génétiques Mobiles.

Références :

1. Escudero,J.A., Loot,C., Nivina,A. and Mazel,D, 2015; The Integron: Adaptation On Demand. *Microbiol. Spectr.*, 3, MDNA3-0019–2014.
2. MouraA., Soares,M., Pereira,C., Leitão,N., Henriques,I. and Correia,A. , 2009, INTEGRALL: a database and search engine for integrons, integrases and gene cassettes. *Bioinforma. Oxf. Engl.*, 25, 1096–1098.

SP5-T Mécanismes moléculaires de la résistance aux anti-infectieux

SP5-T-3

Role of the SOS response in the conjugative transfer and genome maintenance of multidrug resistance *Salmonella* Genomic Island 1

Marine C. Pons^{1,2} (marine-c.pons@inrae.fr), Karine Praud^{1,2}, Sandra Da Re^{3,4}, Marie-Cécile Ploy^{3,4}, Axel Cloeckeaert^{1,2}, Benoît Doublet^{1,2}

¹ Infectiologie et Santé Publique, INRAE, Nouzilly, France

² Université de Tours, Tours, France

³ RESINFIT, INSERM, Limoges, France

⁴ Université de Limoges, Limoges, France

Introduction and objectives:

Salmonella Genomic Island 1 (SGI1) is a multidrug resistance integrative mobilizable element specifically mobilized *in trans* by IncC and IncA conjugative plasmids. SGI1 hijacks the plasmid conjugation apparatus to be mobilized. However, these mobile elements are incompatible in a bacterial population. This incompatibility is caused by SGI1 transient replication that involves, besides IncC/IncA factors, the SGI1 regulatory region *sgaCD* (1, 2). SgaCD are functional homologues of the IncC master activator AcaCD proteins. Unlike *acaCD*, the regulation of *sgaCD* expression has not been characterized yet.

The identification of LexA binding motifs on SGI1, especially in the putative promoter region of *sgaCD*, suggested it may constitute a SOS response-regulated region. Moreover, plasmid entry by conjugation as single-strand DNA in recipient bacteria is known to activate transiently the SOS response (3). Therefore, in the present study we assessed if the entry of an IncC plasmid by conjugation could lead to transient activation of the SOS response, resulting in the *sgaCD* expression and other SGI1 genes under its control.

Materials and methods:

We performed β -galactosidase reporter assay to quantify the SOS response activation in transconjugant cells during conjugation based on the model of Baharoglu et al. (3). We also used β -galactosidase reporter assay to quantify *sgaCD* promoter activity in different conditions and using different genetic backgrounds. We realized electromobility shift assays to confirm the physical interaction between LexA and its potential binding site in *sgaCD* promoter. Finally, we performed a RT-qPCR assay to explore the impact of the SOS response on the expression of SGI1 genes.

Results, discussion and conclusion:

We showed that the IncC conjugative entry activates the SOS response. Molecular experiments confirmed that the LexA binding site in the *sgaCD* promoter region is functional, resulting in the SOS-dependent control of *sgaCD* expression. Furthermore, we also showed that nearly all conjugative transfer and maintenance genes harboured by SGI1 are induced by the SOS response activation directly and/or in a SgaCD dependent manner.

Further work is ongoing to confirm the role of the SOS response in the molecular crosstalk between SGI1 and IncC/IncA plasmids through conjugation and maintenance experiments.

Mots clés : SGI1 - SOS response - IncC plasmid - Multidrug resistance.

Références :

1. Huguet, K.T., Rivard, N., Garneau, D., Palanee, J. and Burrus, V. (2020) Replication of the *Salmonella* Genomic Island 1 (SGI1) triggered by helper IncC conjugative plasmids promotes incompatibility and plasmid loss. *PLoS Genet.*, 16, 1–22.
2. Szabó, M., Murányi, G. and Kiss, J. (2021) IncC helper dependent plasmid-like replication of *Salmonella* Genomic Island 1. *Nucleic Acids Res.*, 49, 832–846.
3. Baharoglu, Z., Bikard, D. and Mazel, D. (2010) Conjugative DNA transfer induces the bacterial SOS response and promotes antibiotic resistance development through integron activation. *PLoS Genet.*, 6, 1–10.

SP5-T Mécanismes moléculaires de la résistance aux anti-infectieux

SP5-T-4

Deep mutational scanning of essential genes in bacteria using Cas9-mediated recombineering

Alaksh Choudhury (alaksh.choudhury@colorado.edu), Olivier Tenaillon

IAME, U1137, INSERM, Paris, France

Mutations in bacterial essential genes are crucial in bacterial adaptation and in the evolution of resistance. Deep mutational scanning (DMS) of essential genes, to compare fitness of several mutations in parallel, can help us understand the molecular basis of adaptation. Libraries with high mutation efficiency and diversity are required for accurate fitness estimates using DMS. It is also important to study essential genes in their native genomic context to preserve epigenetic regulation and prevent discrepancies due to copy number variation on plasmids. We developed a technology, CRISPR/Cas9 mediated genomic error-prone editing or CREPE, for deep mutational scanning of targeted *E. coli* genomic loci. We optimized Cas9-mediated recombineering to integrate a library of mutations made using error-prone PCR at a target locus on the genome using a single gRNA pre-validated for high editing efficiency. Using CREPE, we developed libraries with ~85% mutation efficiency for non-essential genes and 40-60% mutation efficiency for essential genes in bacteria. We used CREPE for several important applications. Firstly, we used CREPE to identify potential functional residues in essential genes. Secondly, we used CREPE to target the beta subunit of RNA polymerase, *rpoB*, to understand the resistance to rifampicin, an essential tuberculosis chemotherapy drug. In addition to identifying 40 rifampicin-resistance conferring mutations, we built upon important biochemical and epidemiological findings for rifampicin resistance. Our precise fitness estimates correlated with biochemical importance and clinical success of mutations. We also determined the effect of antibiotic (rifampicin) concentration on fitness and selection, which helped us understand the potential impact of antibiotic dosage on the emergence and transmission of resistance. Using CREPE, we also estimated the fitness of double mutants to study epistasis and understand the density of compensatory mutations within the target. Finally, we used CREPE to understand pleiotropy. Mutations in essential genes are highly pleiotropic i.e., they impact fitness of bacteria in several environments. Therefore, pleiotropy is important for controlling evolutionary dynamics and emergence of complex phenotypes such as multi-drug resistance. We compared the fitness of a pleiotropic hotspot on the genome in several environments to understand the molecular basis of pleiotropy.

Mots clés : CRISPR-Cas9 - Genome editing - Antibiotic resistance - Pleiotropy - Evolution.

Références :

1. Choudhury et al., 2020, CRISPR/Cas9 recombineering-mediated deep mutational scanning of essential genes in *Escherichia coli*. *Mol Syst Biol* (2020)16:e9265.

SP5-T Mécanismes moléculaires de la résistance aux anti-infectieux

SP5-T-5

New fluorescent chemical probes targeting bacterial efflux to early detect and fight the first barrier in gram-negative bacteria antibiotic resistance

Johan Revol-Tissot (revoltissot.j@gmail.com), Julia Vergalli, Jean-Marie Pagès, Jean-Michel Bolla, Gérard Boyer, Sandrine Alibert

UMR MD1, U-1261, MCT, INSERM, IRBA, Aix-Marseille Universités, Marseille, France

Introduction and aims:

Antimicrobial resistance is one of the more serious problems of Public Health. Worrying levels worldwide involve therapeutic failure of large antibiotic classes especially in Gram-negative bacterial diseases because of imposed selective pressure. [1] Efflux overexpression is a major early-stage trigger in Multi-Drug Resistance setting up. Resistance-Nodulation-cell-Division superfamily constitutes resistance first line in Gram-negative bacteria. [2] While it can affect resistance prevalence in clinic, it becomes critical to work on several issues, notably in the field of diagnosis tools enabling early antibiotic treatment optimisation and adaptation for patients. [3]

Materials and methods:

One pertinent approach involves the search for new compound derivatives with high fluorescent signal as chemical tool responsive to efflux pump expression clinical resistance. Starting from selected natural product library screening and thanks to developed spectrofluorometric accumulation method from our laboratory, [4] we were able to identify interesting pharmacophores. For that, Minimum Inhibitory Concentration and accumulation measurements with high fluorescence intensity in bacteria were determined for starting commercial and new synthesized compounds against various efflux pumps expression *E.coli* strains with porins and CCCP – AcrAB-TolC proton pumps inhibitor – impact.

Results, discussions and conclusions:

A molecular structure was first selected for its fluorescent properties. Different substitutions on scaffold were tested. Two positions conduced to the most interesting fluorescence increase signal with good polarity electro-donor functions and no cytotoxic effects on bacteria growth. We measured compounds cell accumulation according to concentration ratio in deleted and different level efflux producer strains to determine efflux sensitivity. Hydrophilic-hydrophobic balance confirmed to be crucial to select a molecule with efflux uptake. Indeed, alkyl chain variations especially 5 carbons showed the best accumulation ratio, according to pump expression, at least threefold higher than fluoroquinolone controls for similar overall accumulation profiles. We demonstrated that derivatives weren't exhibiting any significant influx variation for short time in porin underexpressed strains. We are still focused on new scaffold substitutions vs. hit on *E. coli* and other AcrAB-TolC producer strains. They constitute a strong basis to improve real-time diagnosis tool design [5] allowing antibiotic accumulation identification as susceptibility test linked with efflux resistance early appearance in clinic.

Mots clés : Bacterial resistance - Efflux pumps - Diagnosis - Fluorescence - Drug design.

Références :

1. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance 2014. WHO. Available from: <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>
2. Alibert S, N'gompaza Diarra J, Hernandez J, et al. 2016. Multidrug efflux pumps and their role in antibiotic and antiseptic resistance: a pharmacodynamic perspective, Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology.; 13(3):301-309
3. O'Neill J. 2016. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. The review on antimicrobial resistance. p.886.
4. Vergalli J, Dumont E, Cinquin B, Maigre L, Pajovic J, Bacqué E et al. 2017. Fluoroquinolone structure and translocation flux across bacterial membrane. Sci Rep. 7(1):9821.
5. Puttaswamy S, Gupta SK, Regunath H, Smith LP, Sengupta S. 2018. A Comprehensive Review of the Present and Future Antibiotic Susceptibility Testing (AST) Systems. Arch Clin Microbiol. Vol No: 9 Iss No: 3:83.

SP6-T Dynamique des réservoirs environnementaux**SP6-T-O.1****Les hydrosystèmes : des intégrateurs de l'antibiorésistance ?**Estelle Jumas-Bilak*Université de Montpellier, Montpellier, France*

Résumé non parvenu

Environnement

Parcours Charles Mérieux - Biosécurité /

SP6-T Dynamique des réservoirs environnementaux**SP6-T-1****Flux journalier de SARS-CoV-2 dans les eaux usées : un des indicateurs opérationnels pour la gestion de la crise sanitaire au Luxembourg**

Henry-Michel Cauchie (henry-michel.cauchie@list.lu), Jean-Baptiste Burnet, Cécile Walczak, Leslie Ogorzaly

Environmental Microbiology and Biotechnology, Luxembourg Institute of Science and Technology, Belvaux, Luxembourg

En parallèle d'un test massif des personnes par RT-PCR, la circulation du virus a aussi été suivie au Luxembourg par l'analyse des eaux usées dès la fin mars 2020. L'objectif de l'étude CORONASTEP était de valider la surveillance des eaux usées comme outil de gestion de crise sanitaire dans le pays.

Le réseau de surveillance complet comprend 13 stations d'épuration (STEP), échantillonnées une fois par semaine entre mars et septembre 2020 puis deux fois par semaine à partir d'octobre 2020. L'ensemble de ces échantillons représente l'équivalent de 75% de la population du pays. Un échantillon composite représentant 24 heures de prélèvement est constitué à l'entrée de chaque STEP. Les échantillons ont été clarifiés par centrifugation le surnageant a été concentré par ultrafiltration (Amicon® Plus-15, seuil de coupure de 10 kDa (Millipore)). L'extraction de l'ARN viral a été effectuée à l'aide du mini kit QIAamp Viral RNA (Qiagen). La présence d'ARN du SARS-CoV-2 a été recherchée dans les échantillons par deux tests RT-PCR quantitative distincts ciblant le gène E et le gène N. Les données de concentrations en SARS-CoV-2 sont converties en flux journaliers entrant dans les STEP par multiplication par le débit d'eau journalier entrant pendant la phase d'échantillonnage. Parallèlement au suivi temporel de la contamination, des expériences de persistance du signal PCR de 6 gènes spécifiques de SARS-CoV-2 ont été menées à trois températures différentes afin de valider les meilleurs marqueurs de présence de ce virus dans les eaux.

L'étude-CORONASTEP a permis la validation de la surveillance par les eaux usées comme source d'information pertinente pour la gestion de la crise sanitaire par le gouvernement. Les marqueurs utilisés pour les RT-PCR sur les eaux usées sont suffisamment stables pour donner une réponse fiable dans les conditions climatiques rencontrées au cours de l'année. La dynamique des flux de SARS-CoV-2 dans les eaux usées est fortement corrélée à la dynamique du nombre de cas actifs obtenus par le test direct de la population par RT-PCR. La rapidité d'acquisition des données dans les eaux usées permet d'anticiper de plusieurs jours les variations de prévalence déductibles des données de test RT-PCR dans la population.

Mots clés : SARS-CoV-2 - Epidémiologie - Eaux usées - Gestion de crise.

SP6-T Dynamique des réservoirs environnementaux**SP6-T-2****Séquençage de génomes complets du SARS-CoV-2 dans les eaux usées : de l'optimisation du séquençage par technologie Oxford Nanopore à la surveillance des variants à Nantes**

Laure Barbé^{1,2} (lbarbe@ifremer.fr), Sarah Jousse^{1,2}, Alban Besnard^{1,2}, Julien Schaeffer^{1,2}, Sébastien Wurtzer^{2,3}, Laurent Moulin^{2,3}, Françoise S Le Guyader^{1,2}, Marion Desdouits^{1,2}

¹ Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie (LSEM), IFREMER, Nantes, France

² Réseau Obépine, Paris, France

³ R&D Laboratory, DRDQE, Eau de Paris, Ivry/Seine, France

Introduction et objectifs :

Depuis le début de la pandémie de Coronavirus Disease-19 (COVID-19), de nombreuses mutations du Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) ont été rapportées et ont conduit à l'émergence de variants préoccupants (VOC) présentant une augmentation du pouvoir de transmission, de la virulence ou de l'évasion immunitaire. En parallèle, la mise en évidence d'une excrétion virale par voie fécale a conduit à la quantification génomique en SARS-CoV-2 dans les eaux usées, apportant des informations sur les dynamiques des infections à SARS-CoV-2 au sein d'une population incluant des individus symptomatiques et asymptomatiques. Dans cette étude, notre objectif était d'optimiser une technique de séquençage conçue pour les échantillons cliniques afin de l'appliquer à la matrice complexe et mélangée que constitue l'eau usée, et ainsi décrire la diversité génétique virale au niveau communautaire.

Matériel et méthodes :

Des échantillons composites de 24h d'eaux usées brutes ont été collectés chaque semaine dans deux stations de traitement des eaux usées à Nantes (France). Après concentration, les acides nucléiques ont été extraits, et les concentrations génomiques en SARS-CoV-2, déterminées par RT-PCR quantitative. Des échantillons prélevés entre Avril 2020 et Avril 2021 ont été soumis à un séquençage du génome entier en utilisant les amorces et le protocole du réseau ARTIC et un séquenceur Mk1C (Oxford Nanopore Technologies). Le protocole a ensuite été optimisé pour atteindre une couverture avoisinant le génome entier. Enfin, la diversité virale du SARS-CoV-2 et la présence de VOC ont été évaluées par analyse des variations mono-nucléotidiques (SNV).

Résultats, discussion et conclusion :

Nous avons réussi à améliorer la couverture du génome en partant de 10% environ pour atteindre 90% en moyenne à la profondeur 30, nous permettant ainsi de détecter de nombreux SNVs. L'analyse rétrospective des échantillons d'eaux usées, par séquençage et qRT-PCR spécifique de la délétion 69-70, a mis en évidence l'émergence du VOC Alpha (variant dit « anglais ») à Nantes. Globalement, ces données suggèrent que le séquençage Oxford Nanopore de l'ARN du SARS-CoV-2 dans les eaux usées peut être utilisé pour détecter et surveiller les mutations fonctionnelles et les VOC circulant au sein d'une population.

Mots clés : SARS-CoV-2 - Eau usée - Séquençage de nouvelle génération - Oxford Nanopore.

SP6-T Dynamique des réservoirs environnementaux**SP6-T-3****Optimisation des capteurs passifs pour la détection du SARS-CoV-2 en milieu aquatique : application dans les eaux usées**

Françoise Vincent-Hubert¹ (fvincent@ifremer.fr), Sarah Jousse¹, Marion Desouits¹, Julien Schaeffer¹, Philippe Le Mehaute², Soizick Le Guyader^{1,3}

¹ SG2M/LSEM, IFREMER, Nantes, France

² SAUR, Vannes, France

³ CCOS-OBEPINE, Paris, France

Introduction et objectifs :

La dissémination globale du SARS-CoV-2 dans les populations a conduit à une surveillance épidémiologique basée sur sa progression dans les eaux usées qui pourrait être un outil d'aide à la décision en santé publique. Par ailleurs, la présence du virus dans les eaux usées pose un risque de contamination de l'environnement aquatique qui nécessite des méthodes de surveillance. L'échantillonnage passif de virus en milieu aquatique est une méthode récemment appliquée pour les virus non enveloppés. Cette approche, facile à mettre en œuvre, a l'avantage d'être intégrative par rapport à l'échantillonnage ponctuel. Elle repose sur l'adsorption des virus sur des membranes spécifiques suivi de leurs détections moléculaires. L'objectif de cette étude était de sélectionner une membrane permettant l'adsorption du SARS-CoV-2 dans différentes matrices aquatiques et de tester l'échantillonnage passif dans les eaux usées, dans le cadre d'une étude pilote.

Matériels et méthodes :

Deux types de membranes (nylon, zetapor) ont été immergées pendant 4h et 24h dans de l'eau de distribution, des eaux usées et de l'eau de mer contaminées par du SARS-CoV-2 inactivé et un virus modèle du SARS-CoV-2, le virus de la diarrhée épidémique porcine (PEDV). Ces membranes ont ensuite été testées sur des échantillons d'eau prélevés à l'entrée de stations d'épuration puis directement en entrée de station d'épuration.

Résultats, discussion et conclusion :

Les résultats montrent que les deux virus s'adsorbent rapidement sur les membranes, que leurs concentrations augmentent au cours du temps, quel que soit le type de membrane, sauf pour l'eau de distribution. Les rendements d'adsorption mesurés sont plus élevés en eau de mer par rapport à ceux des membranes immergées dans l'eau de distribution et dans les eaux usées. La concentration de SARS-CoV-2 sur les membranes immergées dans des échantillons d'eau usée en laboratoire et en entrée de station d'épuration est inférieure à celle mesurée par échantillonnage ponctuel, respectivement de l'ordre de 1.5 Log et 2 Log.

Cette première étude montre que le SARS-CoV-2 s'adsorbe sur des membranes utilisées comme échantillonneurs passifs. Cette approche présente l'avantage d'évaluer la contamination des eaux usées en divers points du réseau d'eau usée dans les métropoles.

Mots clés : SARS-CoV-2 - Eaux usées - Surveillance - Capteurs passifs.

SP6-T Dynamique des réservoirs environnementaux

SP6-T-4

The active resistance mobilome in hospital and urban wastewater biofilms

Elena Buelow^{1,2} (marie-cecile.ploy@unilim.fr), Catherine Dauga^{3,4}, Claire Carrion⁵, Sophia Achaibou³, Sean P. Kennedy⁶, Margaux Gaschet², Thomas Jove², Sandra Da Re², Marie-Cécile Ploy², Christophe Dagot²

¹ University Grenoble Alpes, CNRS, Grenoble INP, TIMC-IMAG, Institut Jean Roget, Grenoble, France

² University Limoges, Inserm, CHU Limoges, RESINFIT, U1092, Limoges, France

³ Biomics Pole, CITECH, Institut Pasteur, Paris, France

⁴ Department of Computational Biology, Institut Pasteur, Paris, France

⁵ University of Limoges, BISCEM - US042 Inserm, UMS 2015 CNRS, Pôle Analyses Cellulaires et Tissulaires, Limoges, France

⁶ Department of Computational Biology, Institute Pasteur, Paris, France

Introduction and objectives:

Wastewaters (WW) play an important role in the dissemination of antibiotic resistance in anthropized settings and in the environment. Horizontal gene transfer (HGT) via mobile genetic elements (MGEs) is a key mechanism for the bacterial acquisition and dissemination of antibiotic resistance genes (ARGs).

Materials and methods:

As biofilms are the preferred lifestyle of bacteria in the natural environment that give support to high densities of bacteria and facilitate gene transfer, we studied hospital and urban WW biofilms directly *in situ* and in a lab model (*in vitro*) to assess and compare their potential to actively disseminate and express ARGs.

Results, discussion, and conclusion:

Microbiota and resistome composition of *in situ* hospital and urban WW biofilms was distinct, while *in vitro* WW biofilms exhibited a different core microbiota compared to their natural, *in situ* biofilm counterparts. Normalized abundance of the resistome and expression of ARGs and associated MGEs was highest in the *in situ* hospital WW biofilm, indicating that transfer of ARGs in hospital WW biofilms likely occurs at a higher frequency than in urban WW biofilms. In our laboratory WW biofilm model, the addition of ciprofloxacin lead to an increase of expression of ARGs and MGEs only in hospital WW biofilms. However, for all WW biofilms studied, expression of a diverse range of ARGs and MGEs was observed indicating that both hospital and urban WW biofilms serve as a reservoir for ARGs in which these genes are also actively expressed and transferred. Furthermore, we highlighted that the extra-polymeric substances (EPS) are differentially abundant in hospital and urban WW biofilms, and may contribute to the activity of the active resistance mobilome in WW biofilms.

Audition Prix de thèse**Intracellular replication and persistence strategies of the Q fever pathogen *Coxiella burnetii***

Mélanie Burette (melanie.burette@irim.cnrs.fr)

CNRS IRIM, Montpellier, France

Coxiella burnetii is the causative agent of human Q Fever, considered as one of the most relevant re-emerging zoonosis in Europe. *C. burnetii* infects humans through the inhalation of contaminated aerosols, causing epidemics with serious economic and health consequences. Following internalisation, *C. burnetii* subverts host cell functions to inhibit the innate immune response and generate a replicative niche called CCV (*Coxiella*-containing vacuole) characterised by a unique protein and lipid composition. My thesis project focuses on the study of the host/pathogen interactions underlying the persistence and intracellular replication of *C. burnetii*.

First, the function of the effector protein NopA was discovered showing how this protein inhibits the innate immune response in infected cells. The results obtained during my PhD have shown that NopA interacts with Ran and triggers an imbalance in its nucleocytoplasmic gradient, thereby perturbing the nuclear import of eukaryotic proteins and the expression of pro-inflammatory cytokines. In parallel, the role of lipid metabolism in the establishment of the CCV was investigated. By using a wide array of lipid probes and confocal microscopy, the lipid signature of CCVs was determined and revealed that PI(4)P and LBPA are actively subverted by *C. burnetii* during infection. Lipid pulldown assays then led to the identification of *C. burnetii* candidate effector proteins interacting with host cell lipids. One of them, CBU0635, is a putative phosphoinositide phosphatase that diverts the secretory pathway to the forming *Coxiella*-containing vacuole while CBU2007 manipulates lysobisphosphatidic acid metabolism to recruit the ESCRT machinery and block the biogenesis of multivesicular bodies. These results help to better understand intracellular replication and persistence strategies of *C. burnetii* and could allow the development of new antimicrobials and the therapeutic repurposing of *C. burnetii* proteins.

Mots clés : Host-pathogen interactions - *Coxiella burnetii* - Innate immunity - Lipid metabolism - Type IV secretion system.

Audition Prix de thèse**Rôle de l'inflammation locale dans le développement des lésions causées par *Mycobacterium ulcerans* et sa toxine**

Mélanie Foulon (melanie.foulon@unige.ch)

Université de Genève, Genève, Suisse

L'ulcère de Buruli, maladie infectieuse cutanée causée par *Mycobacterium ulcerans*, est la troisième mycobactériose après la tuberculose et la lèpre. *M. ulcerans* sécrète une toxine, la mycolactone, aux propriétés analgésiques, cytotoxiques et immunomodulatrices responsables de la colonisation du bacille dans ses hôtes et des dommages tissulaires menant au développement de vastes ulcérations cutanées. Son encapsulation naturelle au sein de vésicules extracellulaires produites par le bacille ayant précédemment été démontrée, notre premier objectif a été de développer une méthodologie permettant de caractériser rapidement ces nanoparticules. Leur utilisation au sein de modèles expérimentaux a permis par la suite de mettre en lumière une nouvelle facette de la mycolactone. Nos résultats ont montré sa capacité à activer les inflammasomes NLRP3 et NLRP1, menant à la production de la cytokine pro-inflammatoire IL-1 β . Ces observations soulignent le potentiel immunostimulateur inédit de la mycolactone, jusqu'alors décrite comme une puissante cytokine immunosuppressive.

L'axe suivant de notre étude a porté sur la caractérisation du phénomène de cicatrisation spontanée, au cours duquel opère une résolution des processus inflammatoires locaux observés lors de l'ulcération. Nous avons montré que ce phénomène était lié à l'absence du récepteur membranaire GPR84. Sa surproduction médiée par *M. ulcerans* chez les macrophages semble mener au maintien de l'inflammation tissulaire, menant à terme à la nécrose. Finalement, le dernier axe a consisté à évaluer les bénéfices d'un régime alimentaire aux propriétés anti-inflammatoires : le régime cétogène. Ces travaux ont mené à l'identification d'un métabolite, le β -hydroxybutyrate, impliqué dans le contrôle de la production de mycolactone, ouvrant la voie au développement d'un nouvel adjuvant thérapeutique. L'ensemble de ces observations expérimentales met en avant l'implication de la réponse inflammatoire locale lors des stades avancés d'ulcère de Buruli.

Mots clés : *Mycobacterium ulcerans* - Vésicules extracellulaires - Mycolactone - Inflammation.

Audition Prix de thèse**Impact des ARN génomiques des Entérovirus-B tronqués en région 5' non-codante sur l'activation de la réponse interféron de type I dans les cardiomyocytes humains**Marie Glenet*UFR Médecine de Reims, Reims, France*

Des ARN génomiques d'Entérovirus du groupe-B (EV-B) tronqués en région 5' non-codante ont été associés au développement de cardiomyopathies humaines. L'impact de ces ARN génomiques viraux sur l'activation de la réponse interféron (IFN) de type I dans les cellules cibles reste inconnu. Dans des cas de myocardite humaine ou expérimentale à EV-B, nous avons identifié par RACE-PCR différentes formes d'ARN tronqués dont les proportions étaient corrélées positivement ou négativement aux niveaux IFN- β dans les tissus cardiaques. Par transfection de formes synthétiques complètes ou tronquées d'ARN CV-B3 dans des proportions imitant celles observées chez les patients dans des cardiomyocytes, nous avons démontré que la structure «d» du domaine I de l'ARN EV-B possède un motif immunomodulateur de cinq nucléotides responsable de l'induction de la voie IFN- β . En utilisant des cellules STING-37 knockdown pour chaque RLR (RIG-I ou MDA5), nous avons montré que la détection des formes d'ARN 5'TD caractérisées par la perte de ce motif nucléotidique était dépendante de RIG-I et associée à un rétrocontrôle négatif de LGP2, ce qui entraîne une diminution de la réponse IFN- β dans les cellules infectées. En revanche, la détection immunitaire innée des formes FL ou 5'TD avec une tige-boucle «d» conservée était dépendante de MDA5 et associée à des niveaux plus élevés d'IFN- β . Les délétions naturelles de nucléotides affectant le domaine I de la région 5'NC du génome EV-B modulent la détection immunitaire de l'ARN viral par les RLRs. Ces données ouvrent de nouvelles perspectives d'immunothérapie ciblées visant à induire une clairance des tissus cardiaques humains infectés par les EV-B.

Mots clés : Entérovirus du groupe B - Délétion génomique en région 5'NC - Myocardite aiguë - Interférons de type 1 - Récepteurs de type RIG-I - Immunité innée.

Audition Prix de thèse

Étude du microbiote de l'environnement de l'usine agroalimentaire et de son impact sur la qualité et la sécurité des aliments

Aurélien Maillet

Mars Global Services Laboratories, Aimargues, France

L'hygiène des surfaces est primordiale dans la démarche qualité des industriels de l'agroalimentaire. Les bactéries non pathogènes, capables de résider au sein des usines, sont en général non-identifiées mais peuvent être altérantes et contaminer les denrées à chaque étape de fabrication. Elles représentent donc un risque qui doit être maîtrisé pour garantir la qualité et la sécurité des aliments. Dans ce travail, le saumon fumé a été utilisé comme modèle pour caractériser la diversité des communautés bactériennes des ateliers de transformation des aliments et des produits par metabarcoding de l'ADNr 16S. Une analyse comparative de différentes méthodes d'extraction de l'ADN et de techniques de prélèvement de surface a permis de définir leurs impacts sur les résultats d'une analyse de metabarcoding 16S.

De ce fait, nous avons pu sélectionner les conditions méthodologiques de l'étude. L'analyse de la diversité des communautés bactériennes de différents lots de saumon fumé démontre un lien avec l'atelier de production dans lequel ils ont été transformés. Ceci suggère que les produits conservent une signature du microbiote de l'environnement de production. Enfin, une comparaison des communautés bactériennes des produits et de différentes surfaces de l'usine permet d'identifier les sources environnementales de contamination. L'utilisation de cette approche, en contexte industriel, peut permettre de mettre en œuvre des mesures correctives ciblées afin de réduire les risques d'altération des produits et le gaspillage alimentaire.

Mots clés : Écologie Microbienne - Microbiote - Metabarcoding - Aliment - Surfaces - Bactéries.

Audition Prix de thèse**Loss of heterozygosity: Its impact on generating and shaping genetic variations in the human fungal pathogen *Candida albicans***

Timéa B. Marton (timea.marton@pasteur.fr)

Institut Pasteur, Paris, France

Candida albicans is an opportunistic human pathogen possessing a relatively heterozygous diploid genome that is highly tolerant to particular genomic rearrangements, namely loss-of- heterozygosity (LOH). These two genomic hallmarks are thought to participate in the successful adaptation to its fluctuating host-dependent environment. In this thesis, we **first** made an inventory of LOH events within a collection of clinical *C. albicans* isolates and highlighted that LOH are principally short in size, which permits to generate new allelic combinations while maintaining relatively high overall heterozygosity level. **Secondly**, we identified recessive lethal alleles which constrains the directionality of these LOH events, and demonstrated that such constrains could be alleviated by recombinogenic properties of repeat sequences. A major source of LOH are DNA double-strand breaks (DSB), which have been previously shown to primarily be repaired through homologous recombination-mediated repair pathways in *C. albicans*, resulting in various lengths of LOH. **Thirdly**, we focused on break- induced replication (BIR) in *C. albicans*, which leads to long-tract LOH, spanning numerous kilobases until the telomere. Through characterization of different genes involved in DNA repair, we found that BIR was unexpectedly associated with homozygosity tracts between the break site and the centromere caused by intrinsic features of BIR and the activity of the mismatch repair pathway on natural heterozygous positions. **Fourth**, because strains often display numerous concomitant genomic rearrangements upon use of a classical transformation protocol, we investigated the recently developed CRISPR-Cas9 protocol and showed that this method seems to reduce simultaneous rearrangements, namely aneuploidy events. Although LOH are pervasive and implicated in various aspect of *C. albicans* biology, including acquisition of adaptive phenotypes, little is known regarding genome-wide LOH dynamics. **Fifth**, using a molecular approach, we highlighted elevated levels of heterogeneity in terms of genome stability, LOH frequency, at several levels, inter-strain, intra-strain and inter-chromosomes in basal and stress conditions. The presence of such heterogeneity participates in generating a wide-spectrum of genome instability potential within a population, perhaps facilitating the generation of new allelic combinations, a powerful adaptive strategy in a predominantly clonal organism such as *C. albicans*, which is continuously exposed to an evolving environment.

Mots clés : *Candida albicans* - Loss-of-heterozygosity - Genome stability - Heterogeneity.

Audition Prix de thèse**Les Ruminococcines C, une nouvelle famille de sactipeptides comme alternatives aux antibiotiques conventionnels**

Clarisse Roblin (clarisse.roblin@univ-amu.fr)

Aix Marseille Université, Marseille, France

La recrudescence des maladies infectieuses associée à l'émergence croissante de souches résistantes aux antibiotiques et au manque de nouveaux antibiotiques s'est rapidement intensifiée au point de devenir une des menaces majeures de Santé Publique. Dans ce contexte, des molécules avec une activité antibactérienne sont activement recherchées. Les peptides à synthèse ribosomale et modifiés post-traductionnellement (RiPPs) constituent une mine de potentielles alternatives aux antibiotiques. Un des membres proéminents du microbiote intestinal humain, *Ruminococcus gnavus*, produit diverses RiPPs antibactériens nommés Ruminococcines. Mon projet de thèse a porté sur les Ruminococcines C (RumC) qui sont synthétisées sous formes de plusieurs variants par la souche E1, uniquement dans le contexte de la symbiose chez un hôte animal. Au cours de ce projet, un protocole d'extraction des différentes isoformes de RumC a été établi à partir de contenus caecaux de rats mono-colonisés par *R. gnavus* E1. D'un côté, leur caractérisation par spectrométrie de masse a permis de les classer comme sactipeptides puisque toutes les isoformes présentent quatre ponts thioéther entre l'atome de soufre d'une cystéine et le carbone alpha d'un acide aminé accepteur. Des analyses de mutagenèse et structurale de RumC1 ont révélé une structure tri-dimensionnelle inédite, attribuant cette isoforme à une nouvelle famille de sactipeptide. D'un autre côté, la caractérisation biologique de RumC1 a démontré son potentiel prometteur en tant qu'agent thérapeutique. En effet, RumC1 possède *in vitro* une forte activité contre des pathogènes à Gram-positif, y compris des souches multi-résistantes. De plus, le traitement avec RumC1 a été efficace pour guérir des souris d'une infection léthale causée par *Clostridium perfringens*. Enfin, RumC1 présente des caractéristiques propres et indispensables aux médicaments comme la résistance à des traitements de protéolyse, physique ou chimique ; une absence de toxicité pour les tissus humains ; et une faible proportion à générer de la résistance. Il est à noter que l'absence de ces propriétés est souvent une des limitations du développement clinique des RiPPs. D'autre part RumC1 présente des activités secondaires avantageuses pour la médecine humaine, telles que des activités anti-inflammatoire et pro-cicatrisante. Par conséquent, RumC1 semble être un bon candidat pour le développement d'alternatives aux antibiotiques. Des résultats préliminaires sur le mode d'action de RumC1 ont montré qu'elle inhibe la synthèse d'ATP et – probablement par conséquence – d'ADN, d'ARN, de protéines et du peptidoglycane.

Mots clés : RiPPs - Sactipeptides - Bactériocines - Antibiotiques - *Ruminococcus gnavus* E1 - Microbiote intestinal humain.

Conférences plénières

La biosphère invisible des sources hydrothermales océaniques profondes : diversité, physiologie, écologie et potentiel biotechnologique

Karine Alain (Karine.Alain@univ-brest.fr)

CNRS UMR6197 LM2E Laboratoire de Microbiologie des Environnements Extrêmes, Plouzané, France

La découverte d'écosystèmes chimiosynthétiques au niveau des sources hydrothermales océaniques profondes a bouleversé notre vision de la (micro)biologie. Ces environnements singuliers hébergent des taxons microbiens aux métabolismes variés, répartis dans les différentes branches du vivant, et adaptés aux conditions extrêmes de leur habitat. Dans ces milieux dynamiques, des bactéries et archées chimiosynthétiques vivant sous forme libre ou en association avec des métazoaires, exploitent le gradient rédox formé à l'interface entre le fluide hydrothermal réduct et les eaux océaniques oxygènes pour produire de l'énergie et fixer le carbone minéral. Ces microorganismes sont à la base de la chaîne trophique hydrothermale et permettent l'établissement de communautés animales et microbiennes luxuriantes, indigènes pour beaucoup, rassemblant des taxons généralistes et des microorganismes spécialistes. Ces écosystèmes abritent aussi des lignées profondes de l'arbre du vivant dont l'étude s'avère précieuse pour l'émission de scénarii d'apparition de la vie sur Terre ou de scénarii évolutifs. Si certains champs hydrothermaux ont fait l'objet de nombreuses études, les sources hydrothermales demeurent largement sous explorées à l'échelle planétaire, avec moins de 5% des fonds océaniques étudiés à ce jour.

A large échelle, les communautés microbiennes hydrothermales sont façonnées par les paramètres physico-chimiques *in situ* (notamment la température), lesquels dépendent essentiellement de la composition géochimique des fluides émis et de la nature des roches-mères sous-jacentes. A fine échelle, les patrons de diversité microbienne semblent régis par les concentrations en substrats énergétiques. Ces milieux hébergent un éventail d'organismes extrémophiles, vivant pour certains aux limites physico-chimiques du vivant. Ces extrémophiles sont de véritables réservoirs de fonctions et d'innovations, qui ont, pour certaines, trouvé des applications dans notre vie de tous les jours. A l'échelle globale, les sources hydrothermales jouent un rôle important dans le cycle des éléments et particulièrement dans la fertilisation des océans en fer et en manganèse. Ces écosystèmes uniques sont aujourd'hui menacés par des activités humaines telles que l'exploitation minière des sulfures métallifères. Dans ce contexte, la recherche et l'exploration des ressources hydrothermales et des communautés microbiennes associées requièrent toute notre attention dans l'optique de mieux les connaître et de contribuer efficacement à leur préservation.

Mots clés : Source hydrothermale - Chimiosynthèse - Extrême - Biotechnologie - Ressources minérales.

Conférences plénières

La crise sanitaire engendrée par *Xylella fastidiosa* : une bactérie phytopathogène émergente en Europe

Marie-Agnès Jacques

INRAe, Beaucouzé, France

Résumé non parvenu

Conférences plénières**Bilan de la vaccination anti-COVID 19 : quels vaccins pour quelle efficacité ?**Odile Launay*Université Paris-Descartes, Paris, France*

Résumé non parvenu

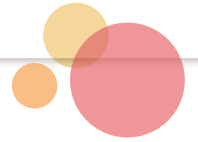


Société Française
de Microbiologie

MICROBES 2021

16^e Congrès National de la SFM

22-24
SEPT



RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS

Jeudi 23 septembre

MICROBES 2021

...mille lieux
au cœur de la
microbiologie

SP7 Connaissance et maîtrise de l'altération microbiologique des aliments**SP7-O.1****L'altération microbiologique des produits de la mer : où en est-on ?**Françoise Leroi¹ (Francoise.Leroi@ifremer.fr), Marie-France Pilet²¹ EM3B, Ifremer, Nantes, France² UMR SECALIM, INRAe-Oniris, Nantes, France

Les produits de la mer continuent à bénéficier d'une image positive de par leurs apports nutritionnels favorables et un impact environnemental plus faible que celui d'autres protéines animales. Leur consommation augmente régulièrement en particulier sous forme de produits frais conditionnés ou légèrement transformés avec des durées de vie de plusieurs jours voire semaines. Cependant, la chair est propice au développement de micro-organismes, majoritairement des bactéries, dont l'activité métabolique est responsable de la dégradation organoleptique, engendrant de lourdes pertes économiques pour les industriels. Il est donc important d'identifier les bactéries impliquées dans ce processus pour mieux les maîtriser. Les travaux sur la flore d'altération des produits de la mer légèrement transformés ont pris de l'essor depuis la fin des années 90 et les équipes nantaises d'Ifremer et d'INRAe-Oniris y ont largement contribué. Les traditionnels indicateurs bactériens (flore aérobie mésophile, coliformes...) n'étant souvent pas adaptés, les méthodes culturales se sont vite orientées vers des milieux et des conditions de culture plus spécifiques aux bactéries marines psychrotrophes. Elles ont été progressivement complétées par des approches non culturales, dont le métabarcoding 16S, d'utilisation récente, qui permet d'avoir une vision plus exhaustive des communautés présentes. Parallèlement, les travaux entrepris pour déterminer le rôle des isolats cultivables dans l'altération ont permis de faire tomber le dogme «bactérie majoritaire au seuil de rejet sensoriel du produit = bactérie altérante». Chaque espèce bactérienne a en effet sa propre signature sensorielle, qui est elle-même dépendante des interactions entre les micro-organismes au sein de la communauté. Devant la complexité des phénomènes, des analyses globales de produits naturellement contaminés tentent de mettre en lumière les relations entre les écosystèmes microbiens, les mesures physico-chimiques dont les composés volatils et les caractéristiques sensorielles, afin de proposer des indicateurs de qualité. Les analyses métagénomiques et métatranscriptomiques qui sont amorcées dans les produits de la mer, couplées à l'étude des réseaux métaboliques, devraient bientôt permettre une meilleure compréhension des mécanismes d'altération.

Mots clés : Analyse sensorielle - Produits légèrement préservés - Communautés microbiennes - Volatilome - Indicateurs.

SP7 Connaissance et maîtrise de l'altération microbiologique des aliments**SP7-1****Application de l'approche PathComDim pour la modélisation des liens de causalité entre microbiote, volatilome et profils d'odeurs associés à l'altération de la viande**

Sandrine Guillou¹ (sandrine.guillou@inrae.fr), Ngoc-Du Luong¹, Jeanne-Marie Membré¹, Louis Coroller², Monique Zagrec¹, Simon Poirier³, Stéphane Chaillou³, Marie-Hélène Desmots⁴, Dalal Werner⁴, Véronique Cariou⁵

¹ SECALIM, INRAE, Oniris, Nantes, France

² Univ Brest, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, UMT Alter'ix, Quimper, France

³ Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Institut Micalis, Jouy-en-Josas, France

⁴ Aerial, Illkirch, France

⁵ StatSC, Oniris, INRAE, Nantes, France

Introduction et objectifs :

L'altération de la viande correspond à une dégradation de ses qualités sensorielles et résulte principalement du métabolisme bactérien. L'étude de l'altération nécessite la collecte de différents types de données expérimentales incluant des mesures microbiologiques, physico-chimiques et sensorielles. L'objectif de l'étude, menée dans le cadre du projet ANR16-CE21-0006 REDLOSSES, était de mieux comprendre le processus d'altération de saucisses fraîches de dinde, en établissant des liens de causalité entre différents types de réponses liées à l'altération : la caractérisation du microbiote, la quantification des molécules volatiles ou volatilome, ainsi que les profils sensoriels associés aux odeurs.

Matériels et méthodes :

L'analyse biostatistique Multibloc, à l'aide de l'approche Path-ComDim, a été effectuée sur un ensemble de données (microbiote, volatilome, profils d'odeurs) collectées à trois temps de stockage réfrigéré, sur dix lots de saucisses fraîches de dinde produits à l'échelle industrielle, selon deux formulations (avec ou sans lactate), et conditionnées sous trois atmosphères protectrices (air, enrichie ou appauvrie en oxygène) [1].

Résultats, discussion et conclusion :

L'analyse a permis de quantifier et de confirmer l'importance des liens de causalité supposés *a priori* entre chaque réponse, et de visualiser la nature dynamique et temporelle de l'altération. Celle-ci se caractérise principalement par une évolution des profils d'odeurs indésirables dues à la production de composés organiques volatils tels que l'éthanol ou l'acétate d'éthyle, susceptibles d'être produits par plusieurs espèces bactériennes comme *Lactococcus piscium*, *Leuconostoc gelidum*, *Psychrobacter* sp. ou *Latilactobacillus fuchuensis*. De même, la production d'acétoïne et de diacétylène a été également associée à l'altération de la viande. L'approche Path-ComDim illustrée ici au travers de l'altération de la viande peut être appliquée à d'autres ensembles de données hétérogènes et de grande dimension, et représente un outil prometteur pour déchiffrer les liens de causalité dans des phénomènes biologiques complexes.

Mots clés : Modélisation - Altération - Viande - Multibloc - Durée de vie.

Références :

1. Poirier S, Luong N-DM, Anthoine V, Guillou S, Membre J-M, Moriceau N, et al. 2020. Large-scale multivariate dataset on the characterization of microbiota diversity, microbial growth dynamics, metabolic spoilage volatilome and sensorial profiles of two industrially produced meat products subjected to changes in lactate concentration and packaging atmosphere. Data in brief 30:105453, 1-8.

SP7 Connaissance et maîtrise de l'altération microbiologique des aliments**SP7-2*****Lactobacillus sp.* et la piqure acroléique dans les cidres: nouvelles perspectives sur le métabolisme du glycérol**

Boris Misery (boris.misery@unicaen.fr), Eugenia Pinetti, Fabien Cousin, Jean-Marie Laplace, Marina Cretenet

Normandie Univ, UNICAEN, UNIROUEN, ABTE, Caen, France

Introduction et objectifs :

Le rôle des lactobacilles dans la qualité aromatique des cidres est ambigu. Responsables d'arômes lactiques intéressants via la transformation malolactique, ils peuvent aussi être à l'origine de la piqure acroléique. Cette conversion métabolique du glycérol en 3-hydroxypropionaldéhyde (3-HPA), précurseur de l'acroléine (molécule indésirable et règlementée), est principalement réalisée par *Lactobacillus collinoides* via son enzyme glycérol déshydratase codée par l'opéron *pdu*. Nos travaux visent à faire le lien entre diversité bactérienne de *Lactobacillus* d'origine cidricole et la capacité de ces souches à produire du 3-HPA dans les cidres.

Matériels et méthodes :

Une collection d'isolats d'environ 5000 bactéries lactiques provenant de cidres normands a été constituée, menant à une sous-collection de 79 souches de *L. collinoides*. La présence, la diversité et l'activité de la glycérol déshydratase ont été analysées par le développement d'amorces PCR du gène *pduC*, la détection de l'acroléine via un test colorimétrique et le suivi de la dégradation du glycérol par HPLC. Huit génomes de *L. collinoides* ont été séquencés en Illumina HiSeq 2x150pb puis comparés par le logiciel SiLiX via la plateforme MaGe MicroScope. Un plan d'expérience à 6 facteurs et 2 niveaux a été mis en place sur l'étude métabolique de 3 souches de *L. collinoides*.

Résultats, discussion et conclusion :

Parmi les 79 souches de *L. collinoides*, 47 présentent un premier type d'opéron *pdu* (type1) en référence à la souche LMG18550, connue pour dégrader le glycérol, et 32 souches présentent un deuxième type (type2) en référence à la souche LMG 9194T, incapable de dégrader le glycérol. Les analyses HPLC ont montré que 100% des souches de type 1 et seulement 39% de type 2 dégradent le glycérol. Les génomes des 8 souches représentatives des 3 profils génétiques et métaboliques (type1/glycérol+, type2/glycérol+, type2/glycérol-) ont été séquencés et comparés afin de déterminer l'environnement génétique lié au métabolisme du glycérol. L'étude des facteurs environnementaux (pH, azote, fructose, glucose, éthanol, acide malique) a montré une influence sur le métabolisme du glycérol et la production de 3-HPA. Ces résultats mèneront à proposer des solutions technologiques pour détecter et limiter le développement de *L. collinoides*.

Mots clés : *L. collinoides* - Métagénome - Glycérol - Métabolisme.

SP7 Connaissance et maîtrise de l'altération microbiologique des aliments

SP7-3

Quantification des cellules viables de *Brochothrix thermosphacta* dans le saumon fumé par une nouvelle méthode de *rpoC*-PMA-qPCR

Agnès Bouju-Albert (agnes.bouju-albert@inrae.fr), Sabrina Saltaji, Xavier Dousset, Hervé Prévost, Emmanuel Jaffrès

UMR 1014 Secalim, Oniris, INRAE, Nantes, France

Introduction et objectifs :

L'altération microbienne des aliments est responsable de pertes économiques importantes. *Brochothrix thermosphacta* est l'une des principales bactéries impliquées dans l'altération de la viande et des produits de la mer, comme le saumon fumé. Ainsi, *B. thermosphacta* doit être spécifiquement quantifié tout au long du processus de fabrication du saumon fumé. La méthode de culture couramment utilisée pour quantifier cette bactérie est longue et peut sous-estimer les cellules dans un état viable non cultivable. L'objectif de cette étude est de développer une méthode PMA-qPCR pour quantifier les *Brochothrix thermosphacta* viables dans le saumon fumé.

Matériels et méthodes :

Un nouveau couple d'amorces PCR a été dessiné à partir du gène *rpoC*. L'efficacité et la spécificité de la qPCR ont été comparées à deux autres couples d'amorces publiés, ciblant les gènes *rpoC* et *rpoB*. Les colorants de viabilité PMA ou PMAxx ont été combinés à la qPCR et comparés pour ces trois couples d'amorces sur des cellules viables et mortes de *B. thermosphacta*, en bouillon BHI et dans un homogénat de tissu de saumon fumé (HTSF).

Résultats, discussion et conclusion :

L'efficacité de la qPCR *rpoC* nouvellement conçue sur les cellules viables de *B. thermosphacta* dans le HTSF était de 103,50 %, avec un coefficient de détermination linéaire (r^2) de 0,998 et une limite de détection de 4,04 log CFU/g. En utilisant les trois couples d'amorces sur des cellules viables, aucune différence significative n'a été observée entre les cellules traitées ou non traitées par PMA ou PMAxx. Lorsque des cellules mortes ont été utilisées, le PMA ou PMAxx ont supprimé l'amplification de l'ADN. Néanmoins, nos résultats n'ont pas mis en évidence de différence entre PMAxx et PMA dans leur efficacité à discriminer les cellules viables des cellules non viables de *B. thermosphacta* dans le saumon fumé. Ainsi, cette étude présente une nouvelle méthode *rpoC*-PMA-qPCR rapide, spécifique et efficace, validée sur du saumon fumé pour quantifier les *B. thermosphacta* viables dans les aliments.

Mots clés : *Brochothrix thermosphacta* - PMA - Poisson - Altération - q-PCR.

Références :

1. Bouju-Albert, A., Saltaji, S., Dousset, X., Prévost, H., Jaffrès, E. (2021). Quantification of viable *Brochothrix thermosphacta* in cold-smoked salmon using PMA/PMAxx-qPCR. *Front. Microbiol.* | doi: 10.3389/fmicb.2021.654178

SP7 Connaissance et maîtrise de l'altération microbiologique des aliments**SP7-4****Sensibilité comparée des spores bactériennes et fongiques à la lumière-pulsée et au rayonnement UV-C à 254 nm**

Imed Dorbani¹ (mohamed-imed-eddine.dorbani@inrae.fr), Catherine Duport¹, Jean Armengaud², Alain Berberian³, Christophe Riedel³, Frédéric Carlin¹

¹ UMR 408 SQPOV, INRAE, Avignon Université, Avignon, France

² Département Médicaments et Technologies pour la Santé (DMTS), CEA, Bagnols-sur-Cèze, France

³ Claranor SA, Avignon, France

La lumière pulsée (LP) est une technologie de décontamination appliquée en industrie alimentaire et pharmaceutique. Cette technologie consiste à exposer les microorganismes à un flash de lumière blanche de forte puissance et de courte durée (250 μ s). La LP est caractérisée par un large spectre (200 – 1100 nm) incluant les ultraviolets (UV), visibles et proches infrarouges. La LP montre une efficacité à inactiver les formes les plus résistantes des microorganismes (spores bactériennes et fongiques) [1]. Les cibles moléculaires de la LP sont peu connues. L'objectif de cette étude est (i) d'évaluer la sensibilité des spores de plusieurs espèces bactériennes et fongiques à la LP ; (ii) d'identifier les cibles protéiques de la LP et de les comparer à celles de la technologie UVC-254nm [2] dont le mode d'action et les mécanismes ont fait l'objet de nombreux travaux.

Le pilote LP utilisé dans cette étude a été conçu et fabriqué par la société CLARANOR [3]. Les proportions des différentes fractions du spectre lumineux ont été déterminées, notamment la fraction UVC [225-280 nm], connue pour avoir un effet germicide. La sensibilité des spores étudiées a été évaluée en les exposant à un flash de LP avec une fluence de 0 à 1,7 J/cm², et aux UVC-254nm pendant 0 à 140 s. Les protéines des spores de *Bacillus pumilus*, traitées à la LP et aux UVC-254nm ont été extraites avec une méthode de broyage mécanique. Les extraits protéiques ont été dosés et analysés par protéomique shotgun.

Les résultats montrent l'efficacité des technologies LP et UVC-254nm à inactiver les spores de diverses espèces bactériennes et fongiques. Cependant, (i) les UVC-254nm nécessitent un temps de traitement ~40 000 fois supérieur à celui de la LP pour atteindre les mêmes niveaux de destruction et, (ii) la sensibilité des spores aux deux technologies varie selon les micro-organismes. Certaines souches s'avèrent plus résistantes à la LP ou aux UVC-254nm que les souches de référence utilisées pour mesurer l'efficacité de procédés technologiques. La LP et les UVC-254nm ont des impacts sur les protéines des spores ; les effets spécifiques de chacune des technologies sont examinés.

Mots clés : Lumière pulsée - Spores - Radiations UV - Inactivation - Protéomique.

Références :

1. Levy, C., Aubert, X., Lacour, B., Carlin, F., 2012. Relevant factors affecting microbial surface decontamination by pulsed light. *International Journal of Food Microbiology* 152, 168–174.
2. Clair, G., Esbelin, J., Malléa, S., Bornard, I., Carlin, F., 2020 The spore coat is essential for *Bacillus subtilis* spore resistance to pulsed light, and pulsed light treatment eliminates some spore coat proteins. *Int J Food Microbiol*. Volume 323.
3. Site internet de l'entreprise CLARANOR : <https://www.claranor.com/fr/>

SP8-T Modélisation - Flux de microbes et de gènes de résistance & établissements de santé*(en association avec la SF2H)***SP8-T-O.1****Modélisation de la transmission intra-hospitalière des entérocoques résistants aux glycopeptides selon différentes mesures barrières**

Stéphanie Deboscker¹ (stephanie.deboscker@chru-strasbourg.fr), François Séverac², Jean Gaudart³, Céline Ménard⁴, Nicolas Meyer², Thierry Lavigne¹

¹ Service d'hygiène hospitalière, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

² Groupe méthode en recherche clinique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

³ Service de biostatistique et technologie de l'information et de la communication, APHM Marseille, Marseille, France

⁴ Laboratoire de bactériologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Introduction :

La transmission hospitalière des entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) et l'efficacité des mesures barrières sont difficiles à évaluer sur le terrain. Il est possible de faire cette évaluation *in silico*. Au XIXe siècle, des modèles mathématiques de transmissions des maladies infectieuses, de type SIR, ont été développés. Puis le niveau de complexité des modèles a évolué afin de s'adapter au mieux à la réalité. Les modèles informatiques, de type modèles multi-agents, sont bien adaptés aux populations de petites tailles et aux systèmes complexes comme l'est la transmission des ERG à l'hôpital, par l'hétérogénéité de la population et sa mobilité.

Méthodes :

Nous avons construit un modèle basé sur les agents (*agent-based model* ou ABM) sur le schéma de 2 unités de soins conventionnels et d'1 unité de soins intensifs, pour simuler la transmission des ERG de patients à patients par l'intermédiaire des mains des soignants. Différentes catégories de personnel ont été prises en compte : infirmiers, aides-soignants, internes et médecins séniors. Nous avons simulé la transmission des ERG selon plusieurs scénarios : différents taux de compliance à l'hygiène des mains (HM) avant et après un soin à tous les patients, et spécifiquement aux patients connus porteurs d'ERG ; regroupement géographique des cas sans personnel dédié ; création d'une unité dédiée avec du personnel dédié.

Résultats et conclusion :

Avec une compliance à l'HM de moins de 50 %, la diffusion des ERG n'était pas maîtrisée. Une compliance à 80 %, appliquée à l'ensemble des patients, permettait de n'avoir aucun cas secondaire dans la moitié des simulations. C'était le meilleur scénario. L'unité dédiée montrait des résultats intéressants quand le taux de compliance à l'HM était faible et l'unité ouverte précocement. Le simple regroupement géographique était moins performant.

Notre modèle a montré des résultats cohérents et a permis de confirmer l'importance de la compliance à l'HM pour tous les patients quel que soit leur statut infectieux. En cas de forte compliance à cette mesure simple, la mise en place d'organisations complexes et coûteuses comme le regroupement géographique ou l'unité dédiée, pourrait s'avérer obsolète. La part de l'environnement reste à étudier.

Mots clés : Modèles multi-agents - Mesures barrières - ERG - Transmission hospitalière - Hygiène des mains.

SP8-T Modélisation - Flux de microbes et de gènes de résistance & établissements de santé*(en association avec la SF2H)***SP8-T-O.2****Infections nosocomiales en établissement de santé : gare aux virus**Sylvie Pillet*CHU, Saint-Étienne, France*

Résumé non parvenu

Virologie

Microbiologie clinique

Anti-microbiens & résistance

SP8-T Modélisation - Flux de microbes et de gènes de résistance & établissements de santé*(en association avec la SF2H)*

SP8-T-1

Suivi d'une épidémie de *Klebsiella pneumoniae* NDM-1 : de l'épidémiologie à l'analyse génétique

Sylvain Meyer^{1,2} (sylvain.meyer@unilim.fr), Léa Marco¹, Federica Palma³, Carla Rodrigues⁴, Sylvain Brisse^{3,4}, Olivier Barraud^{1,2}, Nathalie Pestourie¹, Marie-Cécile Ploy^{1,2}, Elodie Couvé-Deacon^{1,2}

¹ Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Limoges, Limoges, France

² UMR INSERM 1092, Université de Limoges, Limoges, France

³ Centre de ressources biologiques de l'Institut Pasteur, Institut Pasteur, Paris, France

⁴ Biodiversité et Épidémiologie des Bactéries Pathogènes, Institut Pasteur, Paris, France

Introduction :

L'émergence de la résistance aux carbapénèmes représente un danger croissant de santé publique mondiale [1]. Nous décrivons la diffusion épidémique d'un clone de *Klebsiella pneumoniae* productrice de NDM-1 (Kp-NDM-1) dans deux services hospitaliers de notre CHU sur la base de la caractérisation des séquences génomiques.

Matériel et méthodes :

Entre août 2019 et décembre 2020 nous avons identifiés 52 patients porteurs de Kp-NDM-1 et sélectionnés 15 isolats selon leur phénotype de résistance et date d'isolement pour séquençage haut-débit avec la technologie Illumina. Après assemblage, les types de séquences (ST), les gènes de résistance et virulence et les plasmides ont été identifiés respectivement à l'aide de BIGSdb (<https://bigbdb.pasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html>) et Kleborate (<https://github.com/katholt/Kleborate>). De plus, 35 prélèvements environnementaux (surfaces contact des patients porteurs, siphons, toilettes) ont été réalisés par écouvillonnage pour y rechercher la Kp.

Résultats :

L'investigation épidémiologique a identifié plus de 1000 patients contact. Parmi eux, 52 étaient porteurs de Kp-NDM-1, dont 6 patients (12%) ont développé une bactériémie, 1 (2%) une infection invasive sans bactériémie et 3 (6%) sont décédés. Le portage digestif positif n'a été détecté que chez des patients ayant reçu des antibiotiques dans les 48 heures à 3 semaines précédant le prélèvement. En revanche, nous n'avons pas retrouvé de réservoir environnemental. L'analyse génomique a confirmé que les souches Kp-NDM-1 appartenaient au ST147, déjà décrit porteur de NDM-1 en Europe [2,3], et contenaient les gènes de résistance *bla*NDM-1, *bla*CTX-M-15, *bla*OXA-9, *aac*(6')-Ib, *aph*(3')-VI et *qnrS*. Le gène *bla*NDM-1 était porté par un plasmide IncR. De plus, ce clone ST147 possède l'élément intégratif et conjugatif ICEKp3 portant le cluster de gènes codant le sidérophore yersiniabactine.

Conclusion :

Cette étude démontre qu'un clone de Kp-NDM-1 ST147 portant plusieurs gènes de virulence et résistance aux antibiotiques, a circulé pendant 18 mois dans deux services d'un CHU. Aucun réservoir environnemental n'ayant été identifié, il semblerait que l'épidémie soit issue de transmissions nosocomiales non maîtrisées par les précautions complémentaires contact (PCC). La transmission n'a pu être contrôlée qu'après la mise en place de secteurs de cohorting avec une équipe soignante dédiée en plus des PCC.

Mots clés : *Klebsiella pneumoniae* - NDM-1 - Carbapénémase - Épidémie - Séquençage haut-débit.

Références :

1. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 2010 Sep;10(9):597-602.
2. Lapp Z., Crawford R., Miles-Jay A., Pirani A., Trick W.E., Weinstein R.A., et al. Regional spread of blaNDM-1-containing *Klebsiella pneumoniae* ST147 in post-acute care facilities. *Clin Infect Dis.* 2021.
3. Pérez-Vázquez M, Sola Campoy PJ, Ortega A, Bautista V, Monzón S, Ruiz-Carrascoso G, et al. Emergence of NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Spain: phylogeny, resistome, virulence and plasmids encoding blaNDM-like genes as determined by WGS. *J Antimicrob Chemother.* 2019 Dec 1;74(12):3489-3496.

SP8-T Modélisation - Flux de microbes et de gènes de résistance & établissements de santé*(en association avec la SF2H)***SP8-T-2****Outbreak of linezolid-resistant *S. aureus*/CoNS in a French hospital: evidence of clonal spread and interspecies transfer of *cfr*-positive plasmid**

Céline Dupieux^{1,2} (frederic.laurent@univ-lyon1.fr), Marina Farrel Côrtes^{2,3}, Camille André^{1,2}, Patricia Martins Simões^{1,2}, Lise Cremet⁴, Pascale Bemer⁴, Stéphane Corvec⁴, Jocelyne Caillon⁴, Agnes Marie Sá Figueiredo³, Frédéric Laurent^{1,2}

¹ Hospices Civils de Lyon, Institut des Agents Infectieux, Department of Bacteriology, French National Reference Centre for Staphylococci, Lyon, France

² Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Laboratório de Biologia Molecular de Bactérias, Rio de Janeiro, Brazil

³ Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Inserm U1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS UMR5308, Ecole Normale Supérieure de Lyon, Lyon, France

⁴ Nantes Hospital, Department of Bacteriology, Nantes, France

Objectives:

Linezolid resistance has become a worldwide concern since this drug is one of the last resort antibiotics to treat multidrug-resistant staphylococci and enterococci infections. Herein, we investigated an outbreak of staphylococcal infections involving *cfr*-positive linezolid-resistant *S. epidermidis* (SE) and *S. aureus* (SA) isolates in a French university hospital from 2015 to 2018 and the spread/transfer rate of a plasmid carrying *cfr* gene.

Methods:

Between January 2015 and May 2018, the centralized bacteriology laboratory of the University hospital of Nantes identified 29 staphylococcal isolates exhibiting resistance to linezolid (*S. epidermidis*, n=26; *S. aureus*, n=3). Antimicrobial susceptibility of isolates was tested by broth microdilution and gradient strips. Whole-genome sequencing (WGS) was used i) to perform genetic determinants of linezolid resistance, ii) to characterize the *cfr*-carrying plasmids in SA and SE, iii) to explore the clonal relationship of isolates.

Results:

All linezolid-resistant staphylococcal isolates harboured the same *cfr*-carrying plasmid, sharing 99% identity with the previously described pSA737. The 3 SA isolates belonged to different STs (ST8, ST72, and ST2416) whereas the 13 SE belonged to ST2 and harboured both *cfr* and mutations in genes encoding 23S rRNA and ribosomal proteins. Phylogenetic analysis grouped the SE isolates into 2 clusters, one of which (n=12 isolates) belonged to the multidrug-resistant worldwide-disseminated SE lineages, recently reported by Lee *et al.* The rates of plasmid transfer between SA and CoNS were clone-dependant.

Conclusion:

The present study demonstrates, for the first time, the efficient spread and persistence of a *cfr*-carrying plasmid in a single hospital related both to the dissemination of several staphylococcal clones, including a multidrug-resistant worldwide disseminated *S. epidermidis* clone, and the *in vivo* interspecies transfer of *cfr* between SE and SA, which represents a major threat for public health.

Mots clés : Staphylococci - *cfr* - Linezolid - Plasmidic resistance - Outbreak.

SP8-T Modélisation - Flux de microbes et de gènes de résistance & établissements de santé*(en association avec la SF2H)*

SP8-T-3

De la comparaison d'antibiogrammes à la modélisation évolutive pour détecter une transmission bactérienne entre patientsFlorian Peron^{1,2,3} (florian.peron@biomerieux.com), Guillaume Perrin³, Jean-Philippe Rasigade^{1,2}¹ CIRI, INSERM, CNRS, ENS Lyon, Université de Lyon, Lyon, France² Hospices Civils de Lyon, Lyon, France³ bioMérieux, Marcy-L'Etoile, France**Introduction et objectifs**

La détection précoce d'une chaîne de transmission bactérienne entre patients hospitalisés est cruciale pour limiter rapidement les épidémies et lutter contre l'antibiorésistance. Cette détection nécessite idéalement un typage moléculaire ou séquençage d'ADN, dont le coût ne permet pas une application large en soin courant. Pour contourner cette limite, nous avons proposé d'adapter les méthodes de phylogénétique à l'analyse des antibiogrammes. Notre approche, appelée métrique de densité de voisinage (N-métrique), prend en compte la similarité et la fréquence des antibiogrammes afin d'estimer la probabilité qu'un isolat ait été transmis entre deux patients. Nous avons évalué les performances théoriques de cette méthode sur des chaînes de transmission bactérienne simulées.

Matériels et méthodes

Chaque chaîne de transmission bactérienne a été simulée en générant un arbre phylogénétique complet de 104 isolats. L'évolution des traits de résistance (catégorie S ou R pour 15 molécules indépendantes) ainsi que les transmissions entre 100 patients ont été simulées par modèle de Markov [1]. Les transmissions étaient représentées en associant chaque lignée à un trait catégoriel, représentant le patient, qui évolue le long de l'arbre phylogénétique. Après simulation, les antibiogrammes de 100 isolats bactériens sélectionnés aléatoirement ont été analysés par la méthode N-métrique pour estimer les probabilités de transmission. Ces probabilités estimées ont été comparées aux transmissions connues dans la simulation pour évaluer les performances de détection.

Résultats, discussion et conclusion

La probabilité moyenne de transmission estimée pour les paires d'isolats effectivement transmises était 1.45 fois plus élevée que pour les paires non transmises. L'aire sous la courbe ROC d'un classificateur utilisant la N-métrique pour inférer une transmission entre deux isolats était de 0.64 (IC95% 0.48 – 0.78). La performance augmentait avec le nombre de molécules dans l'antibiogramme (résolution), mais diminuait avec la vitesse évolutive. Les résultats étaient peu impactés par la vitesse de transmission.

Ces résultats établissent la faisabilité d'une détection automatisée des chaînes de transmission à l'aide de l'analyse par N-métrique des antibiogrammes générées en soin courant et d'autres données à plus forte résolution. Cette méthode appliquée à l'échelle d'hôpitaux entiers pourrait permettre de détecter précocement une augmentation des transmissions pour déclencher des mesures correctives.

Mots clés : Transmission bactérienne - Simulations - Surveillance - Antibiogrammes.

Références :

1. Tavaré, S. (1986). Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. *Lectures on mathematics in the life sciences*, 17(2), 57-86.

SP9 Mécanismes pathogéniques des agents de mycoses humaines (en association avec la SFMM)

SP9-O.1

Mycologie

Dermatophytes zoonotiques : de l'expression clinique aux mécanismes pathogéniquesJacques Guillot (jacques.guillot@oniris-nantes.fr)

Dermatologie, Parasitologie, Mycologie, Oniris, Ecole Nationale Vétérinaire, Nantes, France

Les dermatophytes sont des champignons ascomycètes appartenant à l'ordre des Onygnéales. Ce sont des organismes kératinophiles et kératinolytiques qui ont bénéficié de l'essor des mammifères et de l'enrichissement progressif des sols par des squames et des phanères. Une cinquantaine d'espèces sont actuellement reconnues et réparties en trois groupes principaux en fonction de leur niveau de dépendance par rapport au sol et, pour les espèces pathogènes, de leurs préférences d'hôtes. Les espèces géophiles vivent dans le sol ; elles sont parfois pathogènes pour l'homme ou l'animal mais leur diffusion dans la population concernée est très limitée. Les dermatophytes zoophiles sont très fréquemment retrouvés chez les carnivores domestiques (*Microsporum canis*), les ruminants (*Trichophyton verrucosum*), les chevaux (*T. equinum*), les rongeurs (*T. mentagrophytes*, *T. benhamiae*, *Nannizzia persicolor*), les hérissons (*T. erinacei*)... La plupart de ces espèces sont transmissibles à l'homme, hôte inhabituel, chez qui elles sont à l'origine de lésions inflammatoires, parfois surinfectées. Les dermatophytes anthropophiles sont à l'origine de lésions peu ou pas inflammatoires mais récidivantes. Le caractère généralement non envahissant des dermatophytes, dont la croissance chez l'hôte est limitée aux couches kératinisées de l'épiderme et des annexes cutanées, et la grande variété des signes cliniques associés sont liés à des mécanismes physiopathologiques qui demeurent largement inconnus. La première étape consiste en l'adhérence de spores de dermatophyte sur la peau. L'étape suivante inclut un processus de germination puis de croissance mycélienne dans la couche cornée de l'épiderme. Lorsque des follicules pileux sont atteints, la tige pileuse est colonisée et la dégradation de la kératine conduit rapidement à une modification complète de la structure des poils. A ce stade, des spores sont produites en grand nombre. Elles assurent la transmission à d'autres hôtes et la contamination du milieu extérieur.

Mots clés : Mycologie - Dermatophytes - Zoonose - Animaux - Kératine.

SP9 Mécanismes pathogéniques des agents de mycoses humaines (en association avec la SFMM)

SP9-O.2

Mycologie

***Candida albicans* et le franchissement de la barrière intestinale**Frédéric Dalle (frederic.dalle@chu-dijon.fr)

Parasitologie-Mycologie, CHU Dijon, France. UMR Procédés Alimentaires et Microbiologie (PAM), Université de Bourgogne, Agrosup Dijon, France

Résident habituel du mycobiome digestif chez l'homme en bonne santé, *Candida albicans* (*C. albicans*) est potentiellement un agent pathogène opportuniste pouvant être responsable notamment d'infections disséminées mortelles, en particulier dans la population toujours croissante de patients vulnérables en milieu hospitalier, et dont la porte d'entrée est principalement digestive. Ainsi la muqueuse digestive apparait comme un élément clé de l'interaction de *C. albicans* avec son hôte, aussi bien à l'état commensal que pathogène. Mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires de l'interaction de *C. albicans* avec les cellules intestinales permettra de préciser (i) le rôle de cette levure dans le mycobiome digestif normal, (ii) les conséquences chez l'hôte d'états dysbiotiques associés à une altération de la colonisation à *C. albicans* et (iii) la physiopathologie des candidoses disséminées. Nous présentons ici un état de l'art des mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans le franchissement de la barrière intestinale par *C. albicans*.

SP9 Mécanismes pathogéniques des agents de mycoses humaines (en association avec la SFMM)

SP9-1

Mycologie

Étude du rôle physiologique des structures amyloïdes chez la levure pathogène *Candida albicans*

Thierry Mourer¹ (thierry.mourer@pasteur.fr), Hoa Nguyen², Benoît Lelandais², Christophe Zimmer², Christophe d'Enfert¹, Sophie Bachellier-Bassi¹

¹ Département de mycologie, Institut Pasteur, Paris, France

² Département de biologie computationnelle, Institut Pasteur, Paris, France

Au cours des dernières décennies les infections fongiques ont émergé comme une menace considérable pour la santé humaine. Dans certaines conditions, la levure commensale *Candida albicans*, qui est principalement retrouvée dans le tractus gastro-intestinal de l'homme, peut proliférer et causer des infections bénignes de surface comme le muguet buccal. Néanmoins, certains changements environnementaux favorisent la translocation de *C. albicans* à travers la muqueuse intestinale puis sa dissémination dans la circulation sanguine. Des études épidémiologiques récentes ont montré que les candidoses invasives représentent 75% des fongémies et que *C. albicans* est la levure la plus souvent incriminée dans ces infections. Le taux de mortalité des candidémies est estimé à environ 40%, soit plus élevé que n'importe quelle septicémie bactérienne. *C. albicans* est également bien connu pour sa capacité à former des biofilms sur des surfaces biotiques et abiotiques, un processus critique à la pathogenèse de ce microorganisme. Ainsi, mieux comprendre les bases moléculaires de l'établissement du biofilm de *C. albicans* permettra d'élaborer des stratégies innovantes pour répondre à ce problème de santé publique grandissant. En particulier, comprendre les mécanismes d'adhésion des cellules fongiques entre elles ou à une surface permettrait de développer des méthodes empêchant la formation des biofilms et/ou perturbant les biofilms existants. Des résultats obtenus par notre laboratoire ont révélé qu'une structure amyloïde est assemblée dans le compartiment intracellulaire de *C. albicans* lors de l'adhésion des cellules à une surface. Ces amyloïdes intracellulaires ont été purifiés suivant un protocole de fractionnement cellulaire établi pour les organismes fongiques. Subséquemment, les protéines utilisées pour assembler ces fibres amyloïdes ont été identifiées par spectrométrie de masse comme étant les SnoRNPs Sik1 et Nop58. Nous allons utiliser une approche de microscopie électronique à balayage pour confirmer la présence de ces amyloïdes dans le nucléole. De plus, nous élaborons une stratégie ambitieuse de « machine learning » pour corrélérer la présence des fibres amyloïdes intracellulaires avec les forces d'adhésion cellules-cellules. Ainsi, les informations recueillies sur l'assemblage et la fonction des amyloïdes intracellulaires en réponse à l'adhésion pourrait conduire à la découverte d'un nouveau mécanisme de régulation de l'établissement des biofilms chez *C. albicans*.

Mots clés : Biofilm - Levure - Fibre amyloïde - Adhérence.

SP9 Mécanismes pathogéniques des agents de mycoses humaines (en association avec la SFMM)

SP9-2

Mycologie

Algorithme de prise en charge des teignes de l'enfant après l'arrêt de la commercialisation de la griséofulvine en France

Jean-Pierre Gangneux*¹ (jean-pierre.gangneux@chu-rennes.fr), S. Barbarot², A. Maruani², M. Caseris², S. Brun², F. Botterel², J. Menotti², J. Tubiana², C. Rat², L. Chouchana², M. Beylot-Barry², N. Dupin², B. Guillot², O. Chosidow²

¹ Parasitologie-Mycologie, CHU de Rennes, Univ. Rennes, Inserm, Institut de recherche en santé, environnement et travail - UMR_S 1085, Rennes, France

² SFD-SFMM-SFP-SPILF, Rennes, France

* Pour le groupe de travail SFD-SFMM-SFP-SPILF

Introduction :

En France, les dermatophytes responsables de teignes les plus prévalents appartiennent aux genres *Trichophyton* puis *Microsporum*. La griséofulvine, un antifongique fongistatique est le seul traitement ayant une AMM chez les enfants, malgré un rapport bénéfice/risque suboptimal. Début 2021, l'arrêt de sa commercialisation a conduit l'ANSM et les sociétés savantes à réévaluer dans l'urgence les options thérapeutiques possibles. L'objectif de ce travail est de proposer un algorithme de prise en charge des enfants atteints de teigne comme alternative à la griséofulvine.

Méthodes :

A partir des données d'une revue non systématique de la littérature comprenant des recommandations européennes et internationales, un groupe de travail, coordonné par le centre de preuves (CDP) en Dermatologie et impliquant les sociétés savantes suivantes (Sociétés Françaises de Dermatologie, de Mycologie Médicale, de Pédiatrie, de Dermatologie Pédiatrique, & Société de Pathologie infectieuse de langue française) a élaboré un algorithme de prise en charge des enfants atteints de teigne.

Résultats :

Un algorithme de prise en charge des teignes de l'enfant accompagné d'une aide iconographique au diagnostic des teignes et d'un rappel des mesures associées est proposé. Les points-clés sont :

- Incitation au prélèvement mycologique initial;
- Traitement probabiliste par terbinafine *per os* chez l'enfant ≥ 10 kg;
- En cas d'examen direct positif immédiat en faveur d'un *Microsporum*, un traitement par itraconazole est proposé d'emblée;
- Adaptation secondaire aux données de l'examen direct (passage vers l'itraconazole si *Microsporum*) ;
- Prise en charge hospitalière pour l'enfant de < 10 kg;
- Évaluation clinique à 4 semaines pour évaluer l'effet du traitement et éventuellement l'ajuster aux résultats des cultures.

Conclusion :

L'arrêt de commercialisation d'un médicament unique dans son AMM comme la griséofulvine, perturbe considérablement la prise en charge des patients. Les sociétés savantes doivent mettre en place des processus rapides pour proposer des alternatives fondées sur l'expérience, les données des études observationnelles et les essais thérapeutiques disponibles. Une démarche de validation réglementaire (mise en conformité des AMM) et de recherche (registre de suivi des enfants de moins de 10 kg, surveillance de la résistance à la terbinafine, ...) peut désormais débiter.

SP10 Interactions moléculaires hôtes/pathogènes**SP10-O.1**

Pathogénie

Les lipides produits par le microbiote : acteurs clés de l'homéostasie intestinaleNicolas Cenac*Inserm, Toulouse, France*

Résumé non parvenu

SP10 Interactions moléculaires hôtes/pathogènes

SP10-1

Pathogénie

The cytotoxic necrotizing factor 1 hinders the tumorigenesis induced by colibactin-producing *Escherichia coli* in *ApcMin/+* mice

Héloïse Chat¹ (Heloise.CHAT@uca.fr), Guillaume Dalmasso¹, Catherine Godfraind², Virginie Bonin¹, Mathilde Bonnet¹, Nicolas Barnich¹, Richard Bonnet³, Julien Delmas³

¹ M2ISH UMR INSERM 1071, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

² Service d'anatomopathologie, Centre hospitalo-universitaire, Clermont-Ferrand, France

³ Service de bactériologie, Centre hospitalo-universitaire, Clermont-Ferrand, France

Introduction and aims:

E. coli-associated to tumors isolated from colorectal cancer (CRC) patients frequently harbor toxins-encoding genes. We have previously found that colibactin (Clb) and cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF-1) are the two main toxins produced by CRC-associated *E. coli*. While colibactin producing bacteria (CoPEC) have been shown to increase tumor number in CRC mouse models, the role of CNF-1 in CRC development remains unknown.

Materials and methods:

All the *E. coli* strains used were isolated from colonic tissues of CRC patients. The presence of *clb* and *cnf-1* genes was assessed by PCR in a collection of 77 *E. coli* strains. Human intestinal epithelial cells HT-29 were infected with the 21F8 strain (Clb+Cnf+) or 21F8 isogenic mutants (Clb+Cnf-, Clb-Cnf+ and Clb-Cnf-). Five days post-infection, we assessed cellular morphology (light microscopy), cellular proliferation (MTT assay) and cellular senescence (β -galactosidase staining). Immunohistochemistry was used to detect phosphorylated γ -H2AX, a DNA double-breaks marker. *ApcMin/+* female mice were orally infected with 10⁹ colony-forming units (CFU) using the same strains used *in vitro*. 50 days post-infection, mice were sacrificed, the number of tumors was counted and the presence of γ -H2AX in colonic tissues was assessed. Rectal administration of CNF-1 protein (10 μ g once a week) was performed using *ApcMin/+* mice orally infected with 10⁹ CFU of the Clb+Cnf- strain.

Results, discussion and conclusions:

We found that 94% of the *E. coli* strains harboring the *cnf-1* gene possess the *clb* genes. HT-29 cells infected with the Clb+Cnf- strain harbored higher levels of inflammatory cytokines and β -galactosidase activity than those infected with the Clb+Cnf+ strain. *ApcMin/+* mice infected with the Clb+Cnf- strain developed significantly more tumors than mice infected with the Clb+Cnf+ strain. Furthermore mice infected with the Clb+Cnf- strain showed in the colonic mucosa an increase of γ -H2AX foci, as well as an increase of expression of genes associated with senescence and inflammation. Rectal administration of CNF-1 protein in *ApcMin/+* mice infected with the Clb+Cnf+ strain significantly decreased tumorigenesis and inflammation. This study provides evidence that CNF-1 decreases the carcinogenic effects of CoPEC in *ApcMin/+* mice.

Mots clés : Colorectal cancer - *Escherichia coli* - Colibactin - CNF-1.

SP10 Interactions moléculaires hôtes/pathogènes

SP10-2

Pathogénie

Etude du rôle protecteur de CFTR dans la résistance innée à *Staphylococcus aureus*Audrey Bernut^{1,2} (audrey.bernut@uvsq.fr), Andres Floto^{3,4}, Stephen Renshaw², Jean-Louis Herrmann^{1,5}¹ UMR 1173, Infection & inflammation, INSERM/UVSQ, Montigny-le-Bretonneux, France² Department of Infection, Immunity & Cardiovascular Disease, Bateson Centre, University of Sheffield, Sheffield, Royaume-Uni³ Department of Medicine, Molecular Immunity Unit, University of Cambridge, Cambridge, Royaume-Uni⁴ Royal Papworth Hospital, Cambridge Centre for Lung Infection, Cambridge, Royaume-Uni⁵ Hôpital Raymond Poincaré, AP-HP, Garches, France**Introduction et objectifs :**

Staphylococcus aureus (Sa) est une bactérie entraînant de graves infections pulmonaires chez les patients atteints de **mucoviscidose** (CF), une exocrinopathie consécutive de mutations du gène codant pour CFTR. Cependant, les liens entre un CFTR dysfonctionnel et la vulnérabilité aux infections à Sa restent peu connus. Ici, nous exploitons la larve transparente de zebrafish comme modèle vertébré innovant d'infection pour étudier la contribution de CFTR dans l'immunité innée vis-à-vis de Sa.

Matériels et méthodes :

L'expression de *cfr* a été inhibée, *via* CRISPR/CAS9 ou l'utilisation de morpholinos, dans des lignées transgéniques marquant les neutrophiles et les macrophages et, l'infection induite par l'injection systémique ou locale de Sa fluorescents. Dans ces poissons CF, récapitulant certains aspects de la pathologie infectieuse pulmonaire CF, les effets d'un défaut de CFTR sur la réponse inflammatoire et les défenses innées vis-à-vis de Sa ont été visualisés et évalués par imagerie dynamique à haute résolution.

Résultats, discussion et conclusion :

En absence de CFTR, les zebrafish se révèlent particulièrement sensibles aux infections à Sa, se traduisant par une réplication bactérienne excessive et une mortalité larvaire précoce. Nous avons pu montrer que cette susceptibilité accrue des zebrafish CF était liée à une diminution de l'activité oxydative des phagocytes professionnels. En parallèle, l'infection par Sa entraîne une réponse neutrophile précoce et exubérante au site infecté, consécutive d'une production accrue de ROS épithélial. Cette inflammation hyperactive génère des dommages tissulaires importants et aggrave la sensibilité de l'hôte vis-à-vis l'infection. Ainsi, ces résultats révèlent que les événements spatio-temporels associés à l'ablation de CFTR montrent un mécanisme par lequel CFTR participe à l'ajustement des réponses oxydatives des cellules épithéliales et myéloïdes de l'hôte pour un contrôle efficace des infections à Sa. Par ailleurs, nous avons identifié certaines molécules immuno-modulatrices capables de réduire l'inflammation et d'améliorer la réponse anti-Sa en rééquilibrant les réponses oxydatives chez les larves CF.

Nous décrivons ici un modèle particulièrement prometteur et pertinent pour définir la relation entre Sa et mucoviscidose, en soulignant en particulier le rôle protecteur CFTR dans le control des infections à Sa.

Mots clés : Mucoviscidose - *Staphylococcus aureus* - Infection - Inflammation - Activité oxydative.

SP10 Interactions moléculaires hôtes/pathogènes

SP10-3

Pathogénie

Role of innate intraepithelial lymphocytes in the immune protection against *Cryptosporidium*

Fatima Hariss^{1,2} (fatima.hariss@hotmail.com), Marie Delbeke¹, Karine Guyot³, Sylvia Speca¹, Gabriella Certad³, Mohamad Ezzedine², Bertrand Meresse¹

¹ U1286 - INFINITE - Institute for Translational Research in Inflammation, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Lille, France

² PRASE- Plateforme de Recherche et d'Analyses en Sciences de l'Environnement, Université Libanaise, Beyrouth, Liban

³ U1019-UMR 9017-CIIL-Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Université de Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, Lille, France

Cryptosporidium is a common parasite that infects the gastrointestinal tract. The infection is self-limiting in immunocompetent individuals, but it can be severe in immunocompromised individuals and children. In at-risk populations, the adaptive immunity is impaired or immature and thus the infection is mainly controlled by innate cells. Recently, we and other have identified a new subset of innate intraepithelial lymphocytes (iIELs) having some overlapping features with NK cells [1,2]. These cells dominate the gut epithelium at birth and when the adaptive immunity is compromised. Their role has never been studied in infection such as cryptosporidiosis.

To study the specific role of iIELs we have developed an in vitro model that consist to co-culture 3D intestinal organoids from C57BL/6 mice infected with *Cryptosporidium parvum* with iIELs isolated from RAG2^{-/-} mice. The parasite load was investigated by quantification of the 18S rRNA with RT-qPCR. The mechanisms used by iIELs was studied using RT-qPCR, 3' mRNA sequencing and confocal microscopy.

We have shown that iIELs reduce the parasitic load in infected intestinal organoids indicating that those immune cells have a protective role. We have also shown that the protection did not depend on secreted factors such as IL-15 or IFN γ , two cytokines which have been involved in defense against *Cryptosporidium* but likely requires others mechanisms. Thus, this work provides new insights on the role of the innate IELs population during *Cryptosporidium* infection and should help to design new therapeutic strategies to strengthen the immunity of child and immunodeficient individuals against the parasite.

Mots clés : *Cryptosporidium parvum* - iIELs - Organoids.

Références :

1. Ettersperger, J. et al. (2016) Interleukin-15-Dependent T-Cell-like Innate Intraepithelial Lymphocytes Develop in the Intestine and Transform into Lymphomas in Celiac Disease. *Immunity* 45, 610–625.
2. Van Kaer, L. et al. (2014) CD8 $\alpha\alpha$ + Innate-Type Lymphocytes in the Intestinal Epithelium Mediate Mucosal Immunity. *Immunity* 41, 451–464.

SP10 Interactions moléculaires hôtes/pathogènes

SP10-4

Pathogénie

Identification of a novel nucleomodulin, LegK4 from *Legionella pneumophila*, and its metaeffector

Margaux Pillon (margaux.pillon@univ-lyon1.fr), Quentin Blache, Céline Michard, Nathalie Baïlo, Patricia Doublet

CIRI, Inserm U1111, Université Lyon 1, Villeurbanne, France

Introduction and objectives:

L. pneumophila is an intracellular bacterium infecting pulmonary alveolar macrophages and causing a severe pneumonia called legionellosis. Essential for its virulence, the Dot/Icm Type 4 Secretion System injects 300 bacterial proteins, called effectors, into the host cell cytoplasm. Our project focuses on the functional study of one of these effectors, the protein kinase LegK4.

Material and methods:

- The functional analysis of LegK4 includes (1) the localization of GFP-LegK4 in transfected HeLa cells by fluorescence confocal microscopy; (2) identification of the GFP-LegK4 cellular targets by GFP-Trap copurification followed by mass spectrometry analysis; (3) phenotype analysis of the $\Delta legK4$.
- The characterization of one of LegK4 metaeffectors has been revealed by (1) copurification assays by GFP-Trap; (2) phenotype analysis of associated deletion mutants, (3) the study of their evolutionary story.

Results, discussion and conclusion:

By studying LegK4 protein kinase, we revealed a new example of nucleomodulins, i.e. a bacterial effector which is localized to the nucleus of the infected cell. Specifically, we observed that GFP-LegK4 protein was localized after secretion in the nucleolus of transfected HeLa cells thanks to its Nterminal sequence, which contains an atypical NLS. In accordance with this result, we have identified two nucleolar targets of LegK4, the nucleolin and nucleophosmin. Additionally, we have identified a metaeffector for the protein kinase LegK4, i.e. an effector that interacts with another effector and interferes with its activity. This metaeffector interacts with GFP-LegK4 in transfected HeLa cells and double deletion of corresponding genes is associated with an intracellular growth defect not observed in single mutants. It is worth noting that LegK4 and its metaeffector encoding genes are clustered on the *L. pneumophila* genome and linked by a common evolutionary story.

Our work contributes to two emerging fields of host-pathogen relationships, by revealing both a new nucleomodulin and a new metaeffector. A deeper study of the impact of these two effectors on the *L. pneumophila* infectious cycle is in progress.

Mots clés : Legionella pneumophila - Effector - Kinase - Nucleoli - Inter-effector relationship.

Références :

1. Flayhan A, Bergé C, Baïlo N, Doublet P, Bayliss R, Terradot L. The structure of Legionella pneumophila LegK4 type four secretion system (T4SS) effector reveals a novel dimeric eukaryotic-like kinase. *Sci Rep.* 30 sept 2015;5:14602.
2. Moss SM, Taylor IR, Ruggero D, Gestwicki JE, Shokat KM, Mukherjee S. A Legionella pneumophila Kinase Phosphorylates the Hsp70 Chaperone Family to Inhibit Eukaryotic Protein Synthesis. *Cell Host & Microbe.* mars 2019;25(3):454-462.e6.

SP11-T Nouvelles recommandations pour l'antibiogramme : actualités et retours d'expérience (en association avec le Col.BVH)

SP11-T-O.1

CA-SFM 2021, l'année des grands changements

Frédéric Schramm (frederic.schramm@chru-strasbourg.fr), Céline Ménard, François Jehl

Laboratoire de bactériologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

Introduction et objectifs :

Après plusieurs années de consultation, l'EUCAST a modifié la définition des différentes catégories cliniques. Bien que les nouvelles définitions figurent dans le communiqué du CASFM depuis 2019, certains laboratoires n'ont pas encore « franchi le pas » de ces changements et s'interrogent encore sur la façon de les mettre en œuvre en routine. Après une synthèse rapide du rationnel qui sous-tend ces changements, la présentation a pour objectif d'exposer un retour d'expérience sur la façon dont ces recommandations ont été implantées au CHU de Strasbourg.

Retour d'expérience :

Pour les différents items ci-dessous, la présentation aborde les solutions techniques/informatiques retenues, ainsi que les éléments de communication/information déployés auprès des cliniciens :

- les choix retenus pour la nouvelle catégorie « I : sensible à forte exposition » ;
- la problématique spécifique du *Pseudomonas*, rendu sensible à forte dose/exposition pour la plupart des molécules à l'exception de quelques molécules dont le méropénème ;
- la zone d'incertitude technique (ZIT), avec la hiérarchisation choisie pour les actions à mener devant un résultat situé en ZIT et la façon retenue pour « afficher » la ZIT sur le compte-rendu ;
- la formulation des résultats lorsque les breakpoints sont basés sur les ECOFFs, et plus généralement pour les antibiogrammes des germes dépourvus de concentration critiques cliniques.

Des exemples concrets illustrant différentes possibilités de formulation et de présentation des résultats sont également exposés.

Conclusion :

Les définitions ont changé, mais pas les lettres S/I/R utilisées dans nos SIL ou nos automates. Le paramétrage informatique à réaliser peut se limiter à des modifications du transcodage entre les « lettres » saisies dans le SIL et la formulation « texte » présentée sur le compte-rendu, voir à des solutions plus minimalistes basées sur l'ajout de commentaires (contextuels ou non) précisant la signification des lettres S/I/R. Le succès du projet de mise en œuvre des nouvelles recommandations tient tout autant (sinon plus) dans les efforts consacrés aux actions pédagogiques menées auprès des cliniciens (et des étudiants), qu'à la qualité des actions entreprises pour modifier et améliorer la présentation des résultats.

Mots clés : CASFM - Forte exposition - Zone d'incertitude technique (ZIT) - Transcodage SIL - Retour d'expérience.

SP11-T Nouvelles recommandations pour l'antibiogramme : actualités et retours d'expérience
(en association avec le Col.BVH)

SP11-T-O.2

Retour d'expériences du réseau du Col.BVH sur les nouvelles recommandations

Christian Cattoen

Centre Hospitalier, Valenciennes, France

Résumé non parvenu

Microbiologie clinique

Anti-microbiens & résistance

SP11-T Nouvelles recommandations pour l'antibiogramme : actualités et retours d'expérience*(en association avec le Col.BVH)***SP11-T-1****Catégorisation «Sensible à Forte Posologie (SFP)» : importance de la communication pour le choix thérapeutique**Aurélie Beaudron¹ (aureliegarchet@hotmail.com), Jean Thomin¹, Alexandra Bruel², Céline Ramanantsoa³¹ Microbiologie, CH Le Mans, Le Mans, France² Pharmacie, CH Le Mans, Le Mans, France³ Laboratoire, CH Le Mans, Le Mans, France**Introduction :**

Le laboratoire de Microbiologie applique les recommandations 2020 d'interprétation de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie et de l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (CASFM/EUCAST).

Ainsi la catégorisation clinique de sensibilité des bactéries aux antibiotiques (S/I/R) a été redéfinie avec remplacement de la catégorisation « Intermédiaire » par « Sensible à Forte Posologie » (SFP). Il s'agit d'une incitation forte à l'utilisation de l'antibiotique. Cependant, nos cliniciens n'ont pas prescrit les molécules rendues SFP, mais ont choisi celles catégorisées « Sensibles ». L'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa* est le plus impacté par ce changement, toutes les bêtalactamines étant rendues SFP pour les souches sauvages, sauf le méropénème qui reste « Sensible ». Nous avons étudié rétrospectivement les actions de communication et leurs effets sur l'utilisation du méropénème pour traiter les infections à *Pseudomonas aeruginosa*.

Matériels et méthode :

L'information a été diffusée dans un premier temps par mail à l'ensemble des prescripteurs. En complément, une lettre d'information a été diffusée par l'intermédiaire du catalogue des analyses du laboratoire. Dans un deuxième temps, des présentations lors de staff ont été organisées dans les services.

La consommation de méropénème a été quantifiée en nombre de flacons délivrés aux services par la pharmacie.

Nous avons comparé les consommations sur 3 périodes de 51 jours : avant mise à jour CA-SFM 2020 (période 1), après mise à jour mais avant les présentations en staffs (période 2) et après les présentations en staffs (période 3).

Résultats, discussion et conclusion :

En réanimation, service où la « surprescription » était la plus évidente, la consommation de méropénème est passée de **0** pour la période 1 à **522** pour la période 2, et de nouveau **0** pour la période 3.

Notre étude montre l'ambiguïté de la catégorisation « SFP » pour les cliniciens. La communication écrite n'a pas permis d'expliquer suffisamment cette notion. Par contre, la rencontre avec les cliniciens au cours des staffs a levé les erreurs d'interprétation.

Ce travail démontre l'importance d'une « bonne » communication entre biologistes et prescripteurs.

Mots clés : Communication - SFP - Méropénème.

SP12 Explorer la diversité microbienne environnementale : nouvelles perspectives ?**SP12-T-O.1**

Environnement

Communautés microbiennes des stations d'épuration : de l'écologie moléculaire à l'écologie fonctionnelleEmilie E.L. Muller¹ (emilie.muller@unistra.fr), Malte Herold², Cédric Laczny², Paul Wilmes²¹ UMR7156 CNRS-Université de Strasbourg, Equipe Adaptations et Interactions microbiennes dans l'environnement, France² LCSB, Université du Luxembourg, Esch-sur-Alzette, Luxembourg**Introduction et objectifs**

Les stations d'épuration (STEP), pratiquant l'assainissement des eaux usées par voie microbiologique, représentent le procédé biotechnologique le plus utilisé au monde. Pourtant, il reste beaucoup à comprendre sur la dynamique et l'écologie des communautés microbiennes des STEP, notamment dans le but de 'verdir' ce bioprocédé. Il existe par exemple dans les STEP des populations microbiennes capables d'accumuler dans des granules intracellulaires des lipides à longue chaîne carbonée, matière première pour la production de biodiesel. L'étude à l'échelle moléculaire de ces populations accumulant des lipides permet de caractériser leur niche écologique *in situ*.

Matériels et méthodes

Des prélèvements d'échantillons de boues oléagineuses d'une STEP municipale ont été réalisés lors de deux saisons, puis de façon hebdomadaire. Les données méta-omiques obtenues (génomique, transcriptomique, protéomique et métabolomique) sur une année d'échantillon, accompagnées de données physico-chimiques, ont permis d'étudier la dynamique et les capacités métaboliques de plus de 220 populations de la STEP au cours du temps. L'accumulation de lipides intracellulaires a également été examinée au niveau de la communauté microbienne comme de cellules uniques de la population majoritaire par Nano-SIMS (Nanoscale secondary ion mass spectrometry).

Résultats, discussion et conclusions

Les résultats obtenus au cours des 10 dernières années dans cette étude au long cours montrent qu'une population de *Candidatus Microthrix parvicella* domine la communauté microbienne accumulant les lipides dans la STEP étudiée. L'étude du méta-transcriptome et du méta-protéome suggère que cette population est généraliste, avec un ensemble dynamique de gènes exprimés en fonction des conditions (i.e. une niche fondamentale large, une niche réalisée plastique). Cette population généraliste est en fait composée d'individus spécialistes, où chaque cellule prélève des lipides différents de son environnement. A l'échelle de la communauté, les potentiels génomiques des populations individuelles sont regroupés en 4 grandes catégories fonctionnelles illustrant une redondance fonctionnelle notable. En revanche, les niches réalisées de ces populations, déterminées à partir des gènes exprimés, sont complémentaires et dynamiques, démontrant l'adaptabilité de ces populations aux changements de conditions. Cette observation explique vraisemblablement la résilience de cette communauté en terme de composition et d'expression face aux perturbations survenues au cours de l'étude.

A l'avenir, la caractérisation *in situ* des niches écologiques des différentes populations composant une communauté sur les bases des approches établies dans notre étude permettra d'identifier les conditions susceptibles de soutenir la croissance d'organismes spécifiquement choisis, avec l'objectif de coupler l'épuration des eaux avec la production de bioénergie.

Mots clés : Stratégie relative au mode de vie - Niche écologique - Approches méta-omiques.

SP12 Explorer la diversité microbienne environnementale : nouvelles perspectives ?**SP12-1**

Environnement

A novel network-based approach for deep probing of microbial dark matter in metagenomic samplesDuncan Sussfeld (duncan.sussfeld@gmail.com), Eric Bapteste, Philippe Lopez*UMR 7205 Institut de Systématique, Evolution, Biodiversité (ISYEB), Sorbonne Université, CNRS, MNHN, EPHE, Université des Antilles, Paris, France*

Microorganisms cultivable in laboratory conditions only represent a fraction of the whole microbial world. The remainder of the microbial diversity, largely composed of microbial dark matter, is gradually being unraveled by metagenomic studies. This uncultured diversity, representing >85% of the known microbial universe [1], constitutes a vast reserve of highly divergent variants of proteins of interest carried by organisms yet undescribed, especially in extreme or hardly explored environments [2], and has the potential to harbour some undiscovered, taxonomically high-level clades. Developing new methods capable of probing environmental genetic diversity to detect these divergent variants and make sense of their phylogenetic placement in the tree of life is thus an important issue to further our understanding of microbial diversity and its ecological roles [3].

We present a novel methodological approach for metagenome data mining toward the uncovering of highly divergent environmental variants. Starting from gene families universally used for the reconstruction of microbial phylogenies, such as ribosomal proteins and DNA and RNA polymerases, we conduct iterative BLAST searches (expanding on the method initiated by Lopez et al. [4]) in a dataset of 40 millions of sequences from oceanic metagenomes in order to aggregate in sequence similarity networks increasingly divergent environmental variants around the initial sequences. Paths in these large networks are analysed to unearth the groups of sequences most divergent from any sequence from the initial gene families or any cultured organism. We then carry out phylogenetic inferences for these sequences, representing the *a priori* best candidates for novel deep and/or rapidly evolving lineages. Preliminary results have previously found deeply branching groups of environmental homologs in various gut and marine metagenomes [4], hinting at the possibility for major divisions of life to be still discovered.

Mots clés : Metagenomics - Microbial dark matter - Sequence similarity networks - Extreme environments.

Références :

1. Rinke C, Schwientek P, Sczyrba A, Ivanova NN, Anderson IJ, Cheng J-F, et al. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter. *Nature*. juill 2013;499(7459):4317.
2. Bernard G, Pathmanathan JS, Lannes R, Lopez P, Bapteste E. Microbial Dark Matter Investigations: How Microbial Studies Transform Biological Knowledge and Empirically Sketch a Logic of Scientific Discovery. *Genome Biology and Evolution*. 1 mars 2018;10(3):70715.
3. Zamkovaya T, Foster JS, de Crécy-Lagard V, Conesa A. A network approach to elucidate and prioritize microbial dark matter in microbial communities. *ISME J*. janv 2021;15(1):22844.
4. Lopez P, Halary S, Bapteste E. Highly divergent ancient gene families in metagenomic samples are compatible with additional divisions of life. *Biol Direct*. déc 2015;10(1):64.

SP12 Explorer la diversité microbienne environnementale : nouvelles perspectives ?**SP12-2**

Environnement

Microbial diversity as a barrier to ARG invasion in the environmentElisa Catão¹ (elisa.catao@univ-lorraine.fr), Uli Klümper², Thomas Berendonk², Xavier Bellanger¹, Christophe Merlin¹¹ LCPME, Université de Lorraine, CNRS, Nancy, France² Institute of Hydrobiology, Technische Universität Dresden, Dresden, Allemagne**Introduction and aims:**

Antibiotics resistance genes (ARG) are ubiquitous and became a major global concern for public health. Their dissemination is now understood as being significant in anthropogenically contaminated environments that also display altered biodiversity resulting from human activities. Our hypothesis states that low biodiverse communities are more susceptible to ARG invasion. The Antiversa project aims to investigate the correlation between the abundance of ARG in a riverine gradient of diversity, and the susceptibility of low and high biodiverse river biofilms to ARG and resistant bacteria invasion.

Materials and methods:

Epilithic biofilms and rivers sediment were sampled in two rivers in eastern France with different backgrounds. The Rouge Rupt River was chosen for its pristine and oligotrophic characteristics and lower biodiversity, as well as its lower anthropogenic impact. On the other hand, along the Orne River, we found a gradient of human impact with several points of wastewater discharge. QIIME2 analysis of 16S rDNA amplicons was used to determine the biodiversity and the microbial structure of the biofilm and sediment communities. Spearman correlations were used to compare microbial relative abundance to ARG quantification *via* ddPCR and qPCR.

Results, discussion and conclusion:

The microbial communities appeared different in the two rivers and along each one. Rather than a clear gradient of biodiversity, we found series of sites of greater and lower diversity in both rivers. ARGs abundances were explored using both qPCR/ddPCR and Resistomap microarray, with DNA from pristine to contaminated biofilms. Some of the quantified ARG were tentatively correlated to alpha and beta diversity indexes, here used as indicators of anthropogenic pressure. Correlation between the abundance of specific ARGs and certain taxonomic groups are currently being processed to identify the drivers of ARG invasion. Specific taxon to ARG numbers were depicted in co-occurrence networks. These data will be used for the design of hypothesis-driven microcosms in which introduced antibiotic resistant bacteria / genes will be monitored for their ability to invade environmental river biofilms maintained in microcosms.

Mots clés : Biodiversity - Dissemination - Antibiotic resistance genes - Biofilms - Environment.

SP12 Explorer la diversité microbienne environnementale : nouvelles perspectives ?

SP12-3
Environnement

Les phoques : une source potentielle de contamination fécale bactérienne et virale du littoral ?

Michèle Gourmelon¹ (michele.gourmelon@ifremer.fr), Joëlle Serghine¹, Herlé Goraguer², Cyril Noël³, Alisson Godino Sanchez¹, Cécile Le Mennec⁴, Julien Schaeffer⁴, Sylvain Parnaudeau⁴, Vicky Detcheverry⁵, Amine Boukerb⁶, Françoise S Le Guyader⁴

¹ DYNECO/PELAGOS, IFREMER, Plouzané, France

² Délégation de Saint-Pierre et Miquelon, IFREMER, Saint-Pierre et Miquelon, France

³ SeBiMER, IFREMER, Plouzané, France

⁴ SG2M/LSEM, IFREMER, Nantes, France

⁵ Unité Alimentation Laboratoire d'analyses alimentaires, DTAM, Saint-Pierre et Miquelon, France

⁶ LMSM, Université de Rouen, Evreux, France

Introduction :

Les phoques, mammifères marins sauvages protégés, présents en nombre important sur certains sites, sont suspectés d'être à l'origine de potentielles contaminations microbiologiques du littoral par leurs fèces. Cette étude avait pour objectifs d'évaluer la diversité microbienne de fèces de phoques collectées en France métropolitaine et outre-mer, en utilisant des outils de métagénomique pour évaluer un éventuel risque sanitaire et développer des marqueurs MST (*Microbial Source Tracking*) phoque-spécifiques.

Matériels et méthodes :

Un total de 150 fèces de phoques de deux espèces : phoque veau-marin (*Phoca vitulina*) et gris (*Halichoerus grypus*) ont été collectées de 2015 à 2020. Lorsque l'analyse a été possible, les concentrations en *E. coli* et la présence des bactéries du genre *Campylobacter* ont été évaluées. Les communautés bactériennes ont été déterminées par metabarcoding 16S (régions V3-V4) et les communautés virales par métagénomique. Les séquences bactériennes spécifiques des phoques ont été recherchées par comparaison à des données de communautés d'autres sources fécales (oiseaux sauvages, volaille, animaux d'élevage) afin de développer des marqueurs MST phoque-spécifiques.

Résultats, discussion et conclusion :

Le dénombrement des *E. coli* a montré des concentrations variant de 10 à $2,1 \cdot 10^7$ UFC/g de fèces et deux souches de *Campylobacter insulaenigrae* ont été isolées. L'analyse des communautés bactériennes a montré : 1) une composition majoritaire de Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacteria et Proteobacteria avec la présence fréquente du genre *Clostridium*, 2) des communautés différentes de celles identifiées dans d'autres sources de contamination, et 3) une grande variabilité d'un individu à l'autre, qui pourrait être due au régime alimentaire opportuniste des phoques. Quatre marqueurs MST ciblant les genres *Fournierella*, *Atopobium* et *Slackia* et des membres des Bifidobacteriaceae ont été identifiés et sont en cours de validation.

L'analyse par métagénomique virale ciblant les virus à ARN a montré la présence d'une séquence d'un norovirus humain dans deux échantillons et des séquences de sapovirus proches de séquences virales humaines ont été détectées dans plusieurs échantillons.

Ces premiers résultats sont très prometteurs pour identifier une contamination fécale par les phoques dans les eaux littorales et semblent confirmer un risque sanitaire potentiel pour l'homme par l'identification de séquences virales identiques à celles détectées chez l'homme.

Mots clés : Phoques - Microbiote - virus - Campylobacter - Communautés bactériennes.

SP12 Explorer la diversité microbienne environnementale : nouvelles perspectives ?**SP12-4**

Environnement

Occurrence et dissémination des *e. coli* STEC dans les eaux de surface exemple de la Moselle et de l'Orne

Stéphanie Etienne¹ (stephanie.etienne@anses.fr), Emmanuelle Rion¹, Amandine Wilhelm¹, Laurence Mathieu², Benoit Gassilloud¹

¹ LHN Microbiologie des eaux, ANSES, Nancy, France

² LCPME, EPHE, PSL, UMR CNRS 7564, Nancy, France

La dissémination de la contamination des eaux de surface par des micro-organismes pathogènes d'origine fécale est un problème de santé publique. Parmi eux, les *Escherichia coli* entérohémorragiques (STEC) caractérisés par la présence des gènes *eae* et *stx* codant respectivement pour l'intimine et des Shiga-toxines, sont généralement associés à de grandes épidémies alimentaires (1). Nombreuses sont les sources ponctuelles ou diffuses de contamination et de dissémination environnementale de cette pollution biologique fécale, tant dans les zones urbaines qu'agricoles (2). Et nul doute que le milieu hydrique, collecteur universel des contaminations, joue un rôle clé dans ces processus. Si l'occurrence des STEC dans des matrices alimentaires est bien documentée, il existe moins d'informations concernant la circulation des souches dans les milieux hydriques (3,4).

L'occurrence des 5 sérotypes principaux de STEC (5) a été suivie sur 2 ans dans 2 ressources en eaux: la Moselle, ressource pour la production d'eau potable, peu anthropisée et l'Orne au niveau d'un site urbanisé, anciennement industriel, par le biais de marqueurs génétiques spécifiques. Parallèlement, l'ARNr16S de *Bacteroides* d'origine humaine (HF183) et des ruminants (Rum2Bac) ainsi que des analyses microbiologiques conventionnelles (*E. coli* fécaux, entérocoques) et physicochimiques (pH, température, COT, pluviométrie) ont été réalisées.

Les analyses en composantes principales révèlent une dynamique/occurrence différente selon les sites et impactées par les différents paramètres analysés. En zone rurale, la présence des STEC O26, O103, O145 et O157 viable corrèle positivement avec une augmentation génomique ciblant *E. coli* mais aussi les marqueurs de contamination fécale d'origine humaine. De façon intéressante, l'occurrence des STEC exprimant uniquement le gène *stx1* évolue différemment de ceux exprimant *stx2*, et relève notamment de facteurs climatiques et du marqueur Rum2Bac. Alors qu'en zone urbaine, la présence des STEC O26, O103 et O111 viables apparaît indépendante de tous facteurs physicochimiques et microbiologiques. Seuls les STEC O145 et O157 viables évoluent dans le même sens que les marqueurs microbiologiques, les marqueurs génétiques de contamination fécale et les données concernant le débit, la pluviométrie et la turbidité. En conclusion, la présence des différents sérogroupes est impactée différemment suivant le site considéré dépendant du type de pollution fécale et les facteurs environnementaux.

Mots clés : *Escherichia coli* producteur de shiga toxine - Indicateurs de pollutions fécales - Eau de surface - Pollution rurale - Pollution urbaine.

Références :

1. Koutsoumanis et al., 2020.
2. Ouattara et al., 2011.
3. Reynolds et al., 2020.
4. Haymaker et al., 2019.
5. AFSSA, 2008.

SP13 Sécurité microbiologique de la chaîne alimentaire**SP13-O.1****TIAC & coupables : retour aux sources... d'attribution !**

Pauline Kooh (Pauline.KOOH@anses.fr)

ANSES, Maisons-Alfort, France

La sécurité microbiologique des aliments demeure une préoccupation de tous les acteurs de la chaîne alimentaire. Les Maladies Infectieuses d'Origine Alimentaire (MIOA) notamment, représentent un fardeau sanitaire important. Ces MIOA surviennent sous formes d'épidémies (ou Toxi-Infections Alimentaires Collectives (TIAC) ou de cas sporadiques. La diminution de ce fardeau passe par un ensemble d'actions dont l'identification et la priorisation s'appuient aujourd'hui sur la connaissance fine de l'importance relative des différentes voies de transmission desdites MIOA, ainsi que des différentes catégories d'aliments à leur origine. C'est le rôle des études d'attribution de sources, en plein développement, dont la connaissance du principe et des diverses méthodes disponibles feront l'objet de cette conférence.

SP13 Sécurité microbiologique de la chaîne alimentaire**SP13-1****Physiologie d'un *Escherichia coli* O157:H7 au cours de la digestion gastrique d'une viande hachée de bœuf**Sabine Leroy¹ (sabine.leroy@inrae.fr), Diane de La Pomélie^{1,2}, Véronique Santé-Lhoutellier², Régine Talon¹¹ MEDIS, UCA, INRAE, Clermont-Ferrand, France² QuaPA, INRAE, Saint-Genès-Champagnelle, France**Introduction et objectifs :**

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) sont des pathogènes d'origine zoonotique responsables d'infections sévères chez l'homme. Leur principal réservoir est le tube digestif des bovins ce qui peut entraîner une contamination de la viande. La viande hachée de bœuf (VHB) peut ainsi être un vecteur de transmission des EHEC et constituer un risque sanitaire majeur en raison de la gravité des symptômes provoqués, notamment chez les jeunes enfants. La physiologie des EHEC au cours de la digestion de VHB contaminée en associant ou non du nitrite/ascorbate mimant un apport végétal a été analysée.

Matériels et méthodes :

Une souche *E. coli* O157:H7 a été inoculée dans une VHB. Cette viande a été soumise à un modèle de digestion *in vitro* semi-dynamique mimant les premières étapes de la digestion gastro-intestinale chez l'homme.

Résultats, discussion et conclusion :

L'addition de VHB dans le modèle de digestion, entraîne une remontée immédiate du pH gastrique à pH 5, due au pH intrinsèque de la viande et à son pouvoir tampon. En présence de VHB, la souche survit et une réduction de 1 log CFU/ml est observée en fin de digestion. L'addition de nitrite/ascorbate entraîne une réduction supplémentaire de plus de 1 log CFU/ml. La présence de nitrite/ascorbate a ainsi impacté la survie de la souche *E. coli* O157:H7. L'étude de sa physiologie dans la VHB au cours de la digestion par une approche transcriptomique a pu être réalisée uniquement aux premières étapes de la digestion gastrique (pH 5 et 4), en présence ou non de nitrite/ascorbate. L'analyse du transcriptome révèle notamment une réponse de la bactérie aux conditions acides et à la présence de composés nitrosés. Ainsi, la souche fait face immédiatement à l'environnement gastrique en activant 3 systèmes de résistance à l'acidité. De plus, elle active la voie de signalisation du chimiotactisme permettant le contrôle de sa mobilité flagellaire, ce qui pourrait lui permettre de rejoindre des conditions plus favorables à sa survie et de coloniser l'intestin. En présence de nitrite/ascorbate, mimant la présence de végétaux, elle doit lutter pour sa survie contre un stress nitrosant en détoxifiant le NO produit.

Mots clés : EHEC - Viande hachée - Digestion - Transcriptomique.

SP13 Sécurité microbiologique de la chaîne alimentaire**SP13-2****Détection et caractérisation de souches de *Clostridioides difficile* d'origines alimentaires et animales en France**

Olivier Firmesse¹ (olivier.firmesse@anses.fr), Muriel Marault¹, Laure Martin², Cécile Gateau³, Typhaine Poezevara², Jeanne Couturier³, Sandra Rouxel², Rabab Syed-Zaidi³, Anlyata Youssouf³, Pauline Kooh⁴, Frédéric Barbut³, Caroline Le Maréchal²

¹ Laboratoire de Sécurité des Aliments, Anses, Maisons-Alfort, France

² Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Anses, Ploufragan, France

³ Centre National de référence *Clostridium difficile*, AP-HP-Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

⁴ Direction de l'Évaluation des Risques, Anses, Maisons-Alfort, France

Clostridioides difficile représente actuellement la première cause mondiale de diarrhées infectieuses nosocomiales chez les adultes. Le nombre d'infections à *C.difficile* a également augmenté au niveau communautaire chez des personnes qui ne présentent pas de facteurs de risque classiques. Les sources potentielles de contamination à l'origine des infections à *C.difficile* communautaires considérées à ce jour sont : l'environnement, les animaux, les aliments, les contacts humains. Peu de données sur ce sujet sont actuellement disponibles en France, que ce soit en termes de prévalence ou de caractérisation.

L'objectif de notre étude est d'évaluer la prévalence de *C.difficile* dans les aliments impliqués dans des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) et dans différents réservoirs animaux. Un total de 564 aliments et de 1033 fèces d'animaux a été testé par méthode culturale. Les isolats collectés ont été caractérisés par PCR-Ribotypage, par PCR ciblant les facteurs de virulence (*tcdA*, *tcdB*, *cdtA*, *cdtB*) et l'antibiorésistance a été étudiée par diffusion en milieu gélosé. *C.difficile* a été détecté dans 1 aliment (0,17%) (fromage au lait cru de vache) et dans 218 (21,1%) échantillons d'origine animale. Pour le fromage au lait cru, l'isolat possède les gènes codant pour les toxines A, B et binaire, appartient au PCR-Ribotype 126 (PCR-Ribotype retrouvé également en santé humaine), est sensible à la vancomycine, au métronidazole et à la moxifloxacine, et présente une résistance à l'érythromycine, la clindamycine et la tétracycline. Pour les 99 isolats d'origine animale testés, toutes les souches présentent le gène codant pour la toxine A, 96 % le gène codant pour la toxine B et 73% le gène codant pour la toxine binaire. Les PCR-Ribotypes 126 et 78 sont les ribotypes majoritaires retrouvés dans les échantillons d'origine porcine (81%), les PCR-Ribotypes retrouvés chez les autres espèces animales sont beaucoup plus variables. Toutes les souches sont sensibles à la vancomycine et au métronidazole, 38% sont sensibles à l'érythromycine, 4 % à la clindamycine, 81% à la moxifloxacine et 36 % à la tétracycline.

Cette étude est la première réalisée à partir de l'analyse d'aliments impliquées dans des TIAC et la première en France portant sur l'évaluation des animaux comme réservoir de *C.difficile*.

Mots clés : *Clostridioides difficile* - Aliment - Animal - Toxine - Antibiorésistance.

SP13 Sécurité microbiologique de la chaîne alimentaire**SP13-3****Réponses moléculaires du pathogène *Campylobacter jejuni* aux stress inspirés du procédé d'abattage du poulet**

Nabila Haddad (nabila.haddad@oniris-nantes.fr), Benjamin Duqué, Sandrine Rezé, Albert Rossero, Jeanne-Marie Membré, Sandrine Guillou

UMR INRAe SECALIM, ONIRIS, Nantes, France

Introduction et objectifs :

Depuis plus d'une décennie, *Campylobacter* demeure la première cause de zoonose en Europe, induisant la campylobactériose. La viande de poulet est considérée comme le principal aliment responsable de cette entérite bactérienne. La maîtrise de ce pathogène est un enjeu de santé publique et peut conduire à des mesures envisagées depuis l'élevage jusqu'au procédé de transformation des produits avicoles. Au cours de la première transformation du poulet, *Campylobacter* peut rencontrer des stress thermiques susceptibles d'induire des mécanismes d'adaptation résultant de modifications dans l'expression de ces gènes. L'objectif de ce travail a été d'évaluer l'influence des stress inspirés des étapes du procédé d'abattage de volaille sur le comportement de *Campylobacter jejuni*.

Matériels et méthodes :

Dans un premier temps, les conditions mimant certaines étapes du procédé d'abattage de poulet de chair ont été sélectionnées au regard de leur capacité potentielle à générer un stress chez *Campylobacter*. Deux étapes ont été sélectionnées : (i) l'échaudage (trempage des volailles dans un bain d'eau chaude) retransposée au laboratoire à 3 températures différentes (54°C, 51°C, et 46°C), et (ii) le ressuage (une réfrigération accélérée) réalisée au laboratoire à -4°C pendant 2 h.

L'expression d'une sélection de 44 gènes de 3 souches de *C. jejuni* a été quantifiée par analyse transcriptionnelle (RT-qPCR) après l'application des stress sélectionnés. Les résultats obtenus ont été analysés par des analyses statistiques.

Résultats, discussion et conclusion :

Les principaux résultats indiquent que l'expression de 26 gènes variait significativement en fonction des stress thermiques successifs appliqués, selon trois profils d'expression différents en fonction des souches et des conditions de stress. Parmi ces gènes, certains surexprimés correspondaient principalement à des gènes impliqués dans la réponse au choc thermique, tandis que des gènes sous-exprimés appartenaient aux métabolismes des lipides et des acides aminés. Quatre gènes dont la surexpression était similaire pour les trois souches, pourraient représenter des indicateurs de la réponse au stress thermique à l'échelle de l'espèce.

Les avancées dans la compréhension moléculaire de la réponse au stress des bactéries pathogènes, comme *Campylobacter*, en conditions réelles de procédé permettront de progresser dans l'identification de moyens de maîtrise adaptés.

Mots clés : Pathogène alimentaire - Réponses au stress - Transcriptomique.

Références :

1. Rezé S, Guillou S, Haddad N. (2021) Le Cahier des Techniques de l'Inra 2021 (104) Comment valider la méthode de RT-qPCR en détection SybrGreen ? Application à l'analyse de la réponse transcriptomique de *Campylobacter jejuni* soumis à un stress : Cahier-N-104/Art1-ct104-2021.
2. Duqué B, Rezé S, Rossero A, Membré JM, Guillou S, Haddad N. (2021) Quantification of *Campylobacter jejuni* gene expression after successive stresses mimicking poultry slaughtering steps. *Food Microbiol.* 98:103795. doi: 10.1016/j.fm.2021.103795.

SP13 Sécurité microbiologique de la chaîne alimentaire

SP13-4

Microbiologie des aliments

Quels sont les impacts de conditions abiotiques sur la croissance cellulaire de deux pathogènes alimentaires *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* O157:H7 ?

Valérie Stahl¹ (v.stahl@aerial-crt.com), Bernard Hezard¹, Adrienne Lintz¹, Lysiane Omhover-Fougny¹, Ghaya Ben Hmidene², Mickaël Desvaux³, Laurent Guillier²

¹ Aerial ITAI, Illkirch, France

² Risk assesment department, ANSES, Maisons-Alfort, France

³ UMR454 MEDiS, INRAe, Saint-Genès Champanelle, France

Introduction et objectifs :

Les contaminations des aliments par *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* O157:H7 se produisent accidentellement, à faibles niveaux. Les modèles de microbiologie prévisionnelle décrivent le comportement des bactéries pathogènes [1-2]. Des développements de modèles stochastiques ont pris en compte les probabilités de croissance (pg) des cellules individuelles selon différents paramètres physico-chimiques [3-4]. Ces travaux ont souligné l'hétérogénéité des probabilités cellulaires suggérant une hétérogénéité physiologique de l'inoculum. Le développement de ces modèles nécessitent l'acquisition et la description du comportement des pathogènes dans différentes conditions de croissance. Les objectifs de cette étude étaient (1) d'enrichir le modèle de probabilité cellulaire de multiplication existant pour *L. monocytogenes* [4-5] en intégrant d'autres facteurs (2) de développer un modèle pour *E. coli* O157 :H7 en fonction de conditions abiotiques.

Matériel et méthodes :

Pour décrire leur comportement cellulaire, *L. monocytogenes* EGD-e et *E. coli* O157:H7 CM454 ont été soumises à différents facteurs environnementaux: pH, température, acides organiques, acides gras, structure des milieux (liquide, semi-solide). Les impacts de ces facteurs ont été évalués à l'aide d'un plan factoriel fractionnaire. Les croissances cellulaires ont été suivies visuellement dans des plaques 96-puits et les probabilités de croissance (pg) ont été déduites à partir des concentrations estimées par le calcul du NPP [5].

Résultats, discussion et conclusion :

Ces résultats ont souligné l'importance de trois facteurs sur la croissance cellulaire des deux pathogènes: la température, le pH, la structure des milieux. La pg des deux pathogènes a été réduite en diminuant la température ou en acidifiant le milieu. Dans des conditions semi-solides, la pg des deux pathogènes est supérieure à celle observée en milieu liquide. A basses températures, la présence d'acide gras semble favoriser la croissance cellulaire de *L. monocytogenes*. Les concentrations d'acides organiques n'ont pas affecté significativement les croissances cellulaires dans les conditions testées. Ces données permettent de décrire plus précisément les conditions environnementales impactant la croissance cellulaire des deux souches pathogènes. Elles permettent également d'alimenter le modèle pour *L. monocytogenes*, de développer le modèle cellulaire pour *E. coli* O157:H7.

ANR-17-CE21-0002-PATHOFOOD Décrypter l'hétérogénéité cellulaire, la distribution spatiale de pathogènes dans les matrices alimentaires en interaction avec les communautés microbiennes.

Mots clés : Croissance cellulaire - Microbiologie prévisionnelle - Facteurs abiotiques - Bactéries pathogènes.

Références :

1. Couvert, O., Pinon, A., Bergis, H., Bourdichon, F., Carlin, F., Cornu, M., ... Augustin, J.-C. 2010. Validation of a stochastic modelling approach for *Listeria monocytogenes* growth in refrigerated foods. *International Journal of Food Microbiology*, 144(2)
2. Tenenhaus-Aziza, F., Ellouze, M., 2015. Software for predictive microbiology and risk assessment: A description and comparison of tools presented at the ICPMF8 Software Fair. *Food Microbiol.* 45, 290–299.
3. Guillier, L., Augustin, J.-C., 2006. Modelling the individual cell lag time distributions of *Listeria monocytogenes* as a function of the physiological state and the growth conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 111, 241–251
4. Augustin, J.-C., Ferrier, R., Hezard, B., Lintz, A., Stahl, V., 2015. Comparison of individual-based modeling and population approaches for prediction of foodborne pathogens growth. *Food Microbiol.* 45, 205–215.
5. Augustin, J.-C., Czarnecka-Kwasiborski, A., 2012. Single-Cell Growth Probability of *Listeria monocytogenes* at Suboptimal Temperature, pH, and Water Activity. *Front. Microbiol.* 3, 157.

SP14-T Biofilm : une session qui va vous coller !**SP14-T-O.1****Évolution expérimentale de la formation de biofilm chez *Escherichia coli***Jean-Marc Ghigo¹ (jmghigo@pasteur.fr), Christophe Beloin², Mari Yoshida², Stanislas Thiriet-Rupert², Leonie Mayer²¹ *Unité de Génétique des Biofilms-UMR CNRS 2001, Institut Pasteur, Paris, France*² *Institut Pasteur, Paris, France*

Les biofilms bactériens sont des communautés bactériennes fixées sur les surfaces ou agrégées entre elles et dans lesquelles diffusion réduite et structure tridimensionnelle favorisent l'émergence de propriétés originales par rapport aux bactéries libres (planctoniques). Alors que les biofilms jouent de nombreux rôles écologiques positifs, ils ont également une incidence négative dans les environnements médicaux et industriels où ils sont difficiles à éliminer ou source d'infections. Chez la plupart des bactéries, la première étape de la formation du biofilm repose sur l'expression coordonnée d'un vaste répertoire d'adhésines impliquées dans l'interaction bactérie-surface. Cependant, comment les bactéries modulent dynamiquement leur potentiel d'adhésion n'est pas encore bien compris. Nous avons employé une approche d'évolution expérimentales pour explorer la manière dont une souche d'*Escherichia coli* faiblement adhérente s'adapte lorsqu'elle est soumise à une sélection positive pour la formation de biofilm. Lors de la présentation, seront exposés des résultats montrant que l'évolution rapide des Fimbriae de type 1 est un moteur majeur de l'adaptation d'*E. coli* aux surfaces, entraînant l'émergence de phénomènes de résistance aux antibiotiques.

SP14-T Biofilm : une session qui va vous coller !**SP14-T-1*****Staphylococcus aureus* biofilm formation in response to bone factors**Fabien Lamret¹ (fabien.lamret@univ-reims.fr), Jennifer Varin-Simon¹, Sophie C. Gangloff^{1,2}, Fany Reffuveille^{1,2}¹ EA 4691 BIOS, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France² UFR Pharmacie, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France**Introduction and aim:**

Prosthetic Joint Infections (PJIs) are serious complications of arthroplasty and can lead to revision surgeries. *Staphylococcus aureus* is mainly involved in these infections and several bacterial reservoirs have been described, such as biofilm formation, which leads to chronic infections. Biofilms are structured communities embedded in an extracellular matrix. To prevent biofilm formation, our aim was to understand how the periprosthetic environment would influence the biofilm formation of *S. aureus*. For this, we assessed different factors of the bone microenvironment on *S. aureus* biofilm formation.

Materials and methods:

Different minimal medium (MM) modifications were assessed to mimic the bone microenvironment, including the lack of amino acids and glucose as well as high concentration of magnesium. Furthermore, biofilms were grown without oxygen. To understand the influence of these factors on biofilm formation, we first monitored biofilm biomass and enumerate live adherent bacteria proportions of three strains of *Staphylococcus aureus* (including one methicillin-resistant strain) for 24 hours in a static biofilm model. In addition, scanning electron and confocal microscopies allowed us to assess the biofilm matrix appearance and quantify the main components of the matrix.

Results, discussion and conclusion:

Compared to non-modified MM, the lack of glucose, amino acids and a high concentration of magnesium (bone-like environment, BLE) increased the biofilm biomass and the percentage of adherent bacteria for the three strains. Scanning electron microscopy acquisitions revealed a similar aspect of matrix under BLE. Within the matrix of methicillin-sensible strains, equal volumes of polysaccharide, protein and eDNA were quantified thanks to fluorescent labeling whereas the matrix of the methicillin-resistant strain was mainly composed of eDNA, constituting an interesting potential antibiofilm target. Our results showed that parameters mimicking the specific bone environment influenced the biofilm formation of the three studied *S. aureus* strains. Further factors of this environment, such as bone cells secretome, are currently under investigation to improve our understanding of PJIs and bacterial survival in the bone environment. The final aim is to develop an *in vitro* model of bone environment to select appropriate antibiofilm molecules.

Mots clés : Bone and joint infections - *Staphylococcus aureus* - Biofilm.

SP14-T Biofilm : une session qui va vous coller !**SP14-T-2****Composition et contribution de la couche S aux propriétés de surface de *Bacillus cereus* AH187**Cécile Boutonnet¹ (cecile.boutonnet@inrae.fr), Sebastien Lyonnais², Alice Chateau¹, Catherine Duport¹¹ UMR 408 SQPOV (INRAE), Université Avignon, Avignon, France² UAR3725 CNRS, CEMIPAI Université Montpellier, Montpellier, France

Bacillus cereus est un pathogène humain fréquemment associé aux Toxi-Infections Alimentaires Collectives. Les TIAC à *B. cereus* sont caractérisées par des syndromes diarrhéiques et émétique. Le syndrome émétique est généralement associé à l'ingestion d'aliments contenant de la céréulide, une toxine peptidique produite par les souches dites émétiques. *B. cereus* AH187 est une souche émétique de référence [1], qui porte une couche de surface, appelée couche S. La structure et la fonction de la couche S de *B. cereus* AH187 ne sont pas connues, mais cette couche S pourrait contribuer aux propriétés d'adhésion de la bactérie et à sa pathogénicité [2]. *B. cereus* AH187 synthétise deux protéines (EA1 et SL2) qui pourraient être les composants de la couche S [3]. L'objectif du travail présenté est (i) d'établir les rôles de EA1 et SL2 en tant que composants de la couche S et leurs dynamiques au cours de la croissance de *B. cereus*, et (ii) d'étudier la contribution de la couche S aux propriétés de surface de *B. cereus*.

La localisation des protéines EA1 et SL2 à la surface de la bactérie a été établie par Western-Blot et microscopie à fluorescence. Leur quantification et leur dynamique au cours de la croissance ont été déterminées grâce à des analyses protéomiques. Un mutant ne synthétisant plus les protéines EA1 et SL2 a été construit par recombinaison homologue. L'absence de couche S à la surface du mutant a été visualisée par microscopie à fluorescence. La topographie, les propriétés de surface et la capacité d'auto-agrégation du mutant et de la souche parentale ont été comparées par microscopie à force atomique (AFM) et des analyses microbiologiques.

Les résultats ont montré que EA1 et SL2 sont les deux composants protéiques de la couche S de *B. cereus* AH187, et que leur proportion varie au cours de la croissance. En l'absence de couche S, la capacité d'auto-agrégation de *B. cereus* est réduite, sa surface est moins hydrophobe, sa topographie et ses propriétés mécaniques sont modifiées. En conclusion, la couche S contribue aux propriétés de surface de *B. cereus* et pourrait favoriser la colonisation des surfaces biotiques et abiotiques.

Mots clés : *B. cereus* - Couche S - AFM - Microscopie - Adhesion.

Références :

1. Carroll LM, Wiedmann M, Mukherjee M, Nicholas DC, Mingle LA, Dumas NB, et al. 2019, Characterization of Emetic and Diarrheal *Bacillus cereus* Strains From a 2016 Foodborne Outbreak Using Whole-Genome Sequencing: Addressing the Microbiological, Epidemiological, and Bioinformatic Challenges. *Front Microbiol*; 10.
2. Gerbino E, Carasi P, Mobili P, Serradell MA, Gómez-Zavaglia A. 2015, Role of S-layer proteins in bacteria. *World J Microbiol Biotechnol*; 31(12):187787.
3. Rousset L, Alpha-Bazin B, Château A, Armengaud J, Clavel T, Berge O, et al. 2020, Groundwater promotes emergence of asporogenic mutants of emetic *Bacillus cereus*. *Environ Microbiol*; 22(12):524864.

SP14-T Biofilm : une session qui va vous coller !**SP14-T-3****Le mode de vie en biofilm renforce les activités probiotiques des lactobacilles**Aurélié Rieu (Aurelie.Rieu-Guigon@u-bourgogne.fr), Jean Guzzo

UMR PAM, Université de Bourgogne, Dijon, France

Introduction et objectifs :

Les lactobacilles sont des bactéries à Gram positif largement utilisées dans des procédés industriels de fermentation agro-alimentaire ; certaines souches font partie du microbiote intestinal et peuvent présenter des effets probiotiques. Les bactéries se développant en biofilm adoptent une physiologie particulière par rapport à leur forme planctonique ce qui ouvre la porte à la caractérisation de nouvelles fonctionnalités. De nombreuses revues se sont concentrées sur les effets néfastes des biofilms associés aux bactéries pathogènes. Ce travail vise à décrire l'impact de la croissance en biofilm sur les activités probiotiques de lactobacilles et à caractériser au niveau moléculaire les interactions bactérie/hôte.

Matériels et méthodes :

Nous avons exploré le potentiel des souches de lactobacilles, cultivées en condition biofilm ou planctonique, à moduler certaines fonctions immunitaires, à l'aide d'un modèle *in vitro* utilisant les cellules THP-1 et par une approche *in vivo* reposant sur le modèle du poisson zèbre [1-2]. Nous avons également développé un procédé de fabrication de billes à base de pectine, contenant les bactéries probiotiques sous forme de biofilms répartis uniformément en amas distincts [3].

Résultats, discussion et conclusion :

Les travaux menés ont permis de mettre en évidence que le phénotype biofilm favorise l'activité anti-inflammatoire de souches de lactobacilles. La protéine GroEL, présente en plus grande quantité dans le surnageant de biofilm, a été associée à cet effet anti-inflammatoire [1-2]. Les bactéries ont ensuite été formulées sous forme de biofilm dans des billes de pectine afin de délivrer spécifiquement au niveau du côlon des microcolonies ayant des propriétés de résistance au stress et des avantages accrus pour la santé de l'hôte [3]. En conclusion, ce travail ouvre la voie à une nouvelle forme d'administration de bactéries présentant un phénotype biofilm avec des fonctionnalités améliorées.

Mots clés : Biofilm - Lactobacilles - Stress - Immunomodulation - Formulation.

Références :

1. Rieu A, Aoudia N, Jeho G, Chluba J, Yousfi N, Briandet R, et al. 2014. The biofilm mode of life boosts the anti-inflammatory properties of *Lactobacillus*. *Cell Microbiol.* 16(12):1836-1853.
2. Aoudia N, Rieu A, Briandet R, Deschamps J, Chluba J, Jeho G, et al. 2016. Biofilms of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus fermentum*: effect on stress responses, antagonistic effects on pathogen growth and immunomodulatory properties. *Food Microbiol.* 53(Pt A):51-59.
3. Heumann A, Assifaoui A, da Silva Barreira D, Thomas C, Briandet R, Laurent J, et al. 2020. Intestinal release of biofilm-like microcolonies encased in calcium pectinate beads increases probiotic properties of *Lactobacillus paracasei* ATCC334. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 28;6(1):44.

SP14-T Biofilm : une session qui va vous coller !**SP14-T-4****Spatial organization of food pathogens *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* in jellified media**

Cédric Saint Martin¹ (Cedric.Saint-Martin@inrae.fr), Nelly Caccia², Marina Grégoire¹, Lucas Midoux¹, Maud Darsonval¹, Florence Dubois-Brissonnet¹, Sabine Leroy², Romain Briandet¹, Mickaël Desvaux²

¹ MICALIS, INRAe, Jouy-en-Josas, France

² MEDIS, INRAe, Theix, France

Introduction and objectives:

Spatial colonization of food matrices by bacterial pathogens is poorly described yet potentially crucial for the consumer risk associated with the ingestion of contaminated products. Those media are of interest because they present a heterogeneous structure and multiple micro-gradients of physico-chemicals parameters. Bacterial adaptation to micro-environments leads to phenotypic heterogeneity, which then can give rise to subpopulations with higher resistance, variation of growth rates and possibly different virulence values. *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* are respectively the 3rd and 5th most common food related zoonosis in Europe and carry a relatively elevated risk of lethality. In order to study the physiology of bacteria in semi-solid media, the growth of those foodborne pathogens in jellified matrix will be analyzed.

Materials and methods:

We combined Confocal Laser scanning Microscopy (CLSM) with genetic fluorescent labeling of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 to decipher the spatial patterns of colonization of both pathogens, alone or in combination, in various gel matrices. These matrices used low melting point agarose as the gelling agent for its low solidification temperature (37°C) that helped to remove the risk of thermal shock at the inoculation step. Main stress included acidification by lactic acid and hypertonicity by NaCl, two compounds frequently present in food. A method for high output of observations by preparation on 96 wells plates was formulated. Finally, Imaris software allowed tracking of single cells for motility assessment.

Results, discussion and conclusions:

The size, the number and the morphology of microcolonies were highly affected by a gel supplementation with NaCl or lactic acid. Strikingly, single cell motility was partially restored at higher agarose concentration in presence of NaCl for *L. monocytogenes* and in presence of lactic acid for *E. coli* O157:H7. The presence of a second species in the gel medium also affected pathogens colonization features. We could observe that *L. monocytogenes* present a better fitness in gel supplemented with lactic acid in presence of *E. coli*. All together, those observations suggested unexplored and species specific structural dynamics of bacterial pathogens in food matrix with potential impacts on food safety.

Mots clés : Bacterial food pathogens - Food matrices - Bacterial motility - Microcolonies - Confocal laser Scanning Microscopy (CLSM).

SP15 Plasticité génomique et fonctionnelle**SP15-O.1**

Mycologie

Dynamique et plasticité du transcriptome de *Cryptococcus*Guilhem Janbon (janbon@pasteur.fr)*Biologie des ARN des Pathogènes Fongiques, Institut Pasteur, Paris, France*

Il existe 7 espèces de *Cryptococcus* pathogènes de l'homme qui sont responsables de plus de 180 000 morts chaque année dans le monde. Des études récentes ont révélé une structure du transcriptome complexe et dynamique chez ces levures basidiomycètes. Ainsi, il est tendant de lier ces caractéristiques de leur transcriptome avec la capacité qu'ont ces levures à s'adapter à des environnements très divers y compris celui de l'hôte. Chez *Cryptococcus*, la plupart des gènes contiennent des introns qui servent à la fois à contrôler leur expression mais qui sont aussi très utiles pour la défense de l'intégrité du génome. Par ailleurs, nos études de la dynamique d'utilisation des sites de dépôts de transcription ont démontré leur implication dans la régulation d'expression des gènes mais aussi dans le contrôle de la diversité du protéome. Enfin, la taille du transcriptome et celle des cellules sont aussi très dynamiques chez ces champignons en réponse à des modifications des conditions de culture. Il ne semble pourtant pas exister de lien constant entre ces deux paramètres.

Mots clés : *Cryptococcus* - ARN - Intron - TSS.

SP15 Plasticité génomique et fonctionnelle**SP15-O.2**

Mycologie

Mining the fungal biodiversity for novel bioactive compoundsJerome Collemare (j.collemare@wi.knaw.nl)*Fungal Natural Products, Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands*

Emerging diseases and antimicrobial resistance are threats to human societies which we have already been experiencing. Addressing these threats require a complex answer, including the development of rapid and reliable diagnostics, development of new treatments, better sanitation and prevention, better use of existing molecules and discovery of new antimicrobials. This last focus has been neglected in the last decades, placing us in a so-called discovery void. The fungal kingdom has provided us with key antimicrobials but has remained largely unexplored. Prospecting the fungal biodiversity as a whole is key to discover new antimicrobials with potentially new modes of action. While traditional screenings for antimicrobial activities are important to perform, they do not provide access to the complete diversity encoded in fungal genomes. Genome mining and synthetic biology tools now allow us to exploit the full chemical potential of fungi. Examples of the different approaches will be presented.

Mots clés : Genome - Screening - Antibiotics - Antifungals - Heterologous expression.

SP15 Plasticité génomique et fonctionnelle**SP15-1**

Mycologie

La phylosystémique : annotation phylogénétique et comparaison des réseaux d'interactions biologiques dans une perspective évolutive

Hugo Bonnefous (hugo.bonnefous@gmail.com)

ISYEB (MNHN), Paris, France

Introduction et objectifs :

La production croissante de données « omiques » permet la construction de réseaux d'interactions de plus en plus précis et nombreux, à toutes les échelles du vivant (des réseaux d'interactions protéine-protéine aux réseaux d'interactions trophiques). Mais de tels réseaux, qui constituent le cœur de la « biologie des systèmes », sont encore trop peu exploités dans une dimension évolutive. Pour combler cette lacune, la « phylosystémique » propose une approche novatrice à l'interface entre phylogénomique et biologie des systèmes, susceptible d'offrir de nouvelles perspectives en biologie de l'évolution.

Matériel et méthodes :

Une étude comparative des réseaux d'Interaction Protéine-Protéine (réseaux IPP) chez les Eucaryotes permet d'illustrer la démarche phylosystémique et ses intérêts. Les protéines présentes dans les réseaux d'interactions IPP de 45 espèces eucaryotes représentatives ont été annotées en fonction de leur appartenance à des groupes d'orthologie. A partir d'une phylogénie connue de ces 45 espèces, la comparaison des réseaux annotés permet ensuite d'inférer des réseaux IPP ancestraux par parcimonie, selon l'hypothèse suivante : une interaction présente entre deux couples de protéines orthologues chez deux espèces distinctes existait probablement chez leur ancêtre commun. Les protéines ont ensuite été annotées en fonction de leur origine phylogénétique putative parmi les trois grands règnes du vivant, *Bacteria*, *Archaea* et *Eukarya*, sur la base d'une similarité de séquence avec un jeu de données représentatif de la diversité protéique connue à l'heure actuelle.

Résultats, discussion et conclusion :

La succession temporelle de ces réseaux ancestraux permet de proposer des scénarios d'évolution des processus cellulaires chez les différentes lignées eucaryotes étudiées. Par ailleurs, d'après les théories évolutives majoritaires sur l'eucaryogenèse, les Eucaryotes seraient issus d'une endosymbiose entre une bactérie et une archée. Par conséquent il coexisterait chez les Eucaryotes des protéines d'origine bactérienne, archéenne et eucaryotes. Etudier la position relative de ces protéines au sein des réseaux d'interactions fournit de nouveaux indices topologiques (caractère central/périphérique des protéines eucaryotes, interactions protéines archéennes/bactériennes) pour étudier cette endosymbiose fondatrice encore fortement débattue.

Mots clés : Phylosystémique - Eucaryogenèse - Réseaux d'interactions protéine-protéine.

Références :

1. Watson AK, Habib M, Baptiste E, 2019, Phylosystemics: Merging Phylogenomics, Systems Biology, and Ecology to Study Evolution. Trends Microbiol. doi: 10.1016/j.tim.2019.10.011

SP15 Plasticité génomique et fonctionnelle**SP15-2**

Mycologie

Tester la pression de sélection à l'échelle du gène en prenant en compte l'effet des mutationsLucile Vigué¹ (lucile.vigue@inserm.fr), Giancarlo Croce², Martin Weigt³, Olivier Tenaillon¹¹ UMR 1137, IAME, Université de Paris, INSERM, Paris, France² Université de Lausanne, Lausanne, Suisse³ UMR 7238, LBCQ, Sorbonne Université Paris, Paris, France**Introduction et objectifs :**

Les tests de sélection classiques tels que le test de McDonald-Kreitman sont généralement basés sur la comparaison entre mutations synonymes (supposées neutres) et non-synonymes. Une limite de ces tests est l'impossibilité de quantifier l'effet des mutations non-synonymes (bénéfiques, légèrement délétères, très délétères). Un gène accumulant des mutations non-synonymes connaît-il une relaxation de la pression de sélection ou est-il au contraire sous forte pression de sélection diversifiante ?

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 protéine, en prenant en compte l'épistasie entre paires de résidus. Nous proposons ici une nouvelle approche basée sur le DCA pour évaluer la pression de sélection s'exerçant sur un gène.

Matériels et méthodes :

Les mutations non-synonymes observées dans le core génome de plus de 61,000 génomes d'*E. coli* ont été rassemblées. En comparant la distribution de leurs effets prédits par le DCA à la distribution attendue sous un régime d'évolution neutre, nous avons pu quantifier la pression de sélection s'exerçant sur chaque gène.

Résultats, discussion et conclusion :

Les gènes essentiels sont soumis à une forte pression de sélection purifiante. Un gène accumule d'autant plus de mutations délétères qu'il est faiblement exprimé, en accord avec un scénario où la pression de sélection croît avec le niveau d'expression.

Ce test met également en évidence un gain de valeur sélective à court terme par l'inactivation de certains gènes. Ce phénomène connu en évolution expérimentale est ici observé dans des souches aux histoires évolutives diverses. Le gène accumulant le plus de mutations délétères est RpoS, dont l'inactivation dans un milieu faible en nutriments est fréquemment observée. On note aussi la présence de répresseurs de gènes conférant une résistance aux antibiotiques. Ces mutations délétères s'accumulent sur les branches terminales de la phylogénie, signant une contre-sélection sur le long terme de ces inactivations.

Nous proposons un test simple de pression de sélection à l'échelle du gène qui met en lumière différents scénarios de sélection. Ce travail a été appliqué à l'étude de l'évolution d'*E. coli* mais pourrait être adapté à d'autres organismes.

Mots clés : Escherichia coli - Test de sélection - Direct Coupling Analysis.

SP16-T Pathogénie comparée (plantes, animaux, être humain) (en association avec la SFMM)**SP16-T-O.1****Acclimation and pathogenicity of *Xanthomonas* in its *in planta* niche/Adaptation et pathogénie de *Xanthomonas* dans sa niche végétale**

Laurent Noël (laurent.noel@inrae.fr)

LIPME, CNRS, Castanet-Tolosan, France

Xanthomonas campestris (*Xcc*) is a gram-negative bacterium and the causal agent of black rot disease on Brassicaceae. *Xcc* enters plant tissues at hydathodes, plant organs located at leaf margins and mediating guttation. We aimed at determining the genetic basis of adaptation and pathogenicity of *Xcc* on its host plants. *Xcc* transcriptome was determined inside hydathodes unraveling some of the environmental conditions encountered by bacteria *in planta*. In parallel, a Tnseq screen was conducted to identify genes important for *in planta* fitness. Our latest results will be presented.

Mots clés : Xanthomonas - Pathogenicity - TnSeq - Plant - Arabidopsis.

SP16-T Pathogénie comparée (plantes, animaux, être humain) (en association avec la SFMM)

SP16-T-O.2

Mycologie

Pathogénie

Insights into the pathogenic lifestyle of *Alternaria brassicicola*, a necrotrophic fungal pathogen of the Brassicaceae family

Philippe Simoneau (simoneau@univ-angers.fr), Thomas Guillemette

UMR 1345 IRHS, Université Angers, Angers, France

Introduction and objectives

Seed-borne necrotrophic fungi are exposed to a stressful environment when colonizing the host plant organs. Indeed, they have to overcome both chemical (plant defence metabolites) and physical (low water availability) barriers to actively reach the seeds. During the last decade, our team used *Alternaria brassicicola*, a pathogen of Brassicaceae, as fungal model species to explore the adaptive mechanisms that allow the fungus to cope with these stresses. A summary of our major findings will be presented.

Materials and methods

All the experiments were conducted on a reference strain of *A. brassicicola*. Pathogenicity assays were performed either on cabbage (vegetative organs) or on *Arabidopsis thaliana* (reproductive organs). Stress-adaptive mechanisms were usually identified based on transcriptomic approaches and functional analyses.

Results and discussion*Adaptive mechanism to defence metabolites*

Brassicaceous plants produce different antimicrobial compounds: indolic phytoalexins accumulating during infection and isothiocyanates deriving from preformed glucosinolates after tissue injury. Comparative analyses of transcriptomes of *A. brassicicola* exposed or not to such compounds provided insights on their cellular targets and protective mechanisms induced in the fungus. In particular, we demonstrated i) the crucial role of the cell wall integrity and unfolded protein response pathways in the protection of the fungus towards indolic phytoalexins and, ii) that exposure to isothiocyanates led to intracellular accumulation of reactive oxygen species and activation of the transcription factor AbAP1 that promote the expression of oxidative-response genes.

Adaptive mechanisms to hydric stress

During seed maturation water availability decreases. We showed that fungal mutants defective for an osmosensor histidine kinase were strongly impaired in their ability to colonize seeds suggesting that a functional high osmolarity pathway is required for efficient infection of seeds. Analysis of transcriptomic profiles of germinated spores from wild-type and mutants in response to exposure to osmotic stress revealed similar expression patterns of genes involved in the synthesis of several proteins belonging to the hydrophilin-like superfamily and genes encoding eisosomal proteins. Phenotyping mutants deficient for these proteins was performed to better understand their role in the response to hydric stress and possible involvement in fungal transmission to seeds.

Mots clés : Necrotroph - Seed-borne - Pathogen - Adaptive response - Stress.

SP16-T Pathogénie comparée (plantes, animaux, être humain) (en association avec la SFMM)**SP16-T-1****Transposable elements mediate a rapid phenotypic switch between virulent and avirulent states in the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum***

Bo-Hyung Lee (bohyung.lee@inrae.fr)

VIM, INRAE, Jouy-en-Josas, France

Flavobacterium psychrophilum is the etiologic agent of bacterial cold-water disease, which poses a great threat in fish farming industry worldwide. Efficient genetic tools are scarce and molecular mechanisms involved in pathogenesis are yet poorly understood hampering the development of effective control strategies. In this study, we employed experimental evolution *in vitro* and *in vivo* in order to unveil genetic traits related to virulence.

A highly virulent isolate was first submitted to successive *in vitro* sub-cultivations producing 8 independent lineages. WGS of the resulting populations revealed that all progenies were genetically modified in the promoter region of a di/tripeptide transporter encoding gene. Clones isolated from each population showed increased growth rate compared to the ancestor. The di/tripeptide transporter gene was upregulated, suggesting that uptake of peptides is increased favoring growth of *in vitro*-evolved clones in laboratory conditions. In addition, a subset showed deficiency in adhesion, hemolysis and exoproteolytic capacities (group A) while the others were as the ancestor (group B).

Five clones of each group were used to infect rainbow trout, a natural host, using immersion challenge. While the virulence of group B clones was similar as the ancestor, attenuation was demonstrated for all clones of group A with significant delay in the onset of death. Finally, bacterial clones re-isolated from diseased fish infected with group A displayed similar *in vitro* phenotypes and virulence as the ancestor. These results indicate rapid *in vivo* reversion to the highly virulent state in presence of fish. Long-read WGS comparative genomics applied on the ancestral, *in vitro* and *in vivo* evolved clones showed that virulence loss and gain were associated with insertion and excision of a transposon in the promoter region of *gldKLMN* operon which encodes for Type IX secretion system (T9SS) subunits. T9SS is essential for secretion of adhesins and peptidases and for hemolysis and virulence¹.

Our study reveals the preponderant role of T9SS in *F. psychrophilum* adaptation to inside/outside host environment and illustrates the benefit of long-read WGS to resolve repeated regions and how genomic plasticity mediated by transposable elements dynamically reshapes gene expression to increase bacterial fitness under selective environmental pressure.

Mots clés : *Flavobacterium psychrophilum* - Transposon - Experimental evolution - T9SS - Virulence.

Références :

1. Barbier P., 2020, Appl Environ Microbiol, 3;86(16):e00799-20.

SP16-T Pathogénie comparée (plantes, animaux, être humain) (en association avec la SFMM)

SP16-T-2

Mycologie

Pathogénie

Rôle de l'antigène O dans la reconnaissance d'*Escherichia coli* par le système immunitaire inné et adaptatif des bovins

Pierre Germon (pierre.germon@inrae.fr), Mégane Védrine, Camille Berthault, Maryline Ferter, Christophe Gitton, Sarah Barbey, Florence Gilbert, Pascal Rainard

INRAe, Nouzilly, France

Les mammites demeurent une maladie d'importance en élevage laitier, tant par ses conséquences sur l'économie de la filière lait que celles sur le bien-être des vaches et l'utilisation d'antibiotiques. Avec *Streptococcus uberis* et *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* est un des pathogènes majeurs de mammites, plus particulièrement isolé de mammites cliniques caractérisées par une réponse inflammatoire forte et un fort recrutement de neutrophiles dans le lait.

Notre objectif était d'une part d'identifier les propriétés bactériennes nécessaires au déroulement de l'infection et, d'autre part, d'étudier si la reconnaissance des bactéries pouvait être modulée après vaccination.

Résultats :

L'étude de l'inflammation mammaire induite par différentes souches d'*E. coli* *in vivo* dans un modèle murin et *in vitro* sur des cellules épithéliales mammaires (CEM) a mis en évidence des différences notables entre souches, avec en particulier une réponse pro-inflammatoire *in vitro* atténuée pour une des souches étudiées.

Le criblage d'une banque de mutants aléatoires pour une activité pro-inflammatoire accrue nous a permis de montrer que la présence de l'antigène O à la surface des bactéries réduisait la réponse des CEM et rendait la réponse dépendante du co-récepteur CD14.

En parallèle, nous avons cherché à étudier si des anticorps générés suite à une vaccination avec une souche d'*E. coli* sans antigène O (vaccin J5) pouvait, en reconnaissant des motifs conservés entre souches d'*E. coli*, améliorer la phagocytose d'*E. coli* par les neutrophiles. Nos résultats ont montré que tel n'était pas le cas et que l'antigène O à la surface d'*E. coli* empêchait ces anticorps d'accéder à leur cible, remettant en question l'utilité de l'approche vaccinale J5.

Conclusion :

Ces travaux permettent de mieux appréhender le rôle de l'antigène O d'*E. coli* dans le déclenchement de la réponse immunitaire innée et dans la protection contre les mécanismes de phagocytose par les neutrophiles.

Mots clés : *Escherichia coli* - LPS - antigène O - Inflammation - Vaccination.

SP17 Optimisation des anti-microbiens**SP17-O.1****Optimisation de l'utilisation des anti-microbiens : faire plus ou faire mieux ?**Julien Buyck*Université de Poitiers, Poitiers, France*

Résumé non parvenu

SP17 Optimisation des anti-microbiens

SP17-1

NAD kinase: an original bacterial target for antibiotic development

Clarisse Leseigneur^{1,2} (clarisse.leseigneur@pasteur.fr), Muriel Gelin³, Julie Paoletti⁴, Marie-Anne Nahori⁵, Valérie Huteau⁴, Grégory Jouvion^{6,7}, Laurence Dugué⁴, David Clément⁴, Jean-Luc Pons³, Liliane Assairi⁸, Gilles Labesse³, Sylvie Pochet⁴, Olivier Dussurget^{1,2}

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

² Université de Paris, Paris, France

³ CNRS UMR 5048, INSERM U1054, Centre de Biochimie Structurale, Montpellier, France

⁴ Unité de Chimie et Biocatalyse, CNRS UMR3523, Institut Pasteur, Paris, France

⁵ Unité des Toxines Bactériennes, Institut Pasteur, Paris, France

⁶ Unité de Neuropathologie Expérimentale, Institut Pasteur, Paris, France

⁷ INSERM UMR S933, Sorbonne Université, Hôpital Armand Trousseau APHP, Paris, France

⁸ INSERM U759, Institut Curie, Orsay, France

Multidrug resistance is a major public health issue, which requires urgent development of new antibiotics and thus identification of original bacterial targets. We have identified the nicotinamide adenine dinucleotide kinase (NADK) as a potential therapeutic target for the treatment of bacterial infections. NADK is an ubiquitous enzyme involved in the last step of NADP biosynthesis. It catalyzes 2'-phosphorylation of NAD to NADP using ATP as phosphate donor. NADK plays a critical role in controlling the NADH/NADPH ratio necessary for redox balance and many metabolic pathways. Its activity has been shown to be essential for growth in clinically relevant pathogenic bacteria such as *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella enterica* and *Pseudomonas aeruginosa*. Given its key role and its structural divergence from human NADK, bacterial NADK is a promising drug target for antibiotic discovery. The aim of this study was to develop NADK inhibitors.

A family of di-adenosine derivatives was developed using a fragment-based drug design approach and screened using NADK crystals. These compounds were characterized by X-ray crystallography, enzymatic and bacterial growth inhibition assays. A lead compound, NAD-Killer 1 (NKI1), was synthesized following medicinal chemistry strategies. NKI1 activity on NADK was validated in *Staphylococcus aureus* using a CRISPR-mediated interference approach. Anti-infectious activity of NKI1 was evaluated in a pyelonephritis model in mice infected with *S. aureus*. NKI1 toxicity was assessed by measuring the concentration of markers of organ failure in mouse plasma.

We designed di-adenosine derivatives that fully occupy the active NAD site of bacterial NADK. One compound, NKI1, exhibited inhibitory activity against *S. aureus*, without any significant toxicity to human cells *in vitro*. Remarkably, NKI1 inhibited growth of both methicillin-sensitive and methicillin-resistant *S. aureus* strains. CRISPR-interference knock-down of the NADK gene expression demonstrated its importance for the growth of *S. aureus*. Genetic and chemical inhibition experiments confirmed that *S. aureus* NADK was targeted by NKI1. While NKI1 did not show any toxic effect in mice, it controlled the bacterial burden in a murine model of acute hematogenous pyelonephritis induced by *S. aureus*.

Our results indicate that NADK is a druggable target to develop innovative treatments against antibiotic-resistant pathogenic bacteria.

Mots clés : Antibiotics - MRSA - NAD kinase.

SP17 Optimisation des anti-microbiens

SP17-2

Innovative antimicrobial strategy based on Targeted-Antibacterial-Plasmids (TAPs) combining bacterial conjugation and CRISPR systems

Sarah Bigot¹ (sarah.bigot@ibcp.fr), Audrey Reuter¹, Cécile Hilpert¹, Annick Dedieu-Berne¹, Sophie Lematre¹, Erwan Gueguen², Guillaume Launay¹, Christian Lesterlin¹

¹ MMSB-UMR5086, CNRS-Université Lyon, Lyon, France

² MAP-UMR5240, CNRS-Université Lyon-INSA, Lyon, France

In recent years, we observed a worldwide emergence of antimicrobial resistance and most antibiotics are rendered ineffective by drug-resistant bacteria. This statement forces us to look for therapeutic alternative to antibiotics. Novel biotechnology-based strategies are beginning to emerge and among these, the use of CRISPR-Cas9 systems has been demonstrated to achieve antimicrobial activity on selected bacterial strains owing to its highly sequence-specific targeting capability. However, the implementation of such system to perform new antibacterial therapeutic strategy is still a largely unexplored field.

With the view to making progress in the fight against antimicrobial resistance, we have developed an innovative strategy based on Targeted-Antibacterial-Plasmids (TAPs) that use bacterial conjugation to deliver CRISPR/Cas systems exerting a strain-specific antibacterial activity. To do so, we have constructed derivatives of the F and RK2 conjugation plasmids producing constitutively a *Streptococcus pyogenes* Cas9 and a modifiable sequence of guide RNA (gRNA). In order to identify gRNA sequences present only in chosen bacterial genomes and to target specific bacterial species within a mixed species population, we developed a "Crispr Search Tool for Bacteria" CSTB algorithm. This algorithm enables reliable identification of ~16-20 nt CRISPR sequences that exert their activity in targeted bacterial species only based on their taxonomy or because they carry specific genes. By combining plating assays, cytometry and microscopic analysis, we demonstrate the ability of TAPs to induce selective killing of a range of pathogens, including *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter rodentium*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio cholerae* and *Pseudomonas aeruginosa*. We also show that TAPs directed against a plasmid-born carbapenem resistance gene efficiently resensitise the strain to the drug.

This work represents an essential step towards the development of an alternative to antibiotic treatments, which could be used for *in situ* microbiota modification to eradicate targeted resistant and/or pathogenic bacteria without affecting other non-targeted bacterial species.

Mots clés : Antibiotic resistance - Bacterial conjugation - CRISPR system.

Références :

1. Reuter A, Hilpert C, Dedieu-Berne A, Lematre S, Gueguen E, Launay G*, Bigot S* and Lesterlin C* (2021). Targeted-antibacterial-plasmids (TAPs) combining conjugation and CRISPR/Cas systems achieve strain-specific antibacterial activity. *Nucleic Acids research*. 49(6):3584-3598.

SP17 Optimisation des anti-microbiens

SP17-3

An expected antibacterial property of decellularized Wharton's jelly derived matrix: an innovative matrix for tissue engineering

Marie Dubus¹ (marie.dubus@hotmail.com), Loïc Scomazon¹, Julie Chevrier¹, Fany Reffuveille¹, Florelle Gindraux², Cédric Mauprivez¹, Halima Kerdjoudj¹

¹ EA4691 BIOS, Université de Reims Champagne-Ardenne, Laboratoire BIOS, Reims, France

² Laboratoire de Nanomédecine, Imagerie, Thérapeutique EA 4662, Université Bourgogne Franche-Comté, Besançon, France

Introduction and objective:

Perinatal tissues represent a valuable opportunity for the development of biological matrix as they can be easily achieved, both from a technical and ethical point of view. Among them, the Wharton jelly (WJ), extracted from umbilical cord, shows promising results in clinic following treatment of infected wounds. While the antibacterial activities of the amniotic perinatal tissue were previously reported, to our knowledge, no study investigating the antibacterial properties of the WJ was reported. Herein, the antibacterial properties of WJ were investigated and compared to decellularized WJ (DC-WJ) for its potential use as an antibacterial medical device.

Materials and methods:

After stripping the surrounding superfluous tissue (*i.e.* sub amniotic envelop and blood vessels), WJ matrix was treated for 24 h with Triton X-100 and DNase then freeze-dried. Proteomic analysis of DC-WJ release was performed. Growth and adhesion of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in presence of WJ/DC-WJ were investigated. Scanning electron and laser scanning confocal microscopies (live/dead staining) were used in order to observe adhered bacteria on WJ/DC-WJ.

Results and conclusion:

The proteomic analysis showed the release from DC-WJ of antimicrobial peptides involved in bacterial agglutination. While a bacteriostatic effect of WJ on the growth of Gram positive strains was highlighted, this effect was seen on both Gram positive and Gram negative strains in the presence of DC-WJ, as a significant reduction on the bacterial growth was demonstrated (*versus* standard culture condition). The percentage of alive adhered bacteria on DC-WJ was also significantly lower in comparison to WJ. Furthermore, SEM images showed the presence of damaged bacteria on DC-WJ, while a biofilm-like matrix was observed for Gram positive bacteria on native WJ. Live-dead staining and laser scanning confocal microscopy confirmed the presence of propidium iodide positive bacteria on DC-WJ. To sum up, DC-WJ exerts antibacterial effect by hampering the bacteria planktonic growth and by reducing the bacteria adhesion by several orders of magnitude compared to WJ. Further *in vivo* experiments are required to confirm the beneficial effect of DC-WJ matrix in the treatment of medically fragile patients.

Mots clés : Wharton jelly - Decellularized matrix - Tissue engineering - Antibacterial.

SP17 Optimisation des anti-microbiens

SP17-4

Activité antibactérienne d'extraits issus de macromycètes méditerranéens sur une collection de souches cliniques à Gram positif

Laura Onillon¹ (laura.onillon@etu.umontpellier.fr), Franck Cantet¹, Anaëlle Sissung¹, Alix Pantel², Jean Philippe Lavigne², Jean Michel Bellanger³, Matteo Bonazzi¹, [Alessandra Occhialini¹](#)

¹ IRIM, Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, UMR9004, Université de Montpellier et CNRS, Montpellier, France

² Laboratoire de Bactériologie, CHU Nîmes, Nîmes, France

³ CEFE, Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, UMR5175, Université de Montpellier et CNRS, Montpellier, France

Introduction et objectifs :

Les macromycètes représentent une source prometteuse et encore peu exploitée de composés à potentiel thérapeutique. Ce travail vise à explorer l'activité antibactérienne de *Mycomed*, une collection d'extraits de macromycètes méditerranéens.

Suite à un premier criblage de 382 extraits, 12 ont été sélectionnés en raison de leur activité inhibitrice sur des bactéries à Gram +, dont *Staphylococcus aureus*. Les objectifs de ce travail ont été : (1) de tester ces extraits sur des souches cliniques à Gram + isolées à partir de biopsies osseuses de patients diabétiques, (2) de caractériser chimiquement les métabolites actifs du meilleur extrait, et (3) d'identifier les cibles/transporteurs moléculaires impliqués.

Matériels et méthodes :

Les activités inhibitrices et bactéricides des extraits ont été évaluées sur 12 souches cliniques et 4 souches de référence à Gram + en bouillon BHI grâce à la méthode de micro-dilution et dénombrement des bactéries viables après 20 heures de culture en présence d'extraits. L'extrait le plus actif a été fractionné par chromatographie liquide et l'activité antibactérienne de chaque fraction étudiée. En parallèle, afin d'identifier la cible moléculaire de cet extrait, des mutants résistants spontanés de la souche *S. aureus* Newman ont été sélectionnés sur gélose contenant un gradient de l'extrait (méthode Szybalski); ensuite, les ADN génomiques des clones mutants et de la souche parentale ont été purifiés et séquencés.

Résultats, discussion et conclusion :

Un extrait s'est montré particulièrement actif en inhibant la croissance de 15 souches et en étant bactéricide sur 8 des 16 souches testées. Après fractionnement de l'extrait, trois fractions présentaient une activité inhibitrice sur la souche *S. aureus* Newman. Trois clones mutants spontanés résistants à l'extrait ont été sélectionnés sur gélose Szybalski à partir de cette souche ; ces clones présentaient un niveau de résistance au minimum 4 fois supérieur à celui de la souche parentale ; l'analyse comparative de leurs génomes est actuellement en cours.

A terme, ces travaux pourraient mener à une valorisation industrielle de composés ou de fractions actives issus de la biodiversité des champignons macromycètes.

Mots clés : Macromycètes - Antibactériens - Bactéries à Gram positif - *Staphylococcus aureus*.

SP18 Génomique et transcriptomique, de nouvelles approches en virologie**SP18-T-O.1****Virologie****Acquisition de la résistance aux antiviraux chez les virus *herpes simplex***David Boutolleau (david.boutolleau@aphp.fr)*CNR Herpèsvirus, Service de Virologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Sorbonne Université, Paris, France*

Les infections par les virus herpes simplex 1 et 2 (HSV-1 et HSV-2) sont responsables de manifestations cliniques qui varient considérablement en fonction du statut immunitaire. Chez les individus immunocompétents, elles sont généralement peu symptomatiques et bien contrôlées, à l'exception toutefois de certaines manifestations cliniques plus sévères comme la kératite herpétique ou l'encéphalite herpétique. En revanche, ces infections constituent une cause majeure de morbidité chez les patients immunodéprimés tels que les receveurs de greffe ou les individus infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV). Les molécules antivirales utilisées pour le traitement de ces infections sont actuellement peu nombreuses et ciblent toutes l'ADN polymérase virale : (val)aciclovir, foscarnet et cidofovir. L'instauration de traitements antiviraux préventifs ou curatifs, souvent durant des périodes prolongées, chez des patients dont l'immunité cellulaire est altérée, peut conduire à l'émergence de résistance des HSV aux antiviraux, compliquant alors la prise en charge thérapeutique. Une résistance virologique peut être suspectée devant la persistance de lésions herpétiques après 10 jours de traitement antiviral bien conduit. La prévalence de la résistance des HSV à l'aciclovir est inférieure à 1% chez les individus immunocompétents, hormis chez ceux souffrant de kératite herpétique pour qui elle est de l'ordre de 7%, et elle varie de 2,5% à 11% chez les individus immunodéprimés, allant jusqu'à 36% chez les greffés de cellules souches hématopoïétiques. La détection de cette résistance peut s'effectuer au sein de laboratoires spécialisés à l'aide de méthodes génotypiques (identification de mutations associées à la résistance aux antiviraux par séquençage des gènes codant les protéines virales directement impliquées dans le mécanisme d'action des antiviraux) ou phénotypiques (mesure de la concentration d'un antiviral inhibant 50% de la multiplication virale en culture de cellules). Les inhibiteurs du complexe viral hélicase-primase des HSV, actuellement en essais cliniques, semblent très prometteurs pour agrandir le panel de molécules pour le traitement des infections par les HSV.

Mots clés : Infection par les HSV - Patients immunodéprimés - Prise en charge thérapeutique - Résistance aux antiviraux - Nouvelles molécules en développement.

SP18 Génomique et transcriptomique, de nouvelles approches en virologie**SP18-1**

Virologie

Génétique des sous-populations virales intra tissulaires au cours des néphropathies associées au polyomavirus BK après transplantation rénale

Louise Manceau^{1,2} (louise.manceau@chu-nantes.fr), Jérôme Bourret³, Cécile Peltier², Paul Barbier², Sarah Bouzidi³, Yann Fichou⁴, Dorian McIlroy², Ignacio Bravo³, Céline Bressollette-Bodin^{1,2}

¹ Laboratoire de Virologie, CHU Nantes, Nantes, France

² UMR1064 CRTI, INSERM Université de Nantes, Nantes, France

³ Laboratoire MIVEGEC, CNRS IRD Université de Montpellier, Montpellier, France

⁴ UMR1078, INSERM EFS UBO, Brest, France

Introduction et objectifs :

Le polyomavirus BK (BKPyV) est associé à des néphropathies interstitielles (NBKV) après greffe de rein. En cas d'infection prolongée, des mutations peuvent émerger dans le gène codant la protéine de capsid VP1, cible des anticorps et zone d'interaction avec le récepteur cellulaire. Des réarrangements dans la région régulatrice non codante pourraient modifier la capacité répliquative du virus. Afin de mieux comprendre la cinétique de sélection de ces variants, notre objectif est de mettre à profit les techniques de séquençage haut débit pour comparer les quasi-espèces virales entre les compartiments biologiques (rein, urines, sang) et au cours du temps.

Matériels et méthodes :

Sept patients transplantés de rein au CHU de Nantes entre 2017 et 2019 et atteints de NBKV ont été sélectionnés. L'ADN viral a été isolé à partir de ponction biopsies rénales congelées (automate Maxwell, Promega) et la charge virale tissulaire mesurée par PCR temps réel quantitative BKPyV/albumine. Le génome viral complet (PacBio) et/ou une partie du gène VP1 (350pb, Sanger et/ou NGS Illumina) ont été séquencés à partir des biopsies de rein, du sang et des urines collectés au cours du suivi. Des outils bio-informatiques ont été développés pour la détection de variants minoritaires dans VP1 et l'analyse des génomes complets.

Résultats et conclusion :

Sur onze biopsies étudiées, les charges virales tissulaires BKPyV étaient en moyenne de 2301+/-4510 copies/cellules. Le gène VP1 a été séquencé dans toutes les biopsies, et le génome complet dans 8 biopsies, 28 urines et 13 plasmas. Parmi les mutations non silencieuses de VP1 détectées dans 6 biopsies, toutes n'étaient pas retrouvées dans le sang et les urines aux mêmes dates. Les données de séquençage VP1 par NGS viendront préciser la distribution des variants dans les compartiments biologiques, et l'analyse de génomes complets permettra d'associer l'ensemble des mutations au sein d'une même molécule d'ADN.

Mots clés : Polyomavirus BK - Néphropathie - Evolution génétique virale - Séquençage haut débit.

SP18 Génomique et transcriptomique, de nouvelles approches en virologie**SP18-2****Virologie****Étude transcriptomique hôte/virus comparative dans le cas des infections génitales par les virus herpes simplex 1 (HSV-1) et 2 (HSV-2)**

David Boutolleau^{1,2} (david.boutolleau@aphp.fr), Guillaume Gricourt^{3,4}, Mélissa N debi^{3,4}, Vanessa Demontant^{3,4}, Christophe Rodriguez^{3,4}, Sonia Burrel^{1,2}

¹ Service de Virologie, CNR Herpèsvirus – Laboratoire Associé, AP-HP. Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

² Sorbonne Université, INSERM, IPLESP, UMR_S1136 Equipe 3 THERAVIR, Paris, France

³ Service de Virologie, AP-HP, GHU Henri Mondor, Créteil, France

⁴ INSERM U955 Eq18, IMRB, UPEC, Créteil, France

Introduction et objectifs :

Le HSV-1 et le HSV-2 peuvent être responsables d'infections génitales. Toutefois, la symptomatologie est généralement plus bruyante et la fréquence des réactivations virales (herpès génital récurrent ou excrétion virale asymptomatique) est plus importante pour le HSV-2 que pour le HSV-1. En utilisant la technologie d'études de génomique virale et de transcriptomique virale/hôte, nous souhaitons comparer les profils virus/hôte de ces deux espèces virales lors de l'infection génitale.

Matériel et méthodes :

Nous avons analysé 16 échantillons biologiques (écouvillonnages cutanéomuqueux) : 8 infections génitales par HSV-2 et 8 par HSV-1. Des bibliothèques d'ADN / ARN de ces échantillons ont été préparées, en utilisant les kits Nextera[®]XT et Truseq Stranded[®]Total RNA, et séquencées après normalisation en utilisant NextSeq[®]500 (Illumina). Des analyses métagénomiques ont été effectuées à l'aide du logiciel MetaMIC[®] pour identifier tous les agents pathogènes éventuellement associés aux HSV. Les ARN de transcriptomique (Tc) et de métatranscriptomique (MTc) ont été analysés pour l'hôte et les HSV, respectivement. Des analyses en composantes principales (PCA) ont été effectuées pour évaluer globalement les profils d'expression différentielle hôte/virus. Les numérations de transcription avec un changement de « *fold change* » > 2 (valeur p <0,05) ont été considérés comme exprimés de manière différentielle.

Résultats, discussion et conclusion :

Les PCA montrent une expression différentielle concernant la réponse de l'hôte (Tc) et des gènes viraux (MTc) entre HSV-1 et HSV-2. Les données de Tc démontrent que les gènes surexprimés expliquent principalement la réponse immunitaire. Aucun impact significatif (échantillonnage de taille réduite) n'a été mis en évidence dans le contexte de co-infections (dysbiose bactérienne et infection par papillomavirus humain [HPV]). L'analyse génomique des séquences des HSV a été possible avec une couverture moyenne de l'ensemble des régions codantes de 92,4% (79,2%-99,7%) pour HSV-1 et 85,5% (77,2% à 96,8%) pour HSV-2.

Nos résultats confirment l'importance de la réponse immunitaire lors d'une infection génitale par HSV et démontrent des différences entre HSV-1 et HSV-2. Il apparaît notamment que la réponse immunitaire lors de l'infection par HSV-2 est globalement plus importante et qu'il existe une dysrégulation de la voie de signalisation interféron plus marquée pour HSV-2.

Mots clés : Herpes simplex virus - Herpes génital - Transcriptomique de l'hôte.

SP18 Génomique et transcriptomique, de nouvelles approches en virologie**SP18-3****Virologie****Analyse métagénomique shotgun de liquides broncho-alvéolaires après transplantation pulmonaire**

Sarah Marchand^{1,2} (sarah.marchand@chu-nantes.fr), Guillaume Gricourt^{3,4}, Louise Castain^{1,2}, Vanessa Demontant^{3,4}, Christophe Rodriguez^{3,4}, Berthe-Marie Imbert-Marcille^{1,2}

¹ Laboratoire de Virologie, CHU Nantes, Nantes, France

² UMR 1064 (CRTI), INSERM Université de Nantes, Nantes, France

³ Plateforme NGS, CHU Henri Mondor, Créteil, France

⁴ Institut Mondor de Recherche Biomédicale, INSERM U955 Université Paris Est Créteil Val de Marne, Créteil, France

Introduction et objectif :

Les complications infectieuses représentent une cause majeure de mortalité après une greffe pulmonaire (1). Les tests microbiologiques conventionnels (culture microbienne et PCR) présentent certaines limites chez ces patients immunodéprimés. De nouvelles approches, basées sur le séquençage nouvelle génération (NGS), sont en développement. Il s'agit notamment de la métagénomique shotgun (SMg) qui permet une recherche exhaustive des microorganismes, sans à priori (2). L'objectif est de comparer les résultats microbiologiques obtenus par la métagénomique shotgun par rapport à ceux obtenus par les techniques conventionnelles.

Matériels et méthodes :

Un total de 24 liquides de lavage broncho-alvéolaires (LBA) ont été recueillis chez 6 patients transplantés pulmonaires, suivis de façon longitudinale au cours de la première année post-greffe. Ils ont été analysés par culture microbienne (agents bactériens et fongiques) et par PCR (virus) et les résultats ont été comparés avec ceux issus de SMg. La procédure de SMg utilisée dans cette étude (MetaMIC) est brevetée (ISO15189) et a été publiée (3). Une étape de pré-extraction combinant une action mécanique, chimique et enzymatique a été réalisée avant l'étape d'extraction utilisant le kit QIA-symphony DSP DNA (Qiagen). Pour la préparation de la banque ADN et ARN, les kits Nextera XT DNA et Truseq Total RNA (Illumina) ont été respectivement utilisés. Pour le séquençage en paired-end réalisé sur le NextSeq 500, le kit NextSeq 500/550 High Output (v2.5) a été utilisé (Illumina). Une analyse bio-informatique a été effectuée par l'algorithme MetaMIC (v2.2.0).

Résultats et conclusion :

Concernant les bactéries, une concordance entre les techniques est retrouvée pour 13 échantillons. Une discordance est apparue pour 8 échantillons avec seulement la culture positive. Pour les agents fongiques, une concordance est observée pour 16 échantillons. Seule la culture a isolé un agent fongique pour les 8 autres échantillons. Concernant les virus, l'ensemble des techniques étaient concordantes pour les virus à ARN (n=4). En revanche, 16% des CMV positifs par PCR (n=6) étaient identifiés en séquençage, et les 6 échantillons PCR EBV+ étaient négatifs en SMg. La SMg, dont l'intérêt principal est une recherche microbienne sans à priori, apparaît dans cette étude préliminaire moins sensible que les techniques conventionnelles.

Mots clés : Transplantation pulmonaire - Métagénomique shotgun - Diagnostic microbiologique.

Références :

1. The international society for heart and lung transplantation. 2019. Adult Lung Transplantation Statistics. ISHLT. Disponible sur: <https://ishltregistries.org/registries/slides.asp?yearToDisplay=2019>
2. Chiu CY, Miller SA. 2019. Clinical metagenomics. *Nat Rev Genet.* 20(6):34155.
3. Rodriguez C, Jary A, Hua C, Woerther P-L, Bosc R, Desroches M, et al. 2020. Pathogen identification by shotgun metagenomics of patients with necrotizing soft-tissue infections. *Br J Dermatol.* 183(1):10513.

SP19-T Bio-contrôles : de la sécurité du consommateur à la santé du patient**SP19-T-O.1****Transplantation de microbiote fécal : où en sommes-nous en clinique en 2021 ?**Victoire De Lastours*Hôpital Beaujon - APHP, Paris, France*

Résumé non parvenu

SP19-T Bio-contrôles : de la sécurité du consommateur à la santé du patient

SP19-T-1

Assembling immunomodulatory strains of *Propionibacterium freudenreichii*, *Lactobacillus delbrueckii* and *Streptococcus thermophilus* to produce an anti-inflammatory Emmental cheese

Gwénaél Jan¹ (gwenael.jan@inrae.fr), Houem Rabah¹, Fillipe Luiz Rosa do Carmo¹, Rodrigo Dias de Oliveira Carvalho², Barbara Fernandes Cordeiro², Sara Heloisa da Silva², Emiliano Rosa Oliveira², Denise Carmona Cara², Ana Maria Caetano Faria², Gilles Garric¹, Marielle Harel-Oger¹, Yves Le Loir¹, Vasco Azevedo², Guillaume Bouguen³, Benoît Foligné⁴

¹ UMR STLO, INRAE, Institut Agro, Agrocampus Ouest, INRAE, Rennes, France

² Departamento de Genética, Ecologia e evolução, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Minas Gerais CP 486, Belo Horizonte, Brazil

³ Institut NUMECAN (Nutrition Metabolism and Cancer), CHU Rennes, Univ Rennes, INSERM, CIC1414, Rennes, France

⁴ U1286-INFINITE-Institute for Translational Research in Inflammation, Institut Pasteur de Lille, CHU Lille, Lille, France

Introduction and aims:

Inflammatory Bowel Diseases (IBD), including Ulcerative Colitis (UC), coincide with alterations in the gut microbiota. Consumption of immunomodulatory strains of probiotic bacteria may induce or prolong remission in UC patients. Fermented foods, including cheeses, constitute major vectors for bacteria consumption. New evidences revealed anti-inflammatory effects of selected strains within the species *P.freudenreichii*, *S.thermophilus* and *L.delbrueckii*. We thus hypothesized that consumption of a functional cheese, fermented by selected strains of these three species, may exert a positive effect on IBD.

Methods:

Strains of each bacterial species were screened based on the ability to induce regulatory IL-10 in human immune PBMC cells, or to downregulate nuclear factor kappa B (NF- κ B) activation in a cultured HT-29 human intestinal epithelial cell line. We then investigated the effect of monostrain experimental cheese. We further investigated the impact two-strains experimental cheese. Finally, we produced in industrial conditions an Emmental cheese using one selected strain of each of the three species, i.e. *P. freudenreichii* CIRM-BIA 129 in combination with *Lactobacillus delbrueckii* CNRZ327 and *Streptococcus thermophilus* LMD-9. Consumption of all cheeses was investigated with respect to prevention of chemically induced colitis in mice.

Results:

Consumption of the experimental cheeses, or of the industrial Emmental, reduced the severity of subsequent chemically induced colitis, weight loss, disease activity index and histological score, in mice. Furthermore, consumption of the Emmental cheese, in a preventive way, reduced small bowel Immunoglobulin A (IgA) secretion, restored occludin gene expression and prevented induction of Tumor Necrosis Factor α (TNF α), Interferon γ (IFN γ) and Interleukin-17 (IL-17).

Conclusion:

Assembling immunomodulatory strains of both lactic acid and propionic acid starter bacteria leads to an anti-inflammatory Emmental cheese, as revealed *in vivo*. This opens new perspectives for the development of functional fermented food products for personalised nutrition in the context of IBD.

Mots clés : Cheese - IBD - Starters - Colitis - Probiotic.

SP19-T Bio-contrôles : de la sécurité du consommateur à la santé du patient

SP19-T-2

Could cereal-based fermented food compete with animal-based foods as a vitamin B12 source?

Henok Ashagrie¹ (henokashagrie@gmail.com), Paulos Getachew², Kaleab Baye², Benjamin Guibert¹, Isabelle Rochette¹, [Christèle Humblot](#)¹

¹ QualiSud, IRD, Montpellier, France

² Center for Food Science and Nutrition, Addis Ababa University, Addis Abeba, Éthiopie

Introduction and objectives:

Plants and animals cannot synthesize vitamin B12 (B12) since this trait is limited to certain members of the archaea and bacteria family. However, animals can acquire B12 through microbial interaction leading to the buildup of B12 in different tissues, making animal-based foods the primary dietary B12 source. The risk of dietary B12 deficiency, therefore, increases with vegetarianism and poor dietary diversification. Fermented cereals are staple foods around the world, with lactic acid bacteria (LAB) as main actors of fermentation. Some LAB can synthesize B12, but little is known about the B12 content of traditional cereal-based fermented foods. The objective of this work was to estimate the B12 content of injera, a fermented Ethiopian staple food prepared mainly from teff and estimate its possible contribution to B12 intakes.

Materials and methods:

AOAC certified microbiological assay method with *Lactobacillus delbrueckii* ATCC 7830 was employed for the quantitative determination of B12 of teff flour, fermented dough, and injera samples, each collected from ten random households in Ethiopia.

The presence of bacteria from the species *Limosilactobacillus reuteri* and *Propionibacterium freudenreichii* known for their B12 producing potential were investigated through real-time PCR.

Results, discussion and conclusion:

The B12 content of the injera samples ranged between 0.1 and 5.7 µg/100 g fresh weight (FW), which is surprisingly high considering the recommended 2.4 µg daily intake. Fermentation of the teff flour led to a 1- to 26-fold increase in B12 content, whereas thermal treatment led to a B12 reduction ranging from 6 to 58%.

Although plants cannot synthesize B12, to our surprise, the teff flour samples had a B12 content ranging between 0.32 and 0.93 µg/100 g FW. The potentially B12 synthesizing bacteria *P. freudenreichii* was present at 105 CFU/g FW in both teff flour and fermented dough samples while *L. reuteri* was below detection limit. The traditional teff threshing approaches can lead to the presence of several soil bacteria in teff flour, which could explain the observed B12 levels. Using B12 producing bacteria for food fermentation could be a way to make fermented cereal foods a sustainable dietary B12 source.

Mots clés : Vitamin B12 - Fermentation - Cereal - Food - Bacteria.

SP19-T Bio-contrôles : de la sécurité du consommateur à la santé du patient

SP19-T-3

Thermophilic strains of *Bacillus* sp. from the Coordinated Collection of Moroccan Microorganisms (CCMM) as new fibre-degrading probiotic candidates

Serigne Inssa Ngom¹ (serigne-inssa.ngom@inrae.fr), Soufiane Maski², Bahia Rached³, Taha Chouati³, Lydie Oliveira Correia⁴, Catherine Juste¹, Elmostapha El Fahime⁵, Mohamed Amar^{2,3}, Christel Béra-Maillet¹

¹ Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Micalis Institute, Jouy-en-Josas, France

² Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, Maroc

³ Collections Coordonnées Marocaines de Microorganismes, Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, Maroc

⁴ Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Micalis Institute, PAPPSO, Jouy-en-Josas, France

⁵ Plateforme de biologie moléculaire et de Génomique Fonctionnelle, Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, Maroc

Introduction:

Trillions of microbes colonize our gastrointestinal tract and maintain a symbiotic relationship with the host, thus influencing fundamental processes essential for health. Intense research has shown that a disturbance in the balance of intestinal microbiota-host interactions play a role in the onset of several metabolic diseases.

The microbiota composition is influenced by the diet. Gut bacteria have a large repertoire of CAZymes capable of breaking down complex dietary carbohydrates and producing short-chain fatty acids (SCFA). Inflammatory bowel disorders are sometimes associated with depletion of fibre-degrading-SCFA-producing bacterial members. Thus, modulation of the gut microbiota through probiotic is a promising approach to restore homeostasis. *Bacillus* strains, known for their ability to synthesize many enzymes of interest, have been used for decades as probiotics.

We reported recently the fibrolytic potential of the species *Bacillus paralicheniformis* (Maski et al., 2021). The main objective of our present work was to assess the fibrolytic activities of different *Bacillus* strains from the CCMM (www.ccmm.ma) towards plant cell wall polysaccharides representatives of the human diet, and, in fine, propose a fibre-degrading probiotic candidate.

Materials and methods:

Functional screening for hemicellulolytic activities was performed using minimal medium supplemented with purified and natural fibres. Genotypic analysis of these strains was conducted using several methodologies such as 16S rDNA gene sequencing, housekeeping gene sequencing and the Multi Locus Sequence Typing (MLST) method. Genomic DNA was sequenced using Illumina HiSeq technology.

Results, discussion and conclusion:

The strains grew well on purified polysaccharides as the sole carbon source, and with dietary fibres from fruits and legumes. Hemicellulolytic activities were quantified in pure cultures with different substrates. The putative genes encoding cellulases and hemicellulases involved in the degradation of fibres were detected in the sequenced strains, and a greater number of GH genes was highlighted in the most active strains, using CAZY database for comparison (www.cazy.org).

To confirm the presence of GH in the secretome, we performed proteomics analyses on the most active strain by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS).

Genomic predictions and proteomics analyses have revealed broad fibrolytic capabilities of the strain. Therefore, we propose a *Bacillus* CCMM strain as a new fibre degrading probiotic candidate.

Mots clés : Bacillus - Thermophilic bacteria - CCMM - Probiotic - Fibres - CAZymes.

Références :

1. Maski, S., Ngom, S. I., Rached, B., Chouati, T., Benabdelkhalek, M., El Fahime, E., Amar, M., & Béra-Maillet, C. (2021). Hemicellulosic biomass conversion by Moroccan hot spring *Bacillus paralicheniformis* CCMM B940 evidenced by glycoside hydrolase activities and whole genome sequencing. *3 Biotech*, 11(8), 379. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02919-0>

SP20 Défenses cellulaires aux infections (en association avec l'ACAI)

SP20-O.1

Virologie

Facteurs de restriction et infections viralesJean-Pierre Vartanian (jean-pierre.vartanian@pasteur.fr)*Unité de Rétrovirologie Moléculaire, Département de Virologie, Institut Pasteur, Paris, France*

Les facteurs de restriction, protéines antivirales sont capables d'inhiber ou de restreindre certaines étapes du cycle viral. Bien que leur expression soit souvent régulée positivement par les interférons, les facteurs de restriction peuvent également être exprimés constitutivement sous certaines conditions physiologiques, permettant ainsi leur action dès les étapes précoces de l'infection. Ces facteurs de restriction constituent la première ligne de défense face aux infections virales à l'échelle cellulaire.

Il existe ainsi parmi les différents facteurs de restriction, des cytidines désaminases appartenant à la famille APOBEC3 (A3). Ces différents membres de la famille A3 sont codés chez l'homme par un groupe de 7 gènes (A3A-C, A3DE, A3F-H). Toutes ces enzymes, catalysent la désamination d'une cytidine en uridine sur l'ADN simple brin, générant des mutations de type C->U/T. Ces enzymes peuvent ainsi inhiber la répliquations des rétrovirus (VIH) et pararétrovirus (VHB)

Récemment un nouveau facteur de restriction, la désoxyribonucléase (DNase I), a été mis en évidence en agissant contre le virus de l'hépatite B (VHB). En effet, dans un environnement hypoxique (pauvre en oxygène), l'expression de la DNase I est augmentée et l'enzyme restreint la répliquation du VHB. La DNase I est encapsidée au sein du VHB et dégrade l'ADN relâché circulaire générant ainsi des particules dépourvues d'ADN viral et contenant la DNase I. De plus, dans le foie, les niveaux d'oxygène varient selon la zone hépatique, montrant ainsi que la plupart des hépatocytes sont naturellement en condition d'hypoxie. La DNase I apparaît comme un nouveau facteur de restriction, dirigée contre le VHB et dont l'expression est augmentée en hypoxie.

Au cours de cet exposé, nous allons nous intéresser aux principaux facteurs de restriction (APOBEC3, désoxyribonucléase) et à leurs impacts sur la répliquation des rétrovirus (VIH) et pararétrovirus comme les hépadnavirus (VHB).

SP20 Défenses cellulaires aux infections (en association avec l'ACAI)

SP20-O.2

Virologie

HUSH, un nouveau protagoniste de la bataille moléculaire entre facteurs de restriction et VIHFlorence Margottin-Goguet (florence.margottin-goguet@inserm.fr)*INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France*

Les virus VIH-1 et VIH-2, responsables du SIDA, sont apparus chez l'homme suite à la transmission de virus primates non humains (virus de l'immunodéficience simienne ou SIV). Les différentes lignées lentivirales partagent une organisation génomique similaire (de type « Gag-Pol-Env ») mais diffèrent par leur équipement en protéines auxiliaires. Les protéines virales auxiliaires favorisent la réplication du virus grâce à leur capacité à inactiver des protéines hôtes antivirales, appelées facteurs de restriction. Dans plusieurs cas, la protéine virale auxiliaire interagit directement avec le facteur de restriction et, dans le même temps, détourne une ubiquitine ligase spécifique afin d'induire son ubiquitination et sa dégradation. Les exemples de ce type de stratégie sont multiples dans le cadre des virus HIV avec par exemple, les protéines virales Vif, Vpu ou Vpx qui induisent la dégradation des facteurs de restriction APOBEC3G, tetherin/BST-2 ou SAMHD1, respectivement. Témoins de la bataille moléculaire entre l'hôte et le virus, les facteurs de restriction présentent souvent des signes de sélection positive qui résultent de la sélection de mutations avantageuses pour l'hôte au cours de l'évolution et sont situés au niveau de la surface d'interaction avec la protéine virale. Le conflit génétique entre hôte et virus se manifeste aussi par une spécificité de reconnaissance du côté du virus et du côté de l'hôte.

Les résultats récents de notre équipe ont mis en lumière les caractéristiques antivirales du complexe HUSH, un complexe impliqué dans la répression épigénétique des gènes et rétro-éléments. Alors que HUSH réprime l'expression des lentivirus VIH et SIV, des protéines virales, telle Vpx de HIV-2, dégradent HUSH, suggérant que HUSH appartient à la famille des facteurs de restriction. Nous détaillerons d'une part le mécanisme d'antagonisme de HUSH par les protéines virales, d'autre part le mécanisme de restriction qui permet à HUSH de réprimer l'expression virale.

Travail soutenu financièrement par ANRS, Sidaction, Fondation pour la recherche médicale

Mots clés : HIV - Facteur de restriction - Latence virale - HUSH - Protéine virale auxiliaire Vox.

Références :

1. HIV-2/SIV viral protein X counteracts HUSH repressor complex. Chougui G, Munir-Matloob S, Matkovic R, Martin MM, Morel M, Lahouassa H, Leduc M, Ramirez BC, Etienne L, Margottin-Goguet F. Nat Microbiol. 2018 Aug;3(8):891-897.

SP20 Défenses cellulaires aux infections (en association avec l'ACAI)

SP20-1

Virologie

A cell-based cccDNA reporter assay combined with functional genomics identifies YBX1 as HBV cccDNA host factor and antiviral target

Gaëtan Ligat¹ (gligat@unistra.fr), Eloi R. Verrier¹, Laura Heydmann¹, Katharina Dörnbrack², Julija Julija Miller², Anne Maglott-Roth³, Frank Jühling¹, Houssein El Saghire¹, Naoto Fujiwara⁴, Sen-Yung Hsieh⁵, Yujin Hoshida⁴, David E. Root⁶, Patrick Pessaux^{1,7}, Atish Mukherji¹, Catherine Schuster¹, Laurent Brino³, Michael Nassal², Thomas F. Baumert^{1,7}

¹ Université de Strasbourg, Inserm, UMRS 1110, Strasbourg, France

² Department of Internal Medicine II/Molecular Biology, University Hospital Freiburg, Freiburg, Germany

³ IGBMC, Plateforme de Criblage Haut-débit, Illkirch, France

⁴ Liver Tumor Translational Research Program, Simmons Comprehensive Cancer Center, Division of Digestive and Liver Diseases, University of Texas Southwestern, Texas, États-Unis

⁵ Department of Gastroenterology and Hepatology, Chang Gung Memorial Hospital, Taipei, Taiwan

⁶ Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology and Harvard, Cambridge, USA

⁷ Institut Hospitalo-Universitaire, Pôle Hépatite-digestif, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France

Background and aims:

Chronic hepatitis B virus (HBV) infection is a leading cause of liver disease and hepatocellular carcinoma (HCC). A key feature of HBV replication is the synthesis of the covalently close circular (ccc)DNA, not targeted by the current treatment and whose elimination would be crucial for viral cure. To date, little is known about cccDNA formation. One major challenge to address this urgent question is the absence of robust model for the study of cccDNA biology.

Method:

We established a cell-based HBV cccDNA reporter assay and performed a loss-of-function screen targeting 239 genes encoding for the human DNA damage response machinery.

Results:

Overcoming the limitations of current models, the reporter assay enables to quantify cccDNA levels using a robust ELISA as a readout. A loss-of-function screen identified 27 candidate cccDNA host factors, including Y box binding protein 1 (YBX1), a DNA binding protein regulating transcription and translation. Validation studies in authentic infection models including primary human hepatocytes revealed a robust decrease in HBV markers and cccDNA levels following silencing or treatment with drugs targeting YBX1, providing proof-of-concept for the targetability of YBX1 for new antiviral therapy. Chromatin immunoprecipitation qPCR assays confirmed that YBX1 was recruited to HBV genome. In patients, YBX1 expression robustly correlates with both HBV load and liver disease progression, confirming its clinical impact for the HBV life cycle.

Conclusion:

Our cell-based reporter assay enables the discovery of HBV cccDNA host factors as antiviral targets. YBX1 is a previously undiscovered HBV host-dependency factor targetable for antiviral therapy not only relevant for the HBV life cycle but also for the pathogenesis of virus-induced liver disease and cancer.

Mots clés : Antiviraux - Découverte de cibles - Hépatite virale - Guérison de l'HBV.

SP20 Défenses cellulaires aux infections (en association avec l'ACAI)

SP20-2

Virologie

Les mécanismes régulant la spécificité d'hôte chez les virophages des virus géantsSaid Mougari^{1,2} (saidmougari@ymail.com), Bernard La Scola¹¹ *Microbes, Evolution, Phylogénie et Infection (MEPHI), IHU Méditerranée Infection, Marseille, France*² *Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), INSERM, Lyon, France*

Les virophages sont des virus satellites-like qui dépendent de la co-infection de leur cellule hôte avec un virus géant pour se répliquer. Ces parasites jouent un rôle potentiel de régulateurs des populations microbiennes dans les écosystèmes [1]. Grâce à des études d'évolution expérimentale, nous avons exploré un paramètre clé durant l'interaction de la tripartite virophage - virus géant - cellules hôte, il s'agit de la spécificité d'hôte d'un virophage vis à vis de son virus géant associé. Nous avons démontré que cette spécificité est régulée par deux mécanismes majeurs. Le premier est lié à l'existence d'un système de défense chez les virus géants, qui leur procure une immunité adaptative contre le virophage envahisseur. La base moléculaire de ce système, appelé MIMIVIRE, repose sur l'intégration de séquences répétées du virophage cible dans un gène appelé R349, localisé dans le génome du virus géant. Deux autres gènes adjacents au R349 et qui codent, respectivement, pour une hélicase et une nucléase permettraient d'entreprendre le mécanisme d'interférence dans un modèle analogue à celui du système CRISPR-Cas des procaryotes. Nous avons développé pour la première fois un protocole de manipulation génétique des virus géants afin d'éliminer le gène R349 et confirmer son rôle critique dans l'immunité médiée par le système MIMIVIRE. De plus, nous avons montré l'importance de l'intégrité structurale de la séquence MIMIVIRE dans la résistance contre les virophages [2,3]. Le deuxième mécanisme régulant la spécificité d'hôte virale chez les virophages, décrit ici, est lié à une capacité de certains virophages à élargir leur spectre d'hôte afin d'infecter de nouveaux virus géants. Nous avons décrit pour la première un tel mécanisme dans des études d'évolution expérimentale. Nous avons aussi identifié la composante génétique dans le virophage (mutation-délétion) impliquée dans ce phénomène. De plus, nous avons démontré pour la première fois un effet hautement délétère d'un virus satellite vis-à-vis de son virus associé, qui s'est traduit par une capacité du virophage adapté à induire l'extinction de son nouveau virus géant hôte. Ce travail de virologie fondamentale propose un nouveau modèle d'interaction de la tripartite virophage - virus géant - cellule hôte dans la nature [4].

Mots clés : Virophages - Virus géants - Virus hôte - MIMIVIRE - Spectre d'hôte.

Références :

1. Mougari S, Sahmi-Bounsiar D, Levasseur A, Colson P, La Scola B. (2019). Virophages of Giant Viruses: An Update at Eleven. *Viruses*. doi.org/10.3390/v11080733
2. Levasseur A, Bekliz M, et al, La Scola B. (2016). MIMIVIRE is a defence system in mimivirus that confers resistance to virophage. *Nature*. doi: 10.1038/nature17146.
3. Mougari S, Abrahao J, Oliveira GP, Bou Khalil JY, La Scola B. (2019). Role of R349 gene and its repeats in the MIMIVIRE defense system. *Frontiers in Microbiology, section Virology*. doi: 10.3389/fmicb.2019.01147.
4. Mougari S, et al, Abrahao J. La Scola B. (2020). A virophage cross-species infection through mutant selection represses giant virus propagation, promoting host cell survival. *Nature Communication Biology*. doi: 10.1038/s42003-020-0970-9.

SP21-T Anciens et nouveaux risques biologiques : où en sommes-nous en 2021 ?**SP21-T-O.1****Prions et risques pour les dispositifs médicaux : bilan et implications potentielles pour la maladie d'Alzheimer et les autres maladies neurodégénératives**Jean-Philippe Deslys*CEA, Fontenay-aux-Roses, France*

Résumé non parvenu

SP21-T Anciens et nouveaux risques biologiques : où en sommes-nous en 2021 ?**SP21-T-O.2****Expériences et enjeux de sécurités et sûretés biologiques à l'international, paradoxe entre besoins et principes de précautions**François-Xavier Babin*Fondation Mérieux, Lyon, France*

Résumé non parvenu

SP21-T Anciens et nouveaux risques biologiques : où en sommes-nous en 2021 ?**SP21-T-1****Apport de la caractérisation des communautés microbiennes dans l'air dans un contexte de polyexposition à la prévention des risques professionnels : exemple des centres de tri de déchets ménagers recyclables**Philippe Duquenne¹ (philippe.duquenne@inrs.fr), Xavier Simon¹, Jodelle Degois²¹ INRS, Vandoeuvre-lès-Nancy, France² IUCPQ – U. Laval, Québec, Canada**Contexte et objectifs :**

Une étude a été menée dans des centres de tri des déchets ménagers recyclables en vue d'étudier les populations microbiennes émises dans l'air par les activités de travail. Il s'agissait notamment d'étudier les concentrations (microorganismes cultivables, endotoxines), la diversité et la distribution granulométrique des microorganismes dans l'air au cours du temps et en fonction des zones de travail. Une campagne de mesure menée sur une année en France a permis de collecter 140 échantillons pour la mesure des microorganismes cultivables dans l'air et 112 autres pour les poussières inhalables. Par ailleurs, 44 mesures ont été effectuées avec l'impacteur en cascade Marple (22 échantillons pour les bactéries et les champignons cultivables et 21 échantillons pour les poussières). De même, un total de 84 échantillons de bioaérosols a été collecté pour l'analyse de la biodiversité.

Résultat et discussion :

Les résultats indiquent que les activités de tri génèrent des concentrations en poussières, en bactéries et moisissures cultivables pouvant atteindre des niveaux élevés (10 mg/m³ ; 1 x 10⁶ UFC/m³ et 5 x 10⁷ UFC/m³, respectivement) et qui évoluent au cours du temps. Les mesures effectuées révèlent que les bioaérosols sont dominés par des particules de tailles supérieures à 10 µm pour les poussières inhalables et les entités bactériennes cultivables. Au contraire, les particules portant des entités fongiques cultivables sont majoritairement de tailles inférieures à 5 µm.

Ces données apportent des informations utiles pour éliminer les particules de l'air contaminé et pour prédire le dépôt des particules dans les voies respiratoires. Les résultats relatifs à la biodiversité révèlent la composition complexe des bioaérosols émis et ce, tout au long de l'année (phyla et genres dominants détaillés lors de la présentation). Une analyse avec un réseau Bayésien indique un effet significatif de la saison sur les aérosols fongiques mais aucun facteur n'a été identifié pour les bactéries.

Conclusion :

Les données collectées apportent des informations nouvelles pour ces activités. Dans ce secteur d'activité, les travailleurs peuvent être exposés à d'autres nuisances, notamment chimiques (COV, etc.) ; l'exposé précise la contribution de données obtenues à la prévention dans ce contexte de polyexposition.

Mots clés : Bioaérosol - Tri des déchets - Communautés microbiennes - Biodiversité - Prévention des risques.

Références :

1. Degois, J., et al., One-year follow-up of microbial diversity in bioaerosols emitted in a waste sorting plant in France. *Waste Management*, 2021. 120: p. 257-268.

SP21-T Anciens et nouveaux risques biologiques : où en sommes-nous en 2021 ?**SP21-T-2****Adaptation d'une structure confinée de niveau 3 pour la manipulation du virus SARS-CoV-2 et retour d'expérience**

Franca Rizzo (franca.rizzo@anses.fr), Elodie Monchatre-Leroy

Laboratoire de la Rage et de la Faune Sauvage de Nancy, ANSES, Malzéville, France

Le Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy est l'un des 9 laboratoires de l'Anses (Agence National de la Sécurité Sanitaire des Aliments, de l'Environnement et du Travail).

De par son expertise en expérimentation animale, sur les coronavirus de la faune sauvage ainsi que sa structure confinée adaptée aux exigences de sécurité biologique, il a été rapidement mis à contribution lors de la pandémie Covid-19 pour l'élaboration et la mise en œuvre de protocoles expérimentaux sur différents modèles animaux et des analyses sérologiques, virologiques et moléculaires associées.

Cette mise à contribution a nécessité une adaptation rapide du fonctionnement de sa structure confinée pour pouvoir manipuler un virus avec encore beaucoup d'inconnues à l'époque, notamment en terme de transmission. Les manipulations du virus SARS-CoV-2 se poursuivent dans le temps avec de nombreux protocoles mis en œuvre dans le cadre de programmes de recherche. En parallèle, une co-activité a dû s'organiser avec la poursuite des missions du laboratoire sur la rage et autres zoonoses de la faune sauvage.

L'exemple pratique du Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy montrera les modalités de mise en place de ces activités et en proposera un retour d'expérience.

Mots clés : Sécurité biologique - Virus SARS-CoV-2 - Retour d'expérience.

SP21-T Anciens et nouveaux risques biologiques : où en sommes-nous en 2021 ?**SP21-T-3****Biorisque au laboratoire : est-ce que la COVID-19 a changé quoi que ce soit ?**Arnaud Orelle^{1,2} (a.orelle@lab-science.eu)¹ *Direction Scientifique, Lab'Science, Nazelles-Négron, France*² *Young Ambassador to France, American Society for Microbiology (ASM), Washington, USA*

Le management du biorisque au laboratoire de biologie médicale ou de recherche ne cesse d'évoluer depuis la découverte des microorganismes pathogènes responsables de maladies infectieuses chez l'Homme et/ou l'animal. En effet, les exemples passés de maladies acquises au laboratoire ou d'accident de laboratoire ont amenés pas à pas à la reconnaissance des microorganismes comme danger biologique pour les personnels amenés à les manipuler ou la contamination de l'environnement.

Les exigences de sécurité et sûreté biologiques ont ainsi évolués au cours du temps en fonction des évènements locaux, nationaux ou internationaux. Les avancées de la recherche en termes de manipulation des génomes pouvant générer des pathogènes modifiés ont aussi conduit au renforcement de l'amélioration du management du biorisque au laboratoire.

L'émergence du SARS-CoV-2 à la fin de l'année 2019 est un exemple d'évènement qui a conduit à la réflexion des laboratoires. Les besoins importants de diagnostic dans ce contexte de pandémie face à l'émergence d'un nouveau virus ont interrogé très rapidement les laboratoires sur les mesures de prévention à mettre en œuvre pour prévenir tout risque de contamination des personnels mais aussi de l'environnement.

Les composantes fondamentales des systèmes de management des laboratoires de biologie ou de recherche ont-elles été bouleversées avec l'arrivée du SARS-CoV-2 ?

Cette présentation fera une synthèse des recommandations qui ont pu être faites depuis le printemps 2020 jusqu'à aujourd'hui, et discutera des apports et des perspectives amenés par la crise sanitaire de la COVID-19 sur le management du biorisque au laboratoire.

Mots clés : Biorisque - Éthique - SARS-CoV-2.

SP22 ARN régulateurs

SP22-O.1

Pathogénie

Diversity of regulatory RNAs in the human pathogen *Clostridioides difficile* and their potential applications

Olga Soutourina (olga.soutourina@universite-paris-saclay.fr)

I2BC, ARNCLO, CNRS Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France

During infection, bacteria reprogram their gene expression in response to environmental constraints. Non-coding RNAs (ncRNAs) play key roles in the regulation of adaptive responses. We are interested in the roles of ncRNAs in the pathophysiology of major human enteropathogen *Clostridioides (Clostridium) difficile*. We have previously identified a great number (>200) and a large diversity of ncRNAs of different classes in *C. difficile* (Soutourina 2013, Soutourina 2017). These ncRNAs should be included into global regulatory circuits controlling gene expression in *C. difficile* and might play important roles in the control of gene expression during the *C. difficile* infection in concert with specific sigma factors and protein regulators (Soutourina 2020).

A part of these RNAs represents potential *trans*-encoded riboregulators that could require the RNA chaperone protein Hfq for their action. We performed RNA immunoprecipitation high-throughput sequencing (RIP-Seq) analysis to identify Hfq-associated RNAs in *C. difficile* (Boudry 2021). Our work revealed a large set of Hfq-interacting ncRNAs and mRNAs, including mRNA leaders and coding regions, known regulatory RNAs and potential new ncRNAs. Among previously identified ncRNAs, in addition to *trans*-encoded RNAs, a number of *cis*-antisense RNAs including antitoxins from all recently identified type I toxin-antitoxin (TA) modules (Maikova 2018, Soutourina 2019, Peltier 2020), numerous riboswitches and CRISPR RNAs from active type I-B CRISPR-Cas system (Boudry 2015, Maikova 2019, Maikova 2021) have been enriched in Hfq-associated samples constituting new categories of Hfq ligands. Possible interactions between the identified partners including ncRNA-mRNA and ncRNA-ncRNA pairing were postulated through computational target predictions.

Altogether, these data provide essential molecular basis for further studies on post-transcriptional regulatory network controlling *C. difficile* pathophysiology that is in many aspects unique. This increasing knowledge has a great potential for future development of new biotechnological tools, as well as antibacterial strategies based on antisense RNA targeting, as well as TA and CRISPR system applications to limit the pathogen development.

Mots clés : Regulatory RNAs - Human enteropathogen - Hfq RNA chaperone protein - Oxin - Antitoxin; *cis*-antisense RNA - CRISPR-Cas.

Références :

1. Soutourina O., Monot, M., Boudry, P., Saujet, L., Pichon, C., Sismeiro, O., Semenova, E., Severinov, K., Le Bouguenec, C., Coppée, J.-Y., Dupuy, B. and Martin-Verstraete, I. Genome-wide identification of regulatory RNAs in the human pathogen *Clostridium difficile*. (2013). PLoS Genetics. 9(5) :e1003493.
2. Maikova A., Boudry P., Shiriaeva A., Vasileva A., Medvedeva S., Boutserin A., Semenova E., Severinov K., Soutourina O.* Protospacer adjacent motif specificity during *Clostridioides difficile* CRISPR-Cas system interference and adaptation. (2021) mBio. 12 (4): e02136-21.
3. Boudry P., Piattelli E., Drouineau E., Peltier J., Boutserin A., Lejars M., Hajnsdorf E., Monot M., Martin-Verstraete I., Dupuy B., Gautheret D., Toffano-Nioche C., Soutourina, O. Identification of RNAs bound by Hfq reveals widespread RNA partners and a sporulation regulator in the human pathogen *Clostridioides difficile*. (2021) RNA Biology, 1-22.
4. Soutourina O. RNA-based control mechanisms of *Clostridium difficile*. (2017). Current Opinion in Microbiology. 36C :62-68.
5. Peltier, J., Hamiot, A., Garneau, J., Boudry, P., Maikova, A., E. Hajnsdorf, Fortier, L.C., Dupuy, B. and Soutourina, O. Type I toxin-antitoxin systems contribute to the maintenance of mobile genetic elements in *Clostridioides difficile* (2020) Communications Biology (Nature group). 3: 718.

SP22 ARN régulateurs

SP22-1

Pathogénie

Implication d'un *cis*-ARN dans la régulation du gène de résistance aux tétracyclines *tet*(M)

Killian Le Neindre^{1,2} (killian.le-neindre@parisdescartes.fr), Loren Dejoies^{1,2}, Sophie Reissier², François Guerin¹, Brice Felden², Vincent Cattoir^{1,2,3}

¹ Service de bactériologie-hygiène hospitalière, CHU de Rennes, Rennes, France

² Inserm U1230, ARN régulateurs bactériens et médecine, Université de Rennes 1, Rennes, France

³ Laboratoire associé «entérocoques», Centre National de Référence «Résistance aux antibiotiques», Rennes, France

Introduction :

Un panel d'ARN régulateurs putatifs a été récemment mis en évidence chez *Enterococcus faecium*, espèce bactérienne particulièrement résistante et responsable d'infections nosocomiales. Les premiers travaux de caractérisation de ces ARNs a permis la mise en évidence de *srn0030* dans la régulation en 5'UTR (région non traduite) du gène de résistance aux tétracyclines, *tet*(M). Le mécanisme de régulation décrit actuellement est un mécanisme d'atténuation transcriptionnelle mais qui reste hypothétique et nécessite donc plus d'investigations.

Méthodes :

La caractérisation génétique de *srn0030* a été effectuée par 5'3'RACE mapping, Northern blot et des essais de demi-vie. Une souche exprimant la protéine Tet(M) a été produite, Aus0004^{TR}, puis une autre dérivée avec une délétion totale de *srn0030* par double recombinaison, *Dsrn0030*-Aus0004^{TR}. L'impact de *srn0030* sur *tet*(M) a été évaluée par une approche transcriptomique (RT-qPCR, Northern Blot) et phénotypique (CMI des tétracyclines). L'exploration mécanistique a été effectuée en utilisant un panel de plasmides pour tester les zones de *srn0030* impliquées dans la régulation. Pour compléter cette exploration, la capacité de fixation du ribosome du peptide leader, élément clé de la régulation par atténuation transcriptionnelle, a été évaluée par expériences de TOE-print.

Résultats et discussion :

Trois transcrits de tailles distinctes ont été retrouvés sur la séquence de *srn0030*, avec une augmentation de l'expression du transcrit de 100 nt en fin de croissance bactérienne, au détriment des deux autres transcrits (150 et 230 nt). Contrairement à ce qui pouvait être attendu, la délétion totale de *srn0030* conférait une augmentation de la sensibilité d'*E. faecium* à la tétracycline (CMI passant de 32 à 8 mg/L). Cette observation phénotypique est cohérente avec la différence d'expression de *tet*(M) entre les deux souches avec une diminution d'un facteur 10 en présence de tétracycline. L'absence d'implication du peptide leader précédemment décrit a pu être démontrée expérimentalement. En effet, une mutation ciblée du codon d'initiation de ce peptide leader n'a eu aucun impact sur la sensibilité aux tétracyclines. De plus, la fixation du ribosome au niveau de ce peptide leader n'a pas été mise en évidence. Un mécanisme de régulation alternatif impliquant un *cis*-ARN est impliqué dans la régulation de *tet*(M).

Mots clés : *Enterococcus faecium* - ARN régulateur - Antibiorésistance - Tétracyclines.

SP22 ARN régulateurs

SP22-2

Pathogénie

Srn024, un petit ARN impliqué dans l'adaptation du pathogène *Streptococcus agalactiae* à son environnement

Nancy Jabbour^{1,2} (nancy.jabbour@etu.univ-tours.fr), Eric Morello^{1,2}, Lucie Noël^{1,2,3}, Emilie Camiade^{1,2}, Marie-Frédérique Lartigue^{1,2,3}

¹ Université de Tours, Tours, France

² Unité ISP, INRAe, Nouzilly, France

³ Service de Bactériologie, Virologie, et Hygiène Hospitalière, Centre Hospitalier Universitaire de Tours, Tours, France

Introduction et objectifs :

Streptococcus agalactiae est la première cause d'infections néonatales humaines et un pathogène opportuniste pour plusieurs hôtes. Afin de survivre et coloniser l'hôte, la bactérie s'adapte à son environnement en modulant l'expression de ses gènes. Les petits ARN (sRNA), impliqués dans cette régulation, peuvent eux-mêmes être régulés par les systèmes à deux composants (TCS). Chez *S. agalactiae*, quatre sRNA ont été identifiés par RNAseq : Srn015, Srn024, Srn070 et Srn085 [1]. Des prédictions bio-informatiques indiquent que ces sRNA, nommés csRNA, seraient régulés par le TCS CiaRH [2]. Les objectifs de ce travail sont de prouver le rôle de CiaRH dans l'expression de ces sRNA et d'identifier une cible de Srn024, afin de mieux comprendre les réseaux de régulation bactériens.

Matériels et méthodes :

Pour prouver l'appartenance de ces sRNA au régulon CiaR, leur expression a d'abord été quantifiée par fusions transcriptionnelles dans les souches NEM316WT, NEM316ΔciaRH et NEM316ΔciaRH::ciaRH *in situ*. La séquence promotrice TTTAAG-5N-TTTAAG de Srn024, qui semble indispensable à la régulation des sRNA par la protéine CiaR, a été mutée afin d'évaluer par fusion transcriptionnelle l'impact de ces mutations sur l'expression de Srn024.

Des prédictions bio-informatiques ont été réalisées pour identifier les cibles potentielles de Srn024. La régulation traductionnelle des gènes cibles par Srn024 a été évaluée dans NEM316WT, NEM316Δsrn024 et NEM316Δsrn024::srn024 *in situ* à l'aide d'un plasmide de fusion traductionnelle construit au laboratoire.

Résultats, discussion et conclusion :

Les fusions transcriptionnelles ont permis de mettre en évidence une régulation positive des quatre sRNA par le TCS CiaRH. De plus, les mutations réalisées dans la séquence promotrice TTTAAG-5N-TTTAAG montrent que cette séquence est indispensable pour la régulation de Srn024 par CiaR. Les analyses bio-informatiques ont permis d'identifier l'ARNm Gbs1288 comme cible potentielle de Srn024 (-17,17 Δg). La fusion traductionnelle a montré une régulation négative de cette cible par Srn024. Gbs1288 est une pullulanase produite en présence de pullulane et de glycogène dans la souche COH1. Cependant, cette protéine n'est pas exprimée en présence de glucose [3]. Ces résultats semblent indiquer que *S. agalactiae* s'adapte aux sources nutritives disponibles dans son environnement par le biais de Srn024.

Mots clés : Streptococcus agalactiae - CiaRH - ARN régulateurs - CsRNA.

Références :

1. Rosinski-Chupin I, Sauvage E, Sismeiro O, Villain A, Da Cunha V, Caliot ME, et al. 2015. Single nucleotide resolution RNA-seq uncovers new regulatory mechanisms in the opportunistic pathogen *Streptococcus agalactiae*. BMC Genomics 16:419.
2. Marx P, Nuhn M, Kovács M, Hakenbeck R, Brückner R. 2010. Identification of genes for small non-coding RNAs that belong to the regulon of the two-component regulatory system CiaRH in *Streptococcus*. BMC Genomics 11:661.
3. Santi I, Pezzicoli A, Bosello M, Berti F, Mariani M, Telford J. L. et al. 2008. Functional Characterization of a Newly Identified Group B *Streptococcus* Pullulanase Eliciting Antibodies Able to Prevent Alpha-Glucans Degradation. PLoS ONE 3(11): e3787.

SP22 ARN régulateurs

SP22-3

Pathogénie

Uncovering RNA-based regulations in *Clostridioides difficile*

Emma Piattelli (emma.piattelli@i2bc.paris-saclay.fr), Johann Peltier, Olga Soutourina

ARNCLO, Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, I2BC, Gif-sur-Yvette, France

Clostridioides difficile is a Gram-positive, anaerobic, spore-forming bacterium. This human pathogen is the major cause of nosocomial infections associated with antibiotic therapy. Transmission of *C. difficile* is mediated by the contamination of the gut by spores. The disruption of the colonic microflora by antimicrobial therapy precipitates colonization of the intestinal tract by *C. difficile* leading to infection. Over the last decade, the severity of *C. difficile* infections increased due to the emergence of epidemic and hypervirulent strains. Despite its morbidity, many aspects of *C. difficile* pathogenesis remain poorly understood. We hypothesize that regulatory RNA could contribute to the *C. difficile* pathophysiology.

This project is built upon our recent genome-wide identification of a great number and a large diversity of potential regulatory RNAs in *C. difficile* including CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) RNAs for defense against phage infections, *cis*-antisense RNAs, riboswitches as *cis*-acting regulatory elements and *trans* encoded RNA requiring the RNA chaperone protein Hfq (1, 2).

These regulatory RNAs might play important roles in the control of gene expression during the *C. difficile* infection cycle including metabolic adaptations, biofilm formation, stress responses, defense mechanisms and sporulation. Several ncRNAs have been selected for further detailed analysis. In particular, we are now revealing the molecular mechanisms of action of an interesting ncRNA acting both in *cis* and in *trans* to control its targets. Our goal is to determine the biological roles of selected ncRNAs and to uncover the molecular mechanisms of RNA-based regulations employed by *C. difficile* outside and inside the host.

Mots clés : Clostridioides difficile - ncRNAs - RNA based regulations.

Références :

1. Soutourina OA, Monot M, Boudry P, Saujet L, Pichon C, Sismeiro O, Semenova E, Severinov K, Le Bouguenec C, Coppée J-Y, Dupuy B, Martin-Verstraete I. 2013. Genome-wide identification of regulatory RNAs in the human pathogen *Clostridium difficile*. PLoS Genet 9:e1003493.
2. Boudry P, Piattelli E, Drouineau E, Peltier J, Boutserin A, Lejars M, Hajnsdorf E, Monot M, Dupuy B, Martin-Verstraete I, Gautheret D, Toffano-Nioche C, Soutourina O. 2021. Identification of RNAs bound by Hfq reveals widespread RNA partners and a sporulation regulator in the human pathogen *Clostridioides difficile*. RNA Biol 1–22.

SP22 ARN régulateurs

SP22-4

Pathogénie

A 3'UTR-derived sRNA produced into two forms that interacts with different RNA partners in the human pathogen *Staphylococcus aureus*Julie Bronsard (julie.bronsard@univ-rennes1.fr), Chloé Silard, Marc Hallier, Julie Legros, Yoann Augagneur

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

Introduction and objectives:

Small regulatory RNAs (sRNAs) are major players in gene regulatory networks, allowing fast environmental adaptation and fitness. In the human pathogen *Staphylococcus aureus*, they are involved in a wide range of biological processes, from central metabolism to virulence and antibiotic resistance. While sRNAs were initially considered as expressed as antisense to their target or being transcribed from intergenic regions, the use of next-generation-sequencing strategies identified a plethora of 5' and 3' derived sRNAs. In this study, we decipher the expression of Srn_9342 (1), a 3'UTR-derived sRNA produced into two isoforms, and their molecular RNA partners which could illustrate a wide diversity of functions.

Materials and methods:

The expression of Srn_9342 was assessed during bacterial growth by Northern blot using a probe that target both Srn_9342 isoforms (Srn_9342S and Srn_9342L). The role of Sigma factor σ^B , some transcription factors of the Sar family, and environmental cues was additionally determined, while the activity of the promoter region of *srn_9342* monitored using *blaZ* (encoding β -lactamase) transcriptional fusions. The molecular RNA partners of Srn_9342S and Srn_9342L was determined by MAPS (2) at a checkpoint where the two forms are present in equal amount. The interaction with the master riboregulatory of virulence RNAIII was then studied by electrophoretic mobility shift assays.

Results, discussion and conclusion:

In this study, we show that Srn_9342 is expressed under two forms: Srn_9342S (~150 nt) and Srn_9342L (~250 nt). Srn_9342S transcript level is abundant at the beginning of growth phase and progressively decreases, allowing the apparition of Srn_9342L, which is maximal during post-exponential phase. Using a σ^B deficient strain, we show that the expression of Srn_9342L, but not Srn_9342S, is σ^B -dependent with a complete loss of Srn_9342L. Finally, a search for RNA partners using MAPS revealed a subset of sRNAs bound to Srn_9342S while Srn_9342L mostly interact with mRNAs. We show that the 5' end of Srn_9342 interact with the 3' end of RNAIII, the master riboregulator of virulence in *S. aureus*. While the function of Srn_9342 remains to be deciphered, a multifaceted role is anticipated, based on the diversity of the RNAs identified as molecular partners.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* - sRNA - 3'UTR-derived sRNA - Gene expression - RNAIII.

Références :

1. Bronsard J, Pascreau G, Sassi M, Mauro T, Augagneur Y, Felden B. sRNA and cis-antisense sRNA identification in *Staphylococcus aureus* highlights an unusual sRNA gene cluster with one encoding a secreted peptide. *Sci Rep.* juill 2017;7(1):4565.
2. Lalaouna D, Prevost K, Eyraud A, Masse E. Identification of unknown RNA partners using MAPS. *Methods.* 15 mars 2017;117:2834.

SP23 Résistome et WGS : de la souche au prélèvement clinique**SP23-O.1****Séquençage et résistome de *Staphylococcus aureus***Anne Jamet (anne.jamet@inserm.fr)*Pathogénies des infections systémiques/Microbiologie, Institut Necker Enfants Malades/AP-HP Necker, Paris, France*

Le séquençage des génomes bactériens est devenu la technique de référence pour la comparaison de souches. A partir de la séquence génomique d'un isolat clinique, il est aussi possible de déterminer la liste des gènes de virulence (virulome) et de résistance (résistome).

L'espèce *Staphylococcus aureus* fait partie des espèces ayant le plus de génomes séquencés déposés dans les bases de données. A partir de cette quantité massive de données, des corrélations robustes entre la présence de gènes de résistance ou la présence de mutations et la sensibilité déterminée par des tests phénotypiques ont pu être établies.

A l'hôpital Necker Enfants Malades, nous séquençons des génomes d'isolats cliniques de *S. aureus* dans deux situations : la recherche de facteurs de virulence lors d'infections sévères et l'étude de l'adaptation bactérienne lors d'infections chroniques (telle la mucoviscidose).

L'objectif de cette présentation est de montrer qu'il est possible d'inférer le profil de résistance d'un isolat de *S. aureus* à partir de son génome et comment y parvenir. En effet, ceci peut se faire par plusieurs méthodes (avec ou sans assemblage préalable du génome) et peut être réalisé soit en ligne grâce à des sites internet gratuits ne nécessitant pas de connaissances en bioinformatique, soit avec des outils en ligne de commande.

Mots clés : Staphylococcus aureus - NGS - WGS - Résistome.

SP23 Résistome et WGS : de la souche au prélèvement clinique**SP23-1****Emergence de différentes populations de *Shigella sonnei* hautement résistantes aux antibiotiques**

Sophie Lefèvre (sophie.lefevre@pasteur.fr), Elisabeth Njamkepo, François-Xavier Weill

Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Institut Pasteur, Paris, France

Introduction :

Shigella est responsable d'infections intestinales invasives chez l'homme pouvant aller d'une simple diarrhée aqueuse aigüe à un syndrome dysentérique. Les recommandations actuelles de traitement reposent sur l'administration de ciprofloxacine (CIP), d'azithromycine (AZM) ou d'une céphalosporine de 3^{ème} génération (C3G). L'objectif de cette étude était de décrire l'évolution de la résistance à ces antibiotiques parmi les souches de l'espèce prédominante, *Shigella sonnei*.

Matériel et méthode :

Un antibiogramme par diffusion en milieu gélosé a été effectué sur toutes les souches de *Shigella sonnei* réceptionnées au Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* entre 2005 et 2020 (n=6260). La résistance à CIP, AZM et C3G a été confirmée par E-test. Un séquençage du génome complet (Illumina, NextSeq500) a également été effectué (n=2743) pour étudier les résistomes et les différents génotypes de *S. sonnei*. La caractérisation des plasmides porteurs des gènes de résistance a été réalisée par séquençage long-read (MinION).

Résultats, discussion et Conclusion :

Nous avons observé une augmentation importante de la résistance à ces trois antibiotiques en France métropolitaine (respectivement 50%, 56% et 10% des souches étaient résistantes à CIP, AZM ou C3G en 2020). Soixante-quatre souches, détectées à partir de 2015, présentaient une résistance simultanée à ces trois antibiotiques. Ces souches possédaient une triple mutation dans les gènes *gyrA* et *parC* et appartenaient à différents sous-groupes du génotype 3.6.1.1. Plusieurs plasmides portant les gènes de bêta-lactamase à spectre étendu, *bla*CTX-M-3, *bla*CTX-M-15, *bla*CTX-M-55, *bla*CTX-M-27 ou *bla*CTX-M-134 étaient responsables de la résistance aux C3G. La résistance à l'AZM était due aux gènes plasmidiques *mph(A)* +/- *ermB*. Ces souches provenaient de voyageurs ayant séjourné en Asie du Sud et du Sud-Est, d'enfants contaminés lors d'une épidémie scolaire en Gironde (le cas princeps ayant voyagé en Asie) ou d'adultes de sexe masculin, vraisemblablement homosexuels, contaminés en France ou en Europe.

La prise en charge thérapeutique de ces souches de *S. sonnei* résistantes à tous les antibiotiques de première intention est un sujet d'inquiétude et une campagne d'information et de prévention, en particulier au sein de la communauté homosexuelle masculine, est nécessaire.

Mots clés : Shigella - Multi-résistance - Communauté homosexuelle masculine.

SP23 Résistome et WGS : de la souche au prélèvement clinique**SP23-2****Caractérisation par NGS de la diversification intra- et inter-hôte de *Helicobacter pylori***Laura Chaufour^{1,2} (laura.chaufour@chu-poitiers.fr), Julie Cremliner^{1,2}, Christophe Burucoa^{1,2}, Maxime Pichon^{1,2}¹ Laboratoire de Bactériologie - Département des Agents Infectieux, CHU de Poitiers, Poitiers, France² INSERM U1070 Pharmacologie des Agents Anti-Infectieux, Université de Poitiers - INSERM, Poitiers, France**Introduction :**

Helicobacter pylori (Hp) est une bactérie gram négative, spiralée, de croissance lente. Strictement pathogène, elle colonise l'estomac de la moitié des êtres humains (malgré une grande hétérogénéité géographique), causant une gastrite (+/-asymptomatique), un ulcère gastroduodéal (5–10% des patients) évoluant vers le cancer gastrique (1–3%). Le traitement d'éradication fait appel aux associations inhibiteurs de pompe à protons et double-triple antibiothérapie, dont l'échec est lié à l'acquisition de résistances, dont la prévalence augmente (en lien à des mutations dans les gènes cibles des antibiotiques, *i.e.* ADNr16s, ADNr23s, *rpoB*, *gyrA*, *pbp1*, *frxA/rdxA*).

Objectif :

Caractériser par NGS la distribution intra-/inter-hôtes des mutations associées à l'antibiorésistance chez les patients hospitalisés/consultants pour prise en charge des infections à Hp.

Matériels et méthodes :

L'ensemble des biopsies Hp-positives conservées au CHU de Poitiers, entre 1998 et 2021, a été exploré afin de sélectionner les patients prélevés à au moins deux reprises (pré-/post-traitement, n=25) ou sur au moins deux localisations anatomiques différentes (Antre/*fundus*, n=17). Après extraction automatisée des acides nucléiques, les bibliothèques ont été préparées par amplification ciblée multiplexées avant séquençage (Illumina, 150*2, iSeq100).

Résultats :

L'analyse des séquences produites de 94 échantillons cliniques a permis de mettre en évidence l'impact longitudinal des antibiotiques ainsi que l'hétérogénéité initiale de la population de Hp intra-hôte sur une cohorte clinique de patients en cours/ en échec de prise en charge par antibiothérapie.

Discussion et conclusion :

Cette étude, la première portant sur échantillons cliniques (et non sur souche cultivée) sera approfondie par un multiplexage résistome/virulome, afin de déterminer en un temps les patients porteurs de souches plus virulentes et résistantes.

Mots clés : *Helicobacter pylori* - Antibiorésistance - Diversification génomique - Séquençage haut débit (NGS) - Antibiothérapie.

SP23 Résistome et WGS : de la souche au prélèvement clinique

SP23-3

Genomic evolution of the globally disseminated multidrug-resistant *K. pneumoniae* clonal group 147Carla Rodrigues¹ (carla.parada-rodrigues@pasteur.fr), Siddhi Desai², Devarshi Gajjar², Sylvain Brisse¹¹ BEBP, Institut Pasteur, Paris, France² Department of Microbiology and Biotechnology Centre, Faculty of Science, The Maharaja Sayajirao University of Baroda, Vadodara, Gujarat, India**Background:**

MDR *Klebsiella pneumoniae* (Kp) have rapidly spread worldwide, mainly driven by the successful dissemination of particular sublineages associated with MDR plasmids. Here, we report a pandrug resistant (PDR) Kp clinical isolate from India (strain DJ, 2016) classified as sequence type (ST) 147, and investigate the genetic evolution of pandrug resistance in the context of the global emergence of CG147.

Methods:

Antimicrobial susceptibility testing (AST) was performed following EUCAST, and genome sequencing using Illumina/Oxford Nanopore technologies and Unicycler assembly. Additionally, we collated 217 publicly available CG147 genomes (May 2019). CG147 evolution was inferred using a temporal phylogenomic analysis (BEAST) based on a final recombination-free alignment (Roary/Gubbins) and a comparative genomic analysis focusing on AMR and virulence genes, CRISPR and mobile genetic elements (BIGSdb/Kleborate/PlasmidFinder/PHASTER/ICEFinder/CRISPRCasFinder).

Results:

AST demonstrated the PDR phenotype of strain DJ, and hybrid assembly resulted in 9 contigs, 7 of which circularized. Carbapenemase genes were detected, with 1 copy of *bla*_{NDM-5} and 2 copies of *bla*_{OXA-181} in the chromosome, and a second copy of *bla*_{NDM-5} in a non-circularized 84kb-*IncFII* contig. CG147 genomes carried a high number of acquired AMR genes (mean:13); 83% harbored *bla*_{CTX-M} and 63% carried a carbapenemase. Besides, all CG147 genomes presented GyrA/ParC mutations and a common CRISPR-Cas system. Time-scaled phylogeny revealed the existence of three main clades, corresponding to ST147 (79%), ST392 (16%) and ST273 (6%). Within ST147, two main branches harbored distinct capsular loci: KL64 (74%, DJ included) emerged in 1994 and KL10 (20%) in 2002. The more divergent branches, ST392-KL27 and ST273-KL74, emerged in 2005 and 1995, respectively. Within ST147-KL64, two recently subclades circulating mostly in Europe and Asia, and showing distinct yersiniabactin locus, OmpK35/K36 mutations, plasmid replicon and prophages content, were depicted.

Conclusions:

The widespread and genetic plasticity shown by CG147 represents a concerning step towards pandrug resistance in Kp and a major threat to Public Health, highlighting the need for directed surveillance strategies. Its main subgroup, ST147-KL64 emerged at times similar as carbapenemase-producing international lineages ST307 and ST258, and the conserved presence of GyrA/ParC mutations among these high-risk lineages seems to reflect the selective pressure of fluoroquinolones in its wide dissemination.

Mots clés : *Klebsiella pneumoniae* - Pandrug resistance - Genomics - Integrated surveillance - High-risk lineages.

SP24 New energy-based modelling approaches for engineering microbiomes (in association with FFBiotech)

With the support of ANR 16-CE04-0003 Thermomic

SP24-O.1**Understanding microbial interactions and their driving forces**

Hadrien Delattre

University of warwick, Coventry, United Kingdom

Résumé non parvenu

SP24 New energy-based modelling approaches for engineering microbiomes (in association with FFBiotech)

With the support of ANR 16-CE04-0003 Thermomic

SP24-1

Non-equilibrium physical principles explain the temperature dependency of microbial growth: theory and experiments

Subrata Dev¹ (subrata.dev@inrae.fr), Tuğçe Katipoglu-Yazan¹, Elie Le Quéméner², Théodore Bouchez¹

¹ Université Paris-Saclay, INRAE, UR Prose, Antony, France

² INRAE, Univ Montpellier, LBE, Narbonne, France

Introduction:

Better understanding the effect of temperature is key in the framework of the current global warming of earth. Temperature has indeed a strong influence on growth rate, which exhibits a non-monotonic behaviour with a temperature at which the growth rate is maximum. Even if the optimal growth temperature varies between microbial types (psychrophiles, mesophiles, thermophiles) this non-monotonic behaviour holds true for virtually any microbial culture known to date. In this contribution, we question if such a generic property could be sustained by a fundamental physical principle, namely the non-equilibrium fluctuation relations.

Methods:

To challenge theory development, we grew *Escherichia coli* K12 NCM3722 strain (Δ motA), in minimal medium (Modified MOPS culture with 6 amino acids) containing 500 mg/L of glucose as the sole energy source in 48-wells microplate with experiments with continuous optical density measurements performed at increasing temperature from 28 to 44 °C with 1°C steps. Growth rates were computed from at least 25 replicated cultures at each temperature. Correlation between optical density measurements, dry mass and microbial concentrations (measured by flow cytometry) were carefully determined in parallel Erlenmeyer experiments to allow the derivation of microbial yields and associated thermodynamic balances.

Results and discussion:

Building on a previous contribution [1], we have extended the Microbial Transition State (MTS) [2]; to include temperature dependency based on an explicit theoretical ground. Then, we questioned the predictions of the model using our experimental measurements and associated thermodynamic computations.

According to the extended MTS theory (eMTS) proposed in this contribution, the non-monotonic behaviour of growth rate according to temperature is explained by the trade-off between two types of antagonistic effects: the dissipation of free energy, acting as a driving force, and the thermal stability of microbial structures. Importantly, the model correctly represents experimental growth data at each temperature not only for the exponential growth phase but also of the decay phases, which constitutes a unique feature to our knowledge. Dissipation and activation energies associated to the growth of *E.coli* culture are determined and discussed. This contribution therefore supports and shows how the non-equilibrium fluctuation relation governs the temperature behaviour of microbial cultures.

Mots clés : Microbial growth - Non-equilibrium system - Fluctuation theory - Temperature dependency - Micro-plate experiment.

Références :

1. England, J.L., Statistical physics of self-replication. *Journal of Chemical Physics*, 2013. 139(12): p. 8.
2. Desmond-Le Quéméner, E. and T. Bouchez, A thermodynamic theory of microbial growth. *The ISME journal*, 2014. 8(8): p. 1747-1751.

SP24 New energy-based modelling approaches for engineering microbiomes (in association with FFBiotech)

With the support of ANR 16-CE04-0003 Thermomic

SP24-2

An approach towards the model construction of the microbial community dynamics in reactorsPablo Ugalde (pablo.ugalde.s@gmail.com), Jerome Harmand, Elie Desmond-Le Quémener¹ LBE, INRAe, Narbonne, France

In the context of continuously stirred reactors we explored the question of a mathematical model that could represent at the same time the microbial community and the substrates dynamics in which a number of parameters are obtained through the application of first principles from physics. In this line of thought each microbial species concentration represents a state variable of a dynamical system describing a chemostat.

The first parameters to identify are the microbial yields, which are obtained using reaction invariants and asymptotic observes coupled with first estimates based on thermodynamic modelling of microbial metabolism. Such an approach allows us to minimize the a priori knowledge usually necessary to compute such parameters. The second problem that arises is classifying the species in a functional group, that is assigning them one of the metabolisms that we presupposed are driving the process.

The third, and most challenging problem, is to find the growth function for each of the species depending on the state variables. It is well-documented that a single species on a substrate limited medium can be properly modelled by a Monod growth function or other substrate dependent expression such as the microbial transition state model derived from statistical physics and thermodynamics. However, when more species are added, microbial interactions matter and more complex growth expressions are needed to model the observed dynamics: this lies precisely beyond the actual state of a thermodynamic theory of growth of a microbial community.

In our approach to tackle this problem, we took a step back and studied the shape of such a growth function without assuming an explicit mathematical expression; we used optimal tracking on experimental data in a chemostat setting where a nitrification process was operated for over 500 days. Results indicate that species growth rates consisting of pulses and subsequent falls explain better the data than stable growth rates. This new approach provides a measure of how much one needs to deviate from a standard model to explain data and account for hidden parameters influencing growth such as microbial interactions.

Mots clés : Microbial community dynamics - Chemostat theory - Microbial classification - Yield estimation - Microbial interactions.

SP24 New energy-based modelling approaches for engineering microbiomes (in association with FFBiotech)

With the support of ANR 16-CE04-0003 Thermomic

SP24-3**Analyse thermodynamique et cinétique des processus microbiens de la digestion acidogène**

Etienne Paul (paul@insa-toulouse.fr), Beatriz Gonzalez Vasquez, Matthieu Peyre Lavigne, Yolaine Bessière, Claire Dumas

Toulouse Biotechnology Institute (TBI), INSA Toulouse, Toulouse, France

Introduction et objectifs :

La fermentation de résidus organiques par cultures microbiennes mixtes pour la production d'acides gras volatiles (AGV) présente un fort potentiel industriel du fait des produits de haute valeur ajoutée qui en sont issus (bioplastiques...). Cependant, le contrôle des processus microbiens pose encore d'importants défis pour cette mise en œuvre industrielle. Le principal enjeu est de proposer une stratégie de régulation des communautés microbiennes qui vont définir les performances de production et la composition du spectre d'AGV. Quelles sont les stratégies microbiennes les plus efficaces qui permettent à certaines populations de prédominer ?

Pour comprendre ces processus, le développement de modèles appropriés s'impose, comme ceux basés sur des considérations bioénergétiques et qui décrivent les processus de transport et de conversion des substrats en AGV à l'échelle cellulaire. Néanmoins, pour l'instant, dans ces modèles, le rôle des transporteurs d'électrons, l'utilisation des réseaux métaboliques et les processus de transfert à travers la membrane cellulaire sont définis de manière incomplète.

Dans notre étude, nous cherchons à décrire les processus bioénergétiques lors de la dégradation d'un substrat simple, le glucose. Le but est de comprendre les facteurs gouvernant la production de tels ou tels AGV.

Matériels et méthodes :

Le modèle décrit les processus de transport de substrat à l'intérieur de la cellule, les processus de récupération d'énergie ainsi que la croissance. Le rendement de croissance cellulaire est directement lié à la thermodynamique et la cinétique est basée sur le transfert d'électrons lors du catabolisme. Les productions d'AGV sont simulées dans un réacteur batch qui est décrit avec 3 compartiments comprenant des échanges de matière (échanges cellule- milieu extracellulaire, échanges gaz-liquide).

Résultats, discussion et conclusion :

Un modèle dans lequel la prise en compte simultanée de la thermodynamique et de la cinétique a été sélectionné pour décrire la fermentation acidogène du glucose. Nous montrons que le facteur de potentiel thermodynamique doit être pris en compte pour prédire les taux de réactions. La vitesse de fermentation nette peut être exprimé à partir du potentiel thermodynamique. Ces résultats ouvrent des perspectives pour la prédiction de la nature des AGV produits selon les conditions d'environnements instaurées.

Mots clés : Fermentation acidogène - Culture microbiennemixte - Bioénergétique - Spectre AGV - Modèle.

SP24 New energy-based modelling approaches for engineering microbiomes (in association with FFBiotech)

With the support of ANR 16-CE04-0003 Thermomic

SP24-4

Comparison of traditional and new energy-based models for modeling activated sludge dynamics

Tugce Katipoglu-Yazan (tugce.katipoglu@inrae.fr), Hadrien Delattre, Théodore Bouchez, Ahlem Filali

PROSE, Université Paris-Saclay, INRAE, Antony, France

Introduction and objectives:

Engineering models known as Activated Sludge Model(ASM) are commonly used for operation, design, and optimization of wastewater treatment plants(WWTP). ASM predicts microbial growth with simulation and calibration of model parameters which are bound to a range of experimental conditions. Recently, Microbial Transition State(MTS) theory of microbial growth was introduced grounding from statistical physics principles. This theory allows predicting dynamics of functional microbial populations relying on energy balances in microbial growth rather than calibrating empirical model parameters. In this study, traditional and new energy-based models were used to analyze dynamics of microbial populations involved in a simplified activated sludge inoculum. For that, MTS was implemented in a user-friendly engineering platform called WEST, commonly used to model WWTPs. The consistency of the population and community dynamics from MTS was also questioned in different simulation platforms.

Materials and methods:

An aerated batch reactor sustaining a simplified activated sludge inoculum with wastewater feed was simulated using the MTS and ASM models. The microbial community was supposed to have three functional guilds: heterotrophs, ammonia, and nitrite oxidizing bacteria. A modified ASM1(ASMN) was used with nitrification split between two guilds. Default values were used for ASMN simulations which rely on calibrations on experimental data. On the contrary, kinetics and yields from fundamental generic assumptions, mass, and energy balance calculations were considered for MTS simulations. WEST and MATLAB were used to compare predictions of ASM and MTS.

Results, discussion and conclusions:

Simulations of batch system with energy-based MTS model yield in qualitatively similar results compared to traditional ASM. Lower heterotrophic biomass yield was predicted with MTS while biomass yield of nitrifiers were close to those predicted by ASM. Predictions of substrate utilization was similar for heterotrophs and ammonia oxidizers. However, nitrite accumulation was simulated by MTS model due to slower growth of nitrite oxidizers by uncalibrated MTS approach. Using a 4 parameters version of the MTS model, similar dynamics were obtained compared to the reference 12 parameters version of the MTS model. Then, MTS equation was successfully implemented in WEST demonstrating that the energy-based models could be used in a commonly used engineering platform.

Mots clés : Microbial growth - Kinetics - Energy-based models - MTS - ASM.

SP25 Session Histoire

SP25-O.1

Session Histoire

La belle histoire des antiseptiques halogénés

Jean Freney (freney.jean@gmail.com)

Université Claude Bernard Lyon I, Lyon, France

Depuis deux siècles, les antiseptiques et désinfectants à base de chlore et d'iode occupent toujours une place de choix dans l'arsenal de prévention des maladies infectieuses.

Le chlore découvert en 1774 par Carl-Wilhelm Scheele puis les hypochlorites en 1798 par Claude Berthollet dans le village de Javel près de Paris démontrèrent rapidement une action extrêmement efficace contre les mauvaises odeurs et la putréfaction qui sera exploitée avec succès lors des guerres de la révolution par le chirurgien-major Pierre-François Percy à l'armée du Rhin contre la pourriture d'hôpital. Un peu plus tard, en 1825, le pharmacien-chimiste Antoine Labarraque utilisa des solutions d'hypochlorite de calcium dans toutes sortes de lieux où l'atmosphère était nauséabonde (étables, morgues, hôpitaux, prisons, latrines, ...).

La démonstration magistrale d'Ignác-Fülöp Semmelweis au milieu du XIXe siècle dans sa lutte contre les fièvres puerpérales à l'aide d'une solution de chlorure de chaux reste un des hauts faits de la médecine. Enfin, à Compiègne lors de la Première Guerre Mondiale, le chimiste anglais Henry Dakin et le médecin français Alexis Carrel utilisèrent avec succès les solutions d'hypochlorites (solution de javel diluée) pour lutter contre les plaies de guerre : la liqueur de Dakin était née.

L'iode découvert en 1811 par Bernard Courtois a été utilisé très peu de temps après pour le traitement du goitre mais aussi des infections comme ce fut le cas dès 1829 avec Jean-Guillaume Lugol pour le traitement de la tuberculose. L'iodure de potassium sera ensuite largement utilisé par les syphiligraphes célèbres de l'époque comme William Wallace à Dublin ou Philippe Ricord à Paris. La teinture d'iode s'imposera ensuite pour le traitement des blessures de guerre, en particulier lors de la guerre civile américaine comme le rappelle le succès du traitement du colonel John B Gordon par son épouse Fanny Gordon.

Une des découvertes fondamentales de l'utilisation de l'iode à des fins anti-infectieuses a été faite au début des années 1950 par les frères Herman et Morris Shelanski à Philadelphie avec la mise au point de la polyvinylpyrrolidone iodée (PVP-I) commercialisée en 1956 et qui, depuis, demeure un des antiseptiques majeurs dans la prévention des infections.

Mots clés : Chlore - Iode - Antiseptiques - Histoire - Infections.

SP25 Session Histoire**SP25-O.2**

Session Histoire

Voir ou ne pas voir les antibiotiques : telle est la questionAntoine Andreumont¹ (antoine.andreumont@gmail.com), Claire Harpet²¹ Université de Paris, Malakoff, France² UMR 5600, laboratoire EVS, Chaire Valeurs du soin, Université Lyon 3, Lyon, France

Voir les antibiotiques est le titre de l'exposition sur les publicités pour ces médicaments qui s'est tenue à Lyon au Musée de l'Imprimerie et de la Communication Graphique à la charnière des années 2019-2020, à l'aube de l'irruption de la pandémie COVID. Ces images, qui couvrent 60 années 1945 à 2005, gardent non seulement leur puissance évocatrice, voire génératrice, du caractère miraculeux des antibiotiques, mais aussi leur enseignement quand à l'influence de la communication sur les comportements médicaux. Les premières, à l'époque héroïque, sont factuelles et informatives. Puis, dans les sixties elles arborent la toute puissance du médicament, suivant le grand mouvement d'alors d'anthropisation du monde. Dans les années 80, les publicitaires ont joué sur les ambiances et les métaphores cinématographiques, détachant les prescripteurs de la réalité médicale, rapprochant les antibiotiques des autres produits de grande consommation. Ces publicités, invisibles pour la société civile, ont ainsi contribué à créer un mythe réservé au corps médical dont les caractéristiques ont certainement joué dans la surprescription de ces médicaments.

Mots clés : Antibiotiques - Publicité - Consommation - Mythe.

Références :

1. C. Harpet et A. Andreumont 2020. Les antibiotiques au fil du temps. Université Lyon3.

SP26 Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-1

Mobile Genetic Element drives diversification of T4SS effectors in the pathogenic *L. pneumophila*

Juliette Bougnon^{1,2} (juliette.bougnon@univ-lyon1.fr), Guillaume Carrillo^{1,2}, Vincent Daubin², Patricia Doublet¹, Elisabeth Kay^{1,3}

¹ Pathogenèse des Légionelles, CIRI U1111, Villeurbanne, France

² LBBE UMR5558, Villeurbanne, France

³ CNRS, Villeurbanne, France

Introduction and objectives:

Legionella pneumophila is a facultative intracellular bacterium capable of invasion and replication in a large variety of protists (natural host) and in human alveolar macrophages, resulting in a potentially fatal pneumonia called Legionnaire's disease. To successfully infect host cells and hijack the cellular metabolism, *L. pneumophila* secretes more than 300 proteins called effectors, through its Type IV-Secretion System (T4SS). In our laboratory, we characterized an attenuated clinical isolate of *L. pneumophila* affected in major virulence-associated phenotypes. Comparative genomic and transcriptomic analyses with the parental strain revealed that insertion of a mobile genetic element (MGE) disrupted a gene coding for a T4SS effector and strongly affected the expression level of other neighboring effector-encoding genes. Our objective was to determine how this MGE impacts virulence in this isolate by focusing on the role of the impacted effectors in the replication cycle of *L. pneumophila*.

Material and method:

We investigated the expression level of these effectors encoding-genes during the replicative cycle of *L. pneumophila* using Northern Blot and RT-PCR analyses. Then, to determine their role, we compared intracellular replication kinetics of wild type and mutant strains in both macrophages and amoebas and performed heterologous expression in yeast. Protein-protein interactions and effector translocation inside host cells were also investigated.

Results, discussion and conclusion:

MGE integration into the chromosome of *L. pneumophila* disrupts an effector gene in two parts, each encoding distinct mRNA. Heterologous expression in yeast of each part resulted in no or little growth defect. However, concomitant expression of both parts restored the strong growth defect phenotype observed when the entire gene sequence of the parental strain is expressed. We then demonstrated that each part of the protein possesses a specific protein domain activity: one is responsible for yeast toxicity and interaction with a neighboring effector while the other is involved in effector translocation inside the host cell through T4SS. In conclusion, our results demonstrated that, even disrupted, this effector retains its specific activity in host cells and underlined the role of MGE and intermolecular recombination events in the diversification of the repertoire of effectors in *L. pneumophila*.

Mots clés : Legionella pneumophila - MGE - Virulence factor.

SP26 Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-2

Etude comparative de méthodes d'extraction d'ADN bactérien à partir d'échantillons du milieu marin

Erwan Bourdonnais¹ (erwan.bourdonnais@anses.fr), Thomas Brauge¹, Cédric Le Bris², Sabine Debuiche¹, Graziella Midelet¹

¹ Bactériologie et Parasitologie des Produits de la Pêche et de l'Aquaculture, ANSES - Laboratoire de Sécurité des Aliments, Boulogne-sur-Mer, France

² Université Littoral Côte d'Opale, Boulogne-sur-Mer, France

L'extraction d'ADN de haute qualité à partir d'échantillons environnementaux est une étape cruciale pour une analyse moléculaire réussie, comme la qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction) ou une approche de métagénomique. Néanmoins, extraire de l'ADN bactérien à partir d'échantillons issus de l'environnement marin peut être un défi en raison de la présence d'inhibiteurs et de contaminants. L'objectif de cette étude a été de comparer 7 techniques d'extraction à partir d'échantillons marins (phytoplancton, zooplancton, mollusques bivalves et poissons plats) afin d'obtenir de l'ADN bactérien de bonne qualité et en quantité suffisante pour être amplifié par qPCR.

L'ADN bactérien a été extrait d'échantillons de phytoplancton, de zooplancton, de mollusques bivalves, de peau, branchies et viscères de poissons plats avec 6 kits d'extraction: DNeasy Blood and Tissue (Qiagen), PowerBiofilm (Qiagen), PowerSoil (Qiagen), GenElute Stool (Sigma), PureLink Microbiome (Invitrogen), Wizard Genomic (Promega) et une méthode de lyse cellulaire par choc thermique. L'estimation de la pureté (ratio A260nm/A280nm) et la concentration d'ADN extrait ont été déterminées par spectrophotométrie. L'ADN bactérien a été quantifié par qPCR en ciblant les gènes *tuf* (gène de ménage bactérien, présent en monocopie) et *hlyA* (gène de virulence spécifique de notre contrôle interne d'extraction, *Listeria monocytogenes*).

La concentration d'ADN la plus élevée avec une pureté satisfaisante a été obtenue en utilisant le kit PowerBiofilm pour la majorité des échantillons étudiés. Par ailleurs, les résultats de qPCR démontrent que ce sont les ADN bactériens extraits avec les kits PowerBiofilm et PureLink Microbiome qui ont été les plus amplifiés. Pour les différents échantillons issus du milieu marin, le kit PowerBiofilm a permis la meilleure extraction d'ADN bactérien en termes de quantité et de qualité, et était amplifiable par qPCR. Il était important de disposer d'une méthode d'extraction d'ADN unique pour l'étude de différents échantillons afin de développer par la suite une approche de métagénomique pour l'étude de la résistance aux antibiotiques au sein d'un réseau trophique marin.

Mots clés : Extraction d'ADN - qPCR - Écologie microbienne marine.

SP26 Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-3

Évaluation des capacités de résistance et de dégradation de fongicide par des champignons filamenteuxAugustin Dunand-Alm (augustin.dunand-alm@cpe.fr), Pierre-Xavier Maziani, Heidi Böhner, Abdelkader Selmi*Biofactory, CPE Lyon FCR, Villeurbanne, France***Objectif de l'étude :**

Le tébuconazole et le pyriméthanil sont deux molécules organiques fongicides utilisées dans l'agriculture qui possèdent des effets toxiques sur le vivant ainsi qu'une grande persistance dans les sols et milieux naturels. Les champignons filamenteux sont importants dans la biodégradation des molécules organiques grâce au riche arsenal enzymatique qu'ils sont capables de sécréter. Cette étude vise à caractériser les capacités de résistance de souches sauvages de champignons filamenteux prélevés sur des sols contaminés par de fortes teneurs en polluants organiques et évaluer leurs potentiels de dégradation du tébuconazole et du pyriméthanil. En parallèle, des essais de cultures sur support solide à cellule ouverte seront réalisés pour évaluer leur effet sur la croissance des champignons et leur potentiel de bioremédiation.

Matériel et méthodes :

7 souches de champignons filamenteux extraites de sols contaminés par des polluants organiques ou possédants une capacité de dégradation de la cellulose ou de la lignine sont testées. Leurs capacités de résistance sont évaluées par la concentration minimum de tébuconazole ou pyriméthanil permettant d'inhiber leur croissance. Les essais de dégradations sont réalisés en milieu liquide en présence et en absence d'une autre source de carbone, en présence ou en absence de support solide, et à une concentration en fongicide permettant une croissance des champignons. Le déroulement du processus de dégradation est étudié à l'aide de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Résultats et conclusion :

Les résultats préliminaires de résistance indiquent une résistance au tébuconazole et au pyriméthanil pour certaines souches. Les essais de dégradations du tébuconazole et du pyriméthanil (en milieu liquide ou sur support immergé) sont en cours. Ces travaux amèneront à identifier le mécanisme de résistance et de caractériser les éventuelles voies métaboliques responsables de la bioremédiation de ces molécules : identifier les produits de dégradation, ainsi que les enzymes impliquées et leurs modes d'induction. Il s'agira enfin de créer un modèle de dégradation utilisable à l'échelle d'un bioréacteur.

Mots clés : Champignon filamenteux - Bioremédiation - Biodégradation - Support solide - Fongicide.

SP26 Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-4

Caractérisation des glycanes impliqués dans les interactions entre huître et virus entériques humains

Gabriel Euler¹ (gabriel.euler@ifremer.fr), Audrey Auger², Adrien Breiman³, Jennifer Jazat³, Béatrice Le Moullac-Vaidye³, Frédéric Chirat², Marion Desdoutis¹, Jacques Le Pendu³, Yann Guerardel², Françoise S. Le Guyader¹

¹ Laboratoire Santé Environnement Microbiologie, Ifremer, Nantes, France

² Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle UMR 8576, CNRS - Université de Lille, Villeneuve-d'Ascq, France

³ CRCINA, UMR 1232, INSERM CNRS, Nantes, France

Introduction et objectifs :

Les norovirus et rotavirus sont les principaux responsables des gastro-entérites virales chez l'Homme. Présents dans les eaux usées, ils peuvent contaminer l'environnement. Dans le milieu littoral, ils peuvent être bio-accumulés par des mollusques filtreurs et entraîner des toxi-infections alimentaires chez les consommateurs de coquillages. Ces deux virus ont comme point commun d'interagir avec les antigènes tissulaires de groupe sanguin (HBGA) à la surface de l'épithélium intestinal de l'Homme. De précédentes études ont montré qu'au moins une molécule similaire est exprimée par les huîtres, mais sa nature exacte et son rôle dans l'accumulation des virus humains restent mal connus. L'objectif de cette étude est donc de caractériser la structure des glycanes HBGA de l'huître, d'identifier les cellules qui les expriment et d'étudier leur impact sur les interactions huîtres – virus humains.

Matériel et méthodes :

Des huîtres (*Crassostrea gigas*) ont été prélevées et disséquées, et les N-glycanes des différents tissus analysés par spectrométrie de masse pour identifier leur structure. Un protocole de dissociation douce a été mis au point pour isoler les cellules d'huîtres et observer l'expression de différents glycanes HBGA par immunomarquage et cytométrie en flux. Des particules pseudovirales (VLP) fluorescentes de différentes souches de norovirus ou portant la protéine VP8* de rotavirus ont été utilisées pour observer les interactions cellules d'huîtres – virus par immunohistologie et cytométrie en flux.

Résultats, discussion et conclusion :

Des analogues glycaniques partiellement méthylés des HBGA humains de type A et ALeb ont été caractérisés dans différents tissus d'huître. En parallèle, des antigènes glycaniques ont été détectés par des anticorps anti-A et anti-Leb dans les tissus d'huître et sur des populations de cellules issues de ces tissus. Ces cellules peuvent également interagir avec des VLP de norovirus GI.1 et GI.4 *in vitro*. Ces résultats suggèrent que les glycanes méthylés exprimés par l'huître lui permettent de lier les norovirus. Des HBGA synthétiques, méthylés ou non, permettront de confirmer ce mécanisme. Les cellules exprimant ces glycanes seront caractérisées afin d'identifier les gènes responsables de leur expression qui pourraient constituer des cibles pour lutter contre la contamination.

Mots clés : Norovirus - Rotavirus - Glycane - Huîtres - HBGA.

SP26 Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-5

Resistance to antibiotics by efflux in multidrug resistant *Enterobacteriaceae*: detection, prevalence and development of a technique allowing use for diagnostic purposes

Aurélie Ferrand (ferrand.aurelie@hotmail.fr), Anne Davin-Regli, Jean-Marie Pagès, Julia Vergalli

Faculté de Pharmacie - MCT-UMR MD1, Marseille, France

Introduction and objectives:

The emergence of multidrug-resistant clinical strains is a public health problem in the management and treatment of associated infections. Several resistance mechanisms are present in a single strain, and antibiotic efflux is often found at the same time as enzyme resistance and / or target mutations. RND (Resistance Nodulation cell Division) efflux pumps, with AcrAB as the leader, are the pumps mainly involved in *Enterobacteriaceae*. Routinely in the laboratory, only enzyme resistance and target mutations can be identified. The development of a diagnostic system to detect the presence of efflux could help in improving the management of infected patients.

Materials and methods:

Clinical strains of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. aerogenes*, *K. oxytoca*, *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter koseri* were used in our study.

Fluoroquinolones and chloramphenicol were used to perform antibiotic sensitivity tests to determine the minimum inhibitory concentrations (MIC) in the presence or absence of a pump inhibitor, phenylalanine arginine β -naphthylamide (PA β N) at 20 μ g / mL. Broth microdilution in Mueller Hinton II, in the presence of iodinitrotetrazolium chloride (INT) after an incubation of 18 hours at 37° C, make it possible to obtain the different MICs.

Enrofloxacin at a concentration of 3 μ g / mL was used to perform intracellular accumulation tests in intact *Enterobacteriaceae* with or without carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP) at 20 μ M (collapsing pump energy). The results were monitored by spectrofluorimetry after incubation at 25° C., overnight, in 0.1M glycine-HCl lysis buffer.

Results discussion and conclusion:

The determination of MICs with or without PA β N makes it possible to discriminate the strains according to this phenotype. Optimization of the spectrofluorimetric determination of intracellular accumulation level of enrofloxacin has enabled us to refine a reproducible protocol for routine use. The availability of a semi-quantitative efflux threshold makes it possible to consider the application of this test for diagnostic purposes in the laboratory.

Mots clés : *Enterobacteriaceae* - Efflux pumps - Multidrug resistance - Clinical strains - Fluoroquinolones.

SP26 Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-6

Characterization of key enzymes involved in mycobacterial survival in the host

Dimitri Leonelli (dimitri.leonelli@ipbs.fr), Hédia Marrakchi, Anne Lemassu

IPBS, Toulouse, France

Introduction and objectives:

Mycobacterium tuberculosis (*Mtu*), the etiological agent of tuberculosis, causes more than one million deaths each year despite antibiotic therapy and an available vaccine. The resurgence of multidrug-resistant strains to many drugs highlight the urgent need to develop new antituberculous molecules. In hostile conditions, *Mtu* is able to adapt its metabolism and its unique cell wall composition to survive. The pathways involved in this ability of *Mtu* to persist in host macrophages constitute new anti-virulence potential targets.

Materials and methods:

Proteins involved in stress responses have been identified. Deletion and overexpression mutants of pertinent candidates have been constructed in *Mycobacterium smegmatis* and the pathogenic species *Mtu*. Analyzing the response to several extrem environments of those mutants allowed us to understand their role in this adaptation process. Candidates were also expressed and purified and their enzymatic activity tested *in vitro* on various molecules to investigate their substrate selectivity. One of the candidate being in an operon, our anti-virulent strategy consisted to identify its protein interactants to better understand in witch pathways they are involved. Purification of this potential interactome will allow us to test their enzymatic activity with different substrates.

Conclusion:

Understanding the role of candidates in environmental stress adaptation and identification and characterization of their interactants will allow a better understanding of survival's mechanisms of *Mtu* in the host and offer novel potential target in the fight against *Mtu* and mycobacterial infections.

Mots clés : *Mycobacterium tuberculosis* - Lipid metabolism - Stress environment adaptation - Enzymatic assay.

SP26 Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-7

Identification de gènes impliqués dans la vie intracellulaire et la persistance de *Listeria monocytogenes* par phénotypage à grande échelle et génomique comparative

Auréli Lotoux¹ (aurelie.lotoux@inrae.fr), Federica Palma², Edward M Fox³, Laurent Guillier⁴, Pierre-Emmanuel Douarre², Mounia Kortebi¹, Natalie Descoedres¹, Thilo M Fuchs⁵, P.Scott Chandry⁶, Sophie Roussel², Eliane Milohanic¹, Hélène Bierne¹

¹ Equipe Epigenetics and Cellular Microbiology, Institut MICALIS, AgroParisTech, INRAE, Université Paris Saclay, Jouy-en-Josas, France

² Salmonella and Listeria Unit, Laboratory for Food Safety, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES), Maisons-Alfort, France

³ Department of Applied Sciences, Northumbria University, Newcastle, Royaume-Uni

⁴ Risk Assessment Department, French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES), Maisons-Alfort, France

⁵ Institute for Food and Health, Freising, Allemagne

⁶ CSIRO Agriculture and Food, Werribee, Australie

Listeria monocytogenes est un pathogène des aliments, responsable de la listériose, une maladie particulièrement grave chez les personnes immunodéprimées, les fœtus et les nouveau-nés. Cette bactérie est capable d'envahir les cellules épithéliales selon plusieurs étapes bien connues : l'entrée, la réplication dans le cytosol et la dissémination intercellulaire. Récemment, nous avons identifié une étape plus tardive, au cours de laquelle *L. monocytogenes* entre dans un état métabolique ralenti au sein de vacuoles (ou «LisCV») (1,2). Cette phase de persistance vacuolaire a été observée avec deux souches de laboratoire dans un modèle d'infection de trois jours de cellules placentaires JEG3. Dans le but de mieux caractériser la persistance vacuolaire de *Listeria*, nous avons criblé, dans le modèle JEG3, 100 souches choisies pour représenter la diversité génétique et écologique de l'espèce *L. monocytogenes* ou des complexes clonaux sous-représentés dans les cas cliniques. Les résultats ont montré que la majorité des souches atteignaient l'étape LisCV avec la même efficacité, quelle que soit leur origine. Toutefois, parmi le groupe de 30 souches peu associées aux cas de listériose, quatre présentaient des phénotypes intracellulaires altérés. Trois d'entre elles (V1, V2, V3) montraient des défauts dès les phases précoces de l'infection. La quatrième (V4) présentait des phénotypes spécifiquement modifiés lors de la phase tardive de persistance, avec un changement morphologique des bactéries et une diminution du nombre de bactéries associées aux LisCV. Des analyses génomiques ont révélé des mutations dans des gènes de virulence connus chez V1 et V3, tandis que V2 et V4 présentaient des variations génétiques dans plusieurs gènes de fonction peu ou pas connue. Nous nous sommes particulièrement intéressés au gène *persA*, qui présente un codon stop prématuré chez le variant V4. Après inactivation de *persA* dans la souche de laboratoire EGDe, l'étude du mutant EGDe- Δ *persA* a montré qu'il phénocopiait l'isolat V4. En conclusion, ce travail révèle que la persistance vacuolaire est une propriété générale de l'espèce *L. monocytogenes* et met en lumière un gène impliqué dans cette phase peu caractérisée et qui pourrait jouer un rôle important dans le portage asymptomatique de ce pathogène.

Mots clés : Listeria - Persistance - Pathogène intracellulaire - Génomique comparative.

Références :

1. Kortebi M, Milohanic E, Mitchell G, Péchoux C, Prevost MC, Cossart P, Bierne H. *Listeria monocytogenes* switches from dissemination to persistence by adopting a vacuolar lifestyle in epithelial cells. *PLoS Pathog.* 2017. 30;13(11):e1006734.
2. Bierne H, Milohanic E, Kortebi M. To Be Cytosolic or Vacuolar: The Double Life of *Listeria monocytogenes*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018. 15;8:136.

SP26 Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-8

Spectral Confocal Laser Scanning Microscopy as an innovative tool to investigate the hygienic risk of *Staphylococcus aureus* on wooden contact surfaces

Nattar Maneewan¹ (nattar.maneewan@gmail.com), Muhammad Tanveer Munir², Michel Federighi³, Christophe Belloncle², Laurence Dubreil¹

¹ APEX, ONIRIS, Nantes, France

² LIMBHA, Ecole supérieure du Bois, Nantes, France

³ SECALIM, Onir, Nantes, France

Introduction:

Wood is abundantly used in the food and construction industries as a contact surface. However, the microbial contamination on wood is a big concern regarding the hygienic risk. Therefore the development of new microscopy techniques to visualize microorganisms on wood surfaces can address this issue. This investigation aimed to study the bacterial distribution on and inside different wooden surfaces.

Material and methods:

A plasmidic fluorescent mCherry *Staphylococcus aureus* strain was used. Three types of wood (poplar, oak and Douglas fir) were used which were cut according to the two anatomical plans, transversal (TR) and tangential (LT), because they are used for different applications in wood processing for food packaging, home equipment or building construction.

The bacterial suspension was prepared from the fresh cultures. They were deposited onto wood with specific concentrations. Auto-fluorescence of wood was used to image the surface of wood pieces. mCherry bacterial fluorescence was specifically separated from endogenous fluorescence of wood by using spectral confocal laser scanning microscopy (CLSM) and linear unmixing analyses. Dispersion, penetration and viability of bacteria were analyzed 1 hour and 24 hours after the incubation of bacteria on wood surface.

Results:

The experiments showed the importance of the sample preparation to get reliable results and particularly the importance of the pH value control to investigate bacteria on oak pieces. Distribution of microbes inside the wooden structures (up to 4000 µm) was dependent, on incubation time, cutting plans and wood species. From these experiments using a model fluorescent bacteria and spectral imaging method, we have developed an innovative tool to assess the hygienic risk of wood.

Mots clés : Contact surfaces - mCherry - Confocal microscopy - Wood - Hygiene.

SP26 Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-9

Screen for efflux Pump Inhibitors and Chemical Engineering to upraise antibiotic efficiency

Marine Novelli¹ (marine.novelli@etu.univ-amu.fr), Jacques Siad¹, Jean-Michel Brunel¹, Martin Picard², Jean-Michel Bolla¹

¹ UMR-MD1, U-1261, MCT, INSERM, IRBA, Aix-Marseille Universités, Marseille, France

² UMR 7099, LBPCPM, CNRS, IBPC, Université Paris Diderot - Paris 7, Paris, France

Introduction and objectives:

Infections caused by multidrug-resistant (MDR) bacteria are a serious threat to human health due to the lack of effective treatments [1]. Overexpression of efflux systems is one of the major mechanisms associated with the MDR phenotype. Efflux pumps allow to release of compounds considered toxic by bacteria to the outside environment, leaving an intracellular concentration level below the efficiency threshold. RND (Resistance-Nodulation-cell Division) pumps, found only in Gram-negative bacteria, release a wide range of substrates including all families of antibiotics [2]. Our project consists in developing efflux pump inhibitors as adjuvants to antibiotics already on the market to restore their efficacy on MDR bacteria.

Materials and methods:

The in-house chemical library, consisting of many polyamine derivatives, is tested against wild type, knock-out- or overexpressing-efflux systems, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* strains. First, potentialization tests of efflux pump substrate antibiotics are performed using the BAC-Screen platform of the laboratory. When they show a presumed inhibitory activity of the pumps, structure-activity relationships allow us to guide the synthesis of new derivatives. In a second step, their mechanism of action is determined on whole bacteria [3] and on *E. coli* AcrAB-TolC and *P. aeruginosa* MexAB-OprM pumps reconstituted into proteoliposomes [4].

Results, discussion and conclusion:

Of the 160 compounds screened, 7 showed potentiating activity on *E. coli* and 4 on *P. aeruginosa*. Two molecules derived from iantheformisamines [5] have shown activity on both species. The first pharmacomodulations were then performed on one of them, resulting in more than 21 derivatives tested as previously. The most efficient compounds are currently being studied to determine their mechanism of action and thus validate their specificity towards efflux pumps. At the term of this work, a scale-up synthesis program will be developed for the compound(s) corresponding to all the criteria implemented that will allow to consider toxicity tests prior to the tests on infected animals.

Mots clés : Gram-negative bacteria - Multidrug-resistance - Efflux pump inhibitors - Polyamines derivatives.

Références :

1. O'Neil J. 2016. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. Review on Antimicrobial Resistance, 84.
2. Masi M, Réfregiers M, Pos KM, Pagès JM. 2017. Mechanisms of envelope permeability and antibiotic influx and efflux in Gram-negative bacteria. Nat. Microbiol. 2, 17001.
3. Lieutaud A, Pieri C, Bolla JM, Brunel JM. 2020. New Polyaminoisoprenyl Antibiotics Enhancers against Two Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria from Enterobacter and Salmonella Species. J Med Chem. 63, 10496-10508.
4. Verchère A, Dezi M, Adrien V, Broutin I, Picard M. 2015. In vitro transport activity of the fully assembled MexAB-OprM efflux pump from *Pseudomonas aeruginosa*. Nat Comm. 22, 6890.
5. Pieri C, Borselli D, Di Giorgio C, De Méo M, Bolla JM, Vidal N, Combes S, Brunel JM. 2014. New lantheformisamine derivatives as antibiotic enhancers against resistant Gram-negative bacteria. J Med Chem. 22, 4263-72.

SP26 Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-10

Effect of heavy water incorporation on the viability of *Listeria innocua*

Sylvain Trigueros^{1,2} (sylvain.trigueros@anses.fr), Thomas Brauge², Sabine Debuiche², Véronique Rebuffel¹, Pierre Marcoux¹, Graziella Midelet²

¹ DTBS - LSIV, CEA, Grenoble, France

² LSAL - UB3PA, ANSES, Boulogne-sur-Mer, France

Listeria innocua is a Gram-positive ubiquitous bacterium, widely distributed in a range of environments (vegetation, water, soil) and in food-processing environments. *L. innocua* has the phenotypic characteristic close of *Listeria monocytogenes* specie, an important foodborne pathogen and the etiological agent of human listeriosis, a rare but frequently fatal disease. *L. innocua* is non-pathogenic bacteria although excessively rare cases of *L. innocua* septicemia and meningitis infections have been reported in human and ruminants. Bacteria in the viable but non culturable (VBNC) state have very low metabolic activity and do not divide. Consequently, VBNC cells do not grow on standard microbiological media but retain the ability to recover and become culturable under favourable conditions (ie. resuscitation). Different environmental stresses can induce the VBNC state during food processing, such as starvation, oxidative stress, temperature changes and disinfection.. An innovative approach is to use mass spectrometry, Raman spectroscopy coupled with heavy water labelling of metabolism appears to be an innovative technique for the study of bacterial metabolism and spectral changes. We evaluated the impact of heavy water incorporation on the viability state of *L. innocua* cells (Viable Cultivable (VC) or VBNC) by Raman spectroscopy. We exposed the *L. innocua* bacterial suspension to different heavy water concentrations (0%, 25%, 50% and 75%) during 0h30, 1h00, 1h30, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h and 96h. For each conditions, 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 spectroscopy. The results of the quantification showed that exposure to deuterium does not affect the viability of *L. innocua* cells.

Mots clés : Listeria - Heavy water - Metabolism - VBNC - PMA-qPCR.

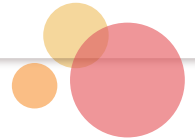


Société Française
de Microbiologie

MICROBES 2021

16^e Congrès National de la SFM

22-24
SEPT



RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS

Vendredi 24 septembre

MICROBES 2021

...mille lieux
au cœur de la
microbiologie

SP27 Microbiote et réponse immune *(en association avec la SFI)*

SP27-O.1

Microbiote

IgA et microbiote intestinal : des interactions croisées ?Delphine Sterlin*AP-HP, Paris, France*

Résumé non parvenu

SP27 Microbiote et réponse immune *(en association avec la SFI)*

SP27-O.2

Microbiote

Microbiote et maturation post natale de la réponse immunitaire de l'hôteValérie Gaboriau-Routhiau*INRAe, Paris, France*

Résumé non parvenu

SP27 Microbiote et réponse immune (en association avec la SFI)

SP27-1

Microbiote

Characterisation of the lung virome in patients with Legionnaires' disease

Marine Ibranosyan^{1,2} (marine.ibranosyan@chu-lyon.fr), Christophe Ginevra^{1,2}, Bruno Simon³, Grégory Destras^{3,4}, Hadrien Regue³, Camille Allam^{1,2}, Laetitia Beraud¹, Antonin Bal^{3,4}, Ghislaine Descours^{1,2}, Laurence Josset^{3,4}, Sophie Jarraud^{1,2}

¹ Centre National de Référence des Légionelles, Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

² LEGIOPATH, CIRI, Inserm, U1111, Université Lyon 1, CNRS, UMR5308, École Normale Supérieure, Lyon, France

³ Centre National de Référence des Virus des Infections Respiratoires, Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁴ VIRPATH, CIRI, Inserm, U1111, Université Lyon 1, CNRS, UMR5308, École Normale Supérieure, Lyon, France

Background:

Legionnaires' disease (LD) due to *Legionella* is a pneumonia for which mortality remains high (10%, up to 30%). Only few studies have explored the lung bacteriome of LD patients and data on the lung virome are still lacking. We aimed to characterise the diversity, richness and composition of the lung virome at the initial time and during the course of LD, and to determine whether viral signatures were associated with characteristics of LD patients.

Materials:

We performed a shotgun viral metagenomic process on 63 respiratory samples (23 sputa, 38 tracheobronchial aspirates (TBA), and 2 bronchoalveolar lavages (BAL)) collected at the initial time (n=33) and during follow-up time points (n=30, from day 3 (D3) to D21) from 33 LD patients enrolled in the french cohort ProgLegio between January 2018 and January 2020. The metagenomic process included viral enrichment, random amplification using WTA2 kit, Illumina sequencing on NextSeq 550 and in-house bioinformatic pipeline (aligning softwares : bwa mem, DIAMOND).

Results:

A total of 27 viral families was found in LD respiratory samples, including 21 eukaryotic viral families and 6 bacteriophages families. The virome of sputum showed significantly higher diversity and richness than that of TBA and BAL, with especially higher prevalence of the 8 following families: *Herpesviridae* (p=0.001), *Papillomaviridae* (p=0.0002), *Circoviridae* (p=0.023), *Polyomaviridae* (p=0.043), *Picobirnaviridae* (p=0.0233), *Alphaflexiviridae* (p=0.002), *Phycodnaviridae* (p=0.038) and *Siphoviridae* (p=0.003). A significantly lower viral diversity (p=0.040) and richness (p=0.035) was highlighted in initial samples collected more than 7 days after the onset of LD symptoms. A trend of low viral richness was found in respiratory samples with high *Legionella* load (Cycle threshold (Ct) < 27; p=0.07). *Herpesviridae* reads was detected in 22 patients (67%), among them 8 became positive during the follow-up.

Conclusions:

Lung virome data in patients with LD showed a large variety of viral families and was depending on respiratory sample type. *Herpesviridae* reads could be the result of reactivations related to immunosuppression and/or orotracheal intubation. Low viral diversity and richness was found in late initial samples, which could be impacted by the lung load of *Legionella* and/or by the immune response to the bacterial infection.

Mots clés : Legionnaires' disease - Virome - Metagenomics.

SP27 Microbiote et réponse immune (en association avec la SFI)

SP27-2

Microbiote

Mini-BioReactor Arrays (MBRA) : un modèle pour étudier l'impact des traitements anticancéreux sur la flore fécale humaine

Claire Hobson¹ (claire.hobson@inserm.fr), Lucile Vigué¹, Benoit Chassaing^{2,3}, Mélanie Magnan¹, Pauline Claraz⁴, Thomas Storme⁴, Olivier Tenaillon¹, André Birgy^{1,5}

¹ U1137, IAME, équipe QEM, INSERM, Paris, France

² U1016, INSERM, Paris, France

³ UMR 8104, Université de Paris, CNRS, Paris, France

⁴ Pharmacie hospitalière, Hopital Robert Debré, Paris, France

⁵ Service de Microbiologie, Hopital Robert Debré, Paris, France

Introduction et objectifs :

L'incidence des cancers augmente, conduisant ainsi à l'augmentation des prescriptions de traitements anticancéreux. Les effets thérapeutiques et secondaires liés à ces traitements sont très hétérogènes en fonction des patients. En particulier, leur efficacité et toxicité semblent étroitement liées à la composition du microbiote intestinal, lui-même caractérisé par de fortes variations interindividuelles.

Dans ce travail, nous avons étudié l'impact de traitements anticancéreux sur le microbiote intestinal humain, dans un modèle de colon *in vitro*, le modèle MBRA (MiniBioReactor Array).

Matériel et méthodes :

Le MBRA est un modèle de culture à flux continu, hébergé dans une chambre anaérobie, à 37 °C. En utilisant des échantillons fécaux de 2 donneurs sains, nous avons évalué l'impact de sept molécules anticancéreuses sur le microbiote digestif sur une durée de 11 à 15 jours (3-6 jours de stabilisation / pré-traitement, 5 jours de traitement et 3-4 jours de post-traitement). Nous avons réalisé des analyses de microbiote par approche de séquençage 16S (région V4) grâce à la technologie Illumina afin d'étudier les changements induits par les traitements au cours du temps (alpha et beta diversité, taxonomie).

Résultats, discussion et conclusion :

Tout en respectant les spécificités liées à chaque donneur, cette approche expérimentale nous a permis de mettre en évidence des effets donneur dépendant mais aussi molécule dépendante sur le microbiote intestinal. Trois profils ont été observés : absence d'impact, impact précoce et impact tardif. D'un point de vue taxonomique, les principaux effets observés sont une augmentation des Protéobactéries, une diminution des Firmicutes et une augmentation des Bacteroidetes. Ces modifications sont cohérentes avec celles observées *in vivo* chez les patients traités par chimiothérapie.

L'utilisation d'un tel simulateur de colon *in vitro* pourrait servir d'outil de dépistage pour évaluer au préalable l'impact des traitements sur le microbiote intestinal des patients, et ainsi envisager des approches thérapeutiques complémentaires personnalisées.

Mots clés : Microbiote intestinal - Colon *in vitro* - Chimiothérapie anticancéreuses - Médecine personnalisée - MBRA.

SP28-T Virus entériques : persistance, infectiosité et approches novatrices *(en association avec la SFV)***SP28-T-O.1****Challenges en virologie alimentaire : apports des nouvelles technologies**Sandra Martin-Latil*Anses, Maisons-Alfort, France*

Résumé non parvenu

Aliments

Virologie

SP28-T Virus entériques : persistance, infectiosité et approches novatrices *(en association avec la SFV)***SP28-T-O.2****Utilisation de nouveaux outils pour évaluer la diversité des norovirus dans l'environnement littoral**Soizic Leguyader*Ifremer, Nantes, France*

Résumé non parvenu

Aliments

Virologie

SP28-T Virus entériques : persistance, infectiosité et approches novatrices (en association avec la SFV)

SP28-T-1

Characterization of a cell culture system of persistent hepatitis E virus infection in the human HepaRG hepatic cell line

Virginie Doceul¹ (virginie.doceul@vet-alfort.fr), Marie Pellerin¹, Edouard Hirchaud², Yannick Blanchard², Nicole Pavio¹

¹ UMR 1161 Virologie INRAe-ANSES-ENVA, Maisons-Alfort, France

² Unité génétique virale et biosécurité (GVB), ANSES, Ploufragan, France

Hepatitis E virus (HEV) is considered as an emerging global health problem. The pathogen is responsible for more than 2 000 cases of acute hepatitis in France every year resulting in majority from zoonotic infections associated with the consumption of raw or undercooked pork. In most cases, hepatitis E is a self-limiting disease and the virus is cleared spontaneously without the need of antiviral therapy. However, immunocompromised individuals can develop chronic infection and liver fibrosis that can progress rapidly to cirrhosis and liver failure. For decades, the lack of efficient and relevant cell culture system and animal models has limited our understanding of the biology of HEV and the development of effective drugs for chronic cases. In the present study, we developed a model of persistent HEV infection in human hepatocytes in which HEV replicates efficiently. This HEV cell culture system is based on differentiated HepaRG cells infected with an isolate of HEV-3 derived from a patient suffering from acute hepatitis E. Efficient replication was maintained for several weeks to several months as well as after seven successive passages on HepaRG naïve cells. Moreover, after six passages onto HepaRG, the virus was still infectious after oral inoculation into pigs. We also showed that ribavirin inhibited HEV replication in HepaRG cells. Using whole genome sequencing, 25 mutations including 8 non-synonymous mutations were detected in the genome of the virus recovered after 6 passages into HepaRG. In conclusion, this system represents a relevant and efficient *in vitro* model of HEV replication that could be useful to identify host–virus interactions and putative mutations within the viral genome than can occur *in vitro* in the context of prolonged hepatitis E infection and to test antiviral drugs against chronic HEV infection.

Mots clés : Hepatitis E virus - Cell culture model - Persistent infection.

SP28-T Virus entériques : persistance, infectiosité et approches novatrices (en association avec la SFV)

SP28-T-2

Aliments

Virologie

Prévalence des norovirus dans les huîtres prélevées dans les zones de production conchylicole et les centres d'expédition en France

Joanna Ollivier¹ (joanna.ollivier@ifremer.fr), Candice Wacrenier¹, Pascal Garry¹, Jean-Côme Piquet¹, Charlotte Chabanne², Brigitte Heidemann²

¹ Laboratoire Santé, Environnement et Microbiologie, IFREMER, Nantes, France

² Bureau des Produits de la Mer et d'Eau Douce, DGAI, Paris, France

Introduction et objectifs :

Les zones ostréicoles sont soumises à une pollution fécale humaine croissante provenant de différentes sources. Lors de leur activité de filtration, les huîtres peuvent retenir et concentrer microorganismes pathogènes humains, tels que les norovirus. Les huîtres contaminées par les norovirus sont particulièrement à risque car le mode de consommation est le plus souvent crues. A la demande de la commission européenne, l'EFSA et les états membres producteurs d'huîtres ont réalisé une étude pour évaluer la prévalence des norovirus dans les huîtres collectées au niveau des zones de production et dans les centres d'expédition agréés de l'UE. L'étude présente les résultats obtenus sur le territoire français, premier producteur d'huître en Europe.

Matériels et méthodes :

Tous les deux mois et pendant deux ans, 74 zones de production (ZP) et 167 centres d'expédition (CE) ont été échantillonnés. Les norovirus ont été détectés et quantifiés selon la norme ISO15216-1:2017. Au total 877 échantillons ont été collectés dans les ZP et 1824 dans les CE.

Résultats, discussion et conclusion :

Des norovirus ont été détectés dans 7% des échantillons, 10% provenant des ZP et 6% des CE. Le niveau de contamination était faible, avec des concentrations inférieures à 100 copies de génome par gramme de tissus digestifs pour 144 sur 214 échantillons positifs. La contamination a été observé majoritairement en hiver. En ce qui concerne les ZP, vingt-six zones ont été négatives pendant l'étude. La contamination a été principalement détectée dans les zones présentant une qualité microbiologique dégradée (zone classée B dont les coquillages doivent être purifiés avant commercialisation).

Les résultats montrent une faible contamination des zones de production conchylicole en France. Comme attendu un lien direct avec la saisonnalité de la gastroentérite hivernale dans la population humaine a été observée montrant l'importance d'éviter les rejets humains en zone littorale. Il est nécessaire de continuer à optimiser l'approche quantitative pour améliorer la quantification des norovirus dans les huîtres, en particulier pour les faibles concentrations. Par ailleurs, les échantillons positifs en norovirus seront analysés en utilisant l'approche NGS pour évaluer la diversité génétique des souches circulant en France et en Europe (projet OC/EFSA/Biocontam/2018/01).

Mots clés : Norovirus - Prévalence - Huîtres.

SP29 Épidémiologie et susceptibilité aux infections**SP29-T-O.1****Prédisposition génétique aux maladies infectieuses**Emmanuelle Jouanguy*Inserm, Paris, France*

Résumé non parvenu

SP29 Épidémiologie et susceptibilité aux infections

SP29-1

Microbiologie clinique

Ongoing diphtheria outbreak in Yemen: Epidemiological, clinical and genomic insights

Sylvain Brisse (sbrisse@pasteur.fr)

Institut Pasteur, Paris, France

Background:

An outbreak of diphtheria, declared in Yemen in October 2017, is still ongoing. We aimed to investigate the epidemiological, clinical and microbiological features of the outbreak.

Methods:

Probable cases defined clinically and recorded through a weekly electronic diseases early warning system (2017, 2018, 2019 and 2020 up to week 17) were used to identify trends of the diphtheria outbreak. To confirm cases biologically, *Corynebacterium diphtheriae* was isolated and identified from throat swabs using standard microbiological culture and identification procedures. For in-depth microbiological analysis, *tox* gene and species-specific *rpoB* qPCR, Illumina genomic sequencing, antimicrobial susceptibility (disk diffusion, E-test) and the Elek diphtheria toxin production test were performed.

Findings:

The Yemen diphtheria outbreak developed in three epidemic periods, which affected nearly all Governorates (provinces) of Yemen, with 5701 probable cases and 330 deaths (October 2017 - April 2020). Among 888 probable cases for which clinical data was available, the median age of patients was 12 years (range, 0.17-80). The proportion of children 0-4 years old was reduced during the second period (June 2018-May 2019), posterior to a vaccination campaign. Among 43 tested isolates, 39 (90.7%) produced the diphtheria toxin and two had low level (0.25 mg/L) antimicrobial resistance to penicillin. We identified six separate *Corynebacterium diphtheriae* phylogenetic sublineages, four of which are genetically related to isolates from Saudi Arabia, Eritrea and Somalia. Inter-sublineage genomic variations in genes associated with antimicrobial resistance, iron acquisition and adhesion were observed. The predominant sublineage (30 isolates, 70%) had an evolutionary rate estimated at 1.67×10^{-6} substitutions per site year⁻¹, placing its most recent common ancestor in 2015, and indicating silent circulation of *C. diphtheriae* in Yemen earlier than outbreak declaration.

Interpretation:

Catch-up vaccination seems to have been effective in protecting part of the targeted 0-4-year-old population. The heterogeneity of *C. diphtheriae* isolates underlines the need for laboratory capacity and real-time microbiological monitoring of diphtheria outbreaks to inform case management and transmission control of diphtheria.

Mots clés : Diphtérie - Emergence - Yemen - Genomique - Epidemiologie.

Références :

1. Edgar Badell, Abdulilah Alharazi, Alexis Criscuolo, Khaled Abdullah Ali Almoayed, Noemie Lefrancq, Valerie Bouchez, Julien Guglielmini, Melanie Hennart, Annick Carmi-Leroy, Nora Zidane, Marine Pascal-Perrigault, Manon Lebreton, Helena Martini, Henrik Salje, Julie Toubiana, Fekri Dureab, Ghulam Dhabaan and Sylvain Brisse, for the NCPHL diphtheria outbreak working Group. Epidemiological, Clinical and Genomic Insights into the Ongoing Diphtheria Outbreak in Yemen. MedRxiv, July 27, 2020.

SP29 Épidémiologie et susceptibilité aux infections

SP29-2

Microbiologie clinique

Long-lasting disturbance of the nasal microbiota after mupirocin treatment

Anaïs Barry^{1,2,3} (anaïs.barry@gmail.com), Valérie Baede⁴, Mehri Tavakol⁴, Gérard Lina^{1,2,3}, Jean-Philippe Rasigade^{1,2,3}, Margreet C. Vos⁴

¹ CIRI U1111, INSERM, Lyon, France

² Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

³ Centre National de Référence des Staphylocoques, Institut des Agents infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁴ Department of Medical Microbiology and Infectious Diseases, Erasmus MC University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, Pays-Bas

Introduction and objectives:

The composition of the nasal microbiota is considered an important determinant of *Staphylococcus aureus* carriage, which could be altered by topical antimicrobial drug usage. We conducted a longitudinal study of the dynamics of the nasal microbiota in *S. aureus* carriers and noncarriers undergoing topical mupirocin-chlorhexidine treatment mimicking a widely used *S. aureus* decolonization procedure. We examined the delay until recolonization by *S. aureus* and other dominant species.

Materials and methods:

This is a prospective interventional cohort study of healthy Dutch volunteers with and without *S. aureus* nasal carriage as determined by quantitative culture of 2 weekly nasal swabs. All participants were treated with mupirocin nasal ointment and chlorhexidine gluconate bathing. Nasal swabs were taken before and after decolonization, then 4 times over a 6-month period. *S. aureus* was detected by quantitative culture and genotyped using spa typing to infer recolonization by similar or different strains. An RNA-based 16S ribosomal RNA metabarcoding strategy was used to explore the living microbial diversity. Characterization of the microbiota to the species level was performed through a BLAST-based refined analysis pipeline.

Results, discussion and conclusion:

Nine *S. aureus* carriers and eight noncarriers were included. The most prevalent bacterial genera were *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Dolosigranulum*, *Moraxella* and *Cutibacterium*. Species *Dolosigranulum pigrum*, *Moraxella nonliquefaciens* and *Corynebacterium propinquum* correlated negatively with *S. aureus* carriage. Microbial diversity measures were comparable in carriers and noncarriers. Mupirocin treatment effectively eliminated *S. aureus*, *D. pigrum* and *M. nonliquefaciens*, but not corynebacteria. *S. aureus* recolonized 3 carriers after 1 month and another 4 carriers after 6 months. The initial and recolonizing isolates had the same spa type in all recolonized carriers. Recolonisation by *D. pigrum* and *M. nonliquefaciens* took 6 months in 4 of 5 noncarriers.

Mupirocin-chlorhexidin treatment had a long-lasting impact on the nasal microbiota, whose recovery took up to 6 months. Strikingly, *S. aureus* recolonization in carriers occurred more rapidly (1 month) than recolonization by the dominant species in noncarriers (6 months). *S. aureus* recolonization predated microbiota recovery, emphasizing the strong adaptation of this pathogen to the nasal niche and the transient efficacy of the decolonization procedure.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* - Nasal microbiota - Mupirocin - Carriage - Microbiome.

SP29 Épidémiologie et susceptibilité aux infections

SP29-3

Microbiologie clinique

Portage et niveau d'excrétion de *Salmonella* en élevage porcin alternatif en France

Annaëlle Kerouanton¹ (annaëlle.kerouanton@anses.fr), Marie Souquière², Baptiste Houry¹, Edouard Boudin², Valérie Rose¹, Virginie Dorenlor², Emmanuelle Houard¹, Florent Eono², Bérengère Nagard¹, Eric Eveno², Stéphane Kerphérique², Gilles Poulain², Françoise Pol², Nicolas Rose², Maxime Delsart³, Christelle Fablet², Martine Denis¹

¹ Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité HQPAP, Anses, Ploufragan, France

² Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité EPISABE, Anses, Ploufragan, France

³ Epidémiologie des Maladies Animales Infectieuses (EPIMAI), USC Anses, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

Une étude a été menée dans 60 élevages de porcs alternatifs français pour évaluer le portage et le niveau d'excrétion de *Salmonella*. Un élevage alternatif est un élevage où les porcs ont accès à l'extérieur ou sont logés sur litière en bâtiment semi-ouvert. Dans chaque élevage, des fèces ont été collectées individuellement sur 10 porcs en croissance (âgés de 10 à 12 semaines ; stade 1) et sur 10 porcs en fin d'engraissement (âgés de ≥ 22 semaines, stade 2). La détection et le dénombrement de *Salmonella* ont été menés selon des protocoles adaptés des normes NF-U47-102 et ISO/TS 6579-2 :2012. Les isolats ont été sérotypés par agglutination selon le schéma de Kauffman-White et la norme ISO/TR 6579-3:2014.

Parmi les 60 élevages, 71,7 % sont biologiques et 21,7 % engagés dans un programme «Label Rouge». Les porcs en croissance et en fin engraissement ont respectivement accès à l'extérieur dans 41,7 % et 55,9 % des élevages. *Salmonella* a été détectée dans 36,7 % des élevages, dans 30 % au stade 1 et 30 % au stade 2, et dans 23,3 % au 2 stades. Sur les 1200 échantillons de fèces analysés, 15,0 % étaient positifs en *Salmonella* ($n=180$), 15,2 % et 14,8 % aux stades 1 et 2 respectivement. Sur les 180 échantillons positifs, 105 étaient dénombrables ($> 1,6\text{NPP/g}$). Au stade 1, les porcs excrétaient une plus grande quantité de salmonelles (Moyenne \pm Ecart-type = 154 ± 174 NPP/g) qu'au stade 2 (46 ± 88 NPP/g). Dix sérotypes ont été identifiés, *Salmonella* Derby est le plus fréquent (46 % des isolats), suivi du variant monophasique de *S. Typhimurium* (33 %).

Ces résultats donnent pour la 1ère fois des données concernant *Salmonella* en élevage de porcs alternatifs. *Salmonella* peut y être présente, à des fréquences et des niveaux d'excrétion proches de ceux rencontrés en élevages confinés. Les sérovars qui circulent dans ces élevages sont connus en filière porcine. Il est maintenant nécessaire de mettre en place des études pour mieux décrire le lien entre le niveau d'excrétion en *Salmonella* par les porcs et le risque de contamination de la chaîne alimentaire.

Mots clés : Salmonella - Porc - Elevages alternatifs.

SP29 Épidémiologie et susceptibilité aux infections

SP29-4

Adénites à mycobactéries atypiques chez l'enfant : épidémiologie et stratégie de prise en charge en France durant la dernière décennie

Cécile Le Brun¹ (c.lebrun@chu-tours.fr), Hélène Guet-Revillet², Olivia Peuchant³, Alice Gaudart⁴, Christelle Koebel⁵, Caroline Piau⁶, Corentine Alauzet⁷, Farida Hamdad⁸, Julien Bador⁹, Frédérique Canis¹⁰, Anne Vachée¹¹, Marlène Amara¹², Clémence Beauruelle¹³, Camille Bréhin¹⁴, Lucas Ricco¹⁴, Pascale Bémer¹⁵, Philippe Lanotte¹, Claudia Carvalho-Schneider¹⁶, Zoha Maakaroun-Vermesse¹⁶, Aurélie Guillouzouic¹⁵

¹ Bactériologie, CHU Tours, Tours, France

² Bactériologie, CHU Toulouse, Toulouse, France

³ Bactériologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

⁴ Bactériologie, CHU de Nice, Nice, France

⁵ Bactériologie, CHU Strasbourg, Strasbourg, France

⁶ Bactériologie, CHU Rennes, Rennes, France

⁷ Bactériologie, CHU Nancy, Nancy, France

⁸ Bactériologie, CHU Amiens, Amiens, France

⁹ Bactériologie, CHU Dijon, Dijon, France

¹⁰ Bactériologie, CH de Valenciennes, Valenciennes, France

¹¹ Bactériologie, CH de Roubaix, Roubaix, France

¹² Bactériologie, CH de Versailles, Versailles, France

¹³ Bactériologie, CHU de Brest, Brest, France

¹⁴ Pédiatrie, CHU Toulouse, Toulouse, France

¹⁵ Bactériologie, CHU de Nantes, Nantes, France

¹⁶ Pédiatrie, CHU Tours, Tours, France

Introduction:

Les adénites à mycobactéries non tuberculeuses (NTM) chez l'enfant sont des infections rares. Le but de cette étude est de décrire les caractéristiques, l'approche diagnostique, la prise en charge et l'évolution de ces infections en France.

Matériel et méthode :

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur les cas d'adénites à NTM chez des enfants (<18 ans) confirmés par culture de ponction ganglionnaire dans 15 hôpitaux français du réseau MYCOMED de 2010 à 2018. Les données démographiques, diagnostiques, histologiques, le traitement et l'évolution ont été étudiés.

Résultats :

279 cas ont été documentés avec un âge moyen de 3 ans. Le délai moyen entre le début des symptômes et la première consultation est de 70 jours (extrêmes 1- 1032 jours). La localisation la plus fréquente est cervicale dans 136/279 cas (48,7%), suivie de sous-maxillaire et parotidienne dans 97 (34,8%) et 24 (8,6%) cas. La fistulisation est observée chez 54 enfants (22,5%). Les cultures mycobactériologiques retrouvent du *M. avium* avec 199 souches (71,3%) puis du *Mycobacterium intracellulare* 34 (12,2%), et du *Mycobacterium lentiflavum* 21 (7,5%). L'examen anatomo-pathologique du ganglion a été réalisé pour 158 patients et une lymphadénite granulomateuse nécrosante a été retrouvée pour 105 d'entre eux (66,5%) avec présence de BAAR dans seulement 8 cas (5%). L'antibiogramme a été réalisé sur 121 souches. Toutes sont sensibles à la clarithromycine sauf une. Un traitement uniquement chirurgical est privilégié dans 81 cas (29%) et un traitement antibiotique seul chez 70 patients (25,1%). Une combinaison d'antibiotiques associés à une chirurgie est retrouvée pour 64 patients (22,9%). L'abstention thérapeutique concerne 37 patients. La molécule clé du traitement est un macrolide (n= 125/133 ; 94%) utilisée seule ou en association (n= 49 ; 36,8%). La durée moyenne du traitement antibiotique est de 123 jours (extrêmes 3-671 jours). Pour les patients dont l'évolution a pu être suivie, elle est favorable pour 152/172 (88,4%) d'entre eux.

Conclusion :

L'épidémiologie et le nombre de cas d'adénites à NTM chez l'enfant apparaît stable en France depuis 2010. Le choix d'un traitement antibiotique, chirurgical ou la combinaison des deux ne semble pas avoir d'influence sur l'évolution de la maladie.

Mots clés : Mycobactéries - Adénites - Enfant.

SP30-T Tolerance, persistence, resistance...**SP30-T-O.1****Clinical perspective on chronic - recurring staphylococcal infections**Annelies Zinkernagel*University Zurich, Zurich, Suisse*

Résumé non parvenu

SP30-T Tolerance, persistence, resistance...

SP30-T-1

Molecular atlas of *Acanthamoeba castellanii* remodeling during cyst formation

Marie Locart-Paulet¹ (marie.locart-paulet@cpr.ku.dk), Clément Bernard², Cyril Noel³, Quentin Gia Gianetto⁴, Magalie Duchateau⁴, Bouziane Moumen², Thomas Rattai⁵, Yann Hechard², Lars Juhl Jensen¹, Mariette Matondo⁴, Ascel Samba Louaka²

¹ Novo Nordisk Foundation Center for Protein Research, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark

² Laboratoire Ecologie et Biologie des Interactions, Poitiers, France

³ IFREMER-IRSI-Service de Bioinformatique (SeBiMER), Centre Bretagne, Plouzane, France

⁴ Institut Pasteur, Proteomics Platform, Mass Spectrometry for Biology Unit, Paris, France

⁵ Centre for Microbiology and Environmental Systems Science, Vienna, Autriche

Acanthamoeba spp. are free-living amoebae found in soil, water, and air. They cause fatal infections in the human central nervous system (encephalitis) and are responsible for *Acanthamoeba* cornea keratitis, an eye infection that can result in blindness. They are also known to host pathogenic bacteria such as *Legionella* spp. and *Mycobacterium avium*, to name a few. *Acanthamoeba* spp. present a two-phase life cycle: (i) an active phase that feeds on bacteria and available wastes, (ii) a dormant cyst phase triggered by stress or starvation. The latter is characterized by a round shape and double-walled protection which makes the amoeba very resistant. It is thus important to understand mechanisms involved in cyst formation in the context of medical treatment.

Here, we mapped the molecular changes occurring in *Acanthamoeba castellanii* during cyst formation using high throughput transcriptomics, proteomics and phosphoproteomics. We identified 166,782 transcripts and 8,577 proteins that were monitored up to 8h after triggering cyst formation *in vitro*. RNAseq identified more than 100,000 previously undescribed transcripts that were used for protein identification. This strategy allowed the identification of 2,701 proteins absent from *A. castellanii* reference proteome. Overall, 3,270 proteins were quantified at transcript- and protein-level, constituting the first time-resolved molecular atlas of *A. castellanii* remodeling during cyst formation. We observed a delay between transcript- and protein-level regulation. 443 proteins presented significant variation at protein-level while nearly 500 were regulated by phosphorylation and/or dephosphorylation. Of these, only 11% were regulated at both protein- and phosphorylation-level. These results confirm the involvement of phospho-regulation in *Acanthamoeba* spp. cyst formation while providing relative quantification of 6,376 individual phosphorylation sites.

This work is the first multi-OMICs data set exploring amoeba encystment from transcripts to post-translational modifications. We annotated the genes using eggNOG-mapper to provide functional information and performed statistical analysis that identifies proteins and phospho-regulations potentially involved in cyst formation.

Mots clés : Amoeba - Encystment - Transcriptomics - Proteomics - Acanthamoeba.

SP30-T Tolerance, persistence, resistance...

SP30-T-2

Suivi de l'état répliatif de *Staphylococcus aureus* intraostéoblastique par microscopie confocale automatisée et dilution de fluorescence : mise en évidence de persisters

Florian Marro^{1,2} (florian.marro@evotec.com), Jacques Brocard³, Frédéric Laurent^{2,4,5}, Ariel Blocker¹, Jérôme Josse^{2,5}

¹ *In Vitro Biology, Infectious Diseases and Antibacterials Unit, Evotec ID Lyon, Lyon, France*

² *Inserm U1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, CIRI - Centre international de recherche en infectiologie, Lyon, France*

³ *Platim Univ Lyon, ENS de Lyon, Inserm, CNRS, US8 UAR3444, UCBL, SFR Bioscience, Lyon, France*

⁴ *Centre national de référence des Staphylocoques, Lyon, France*

⁵ *CRIOAc Lyon, France*

Introduction et objectifs :

Staphylococcus aureus peut être internalisé par les ostéoblastes et favoriser la chronicisation des infections ostéo-articulaires malgré une prise en charge adaptée. Le microenvironnement intracellulaire peut favoriser l'apparition de persisters, des bactéries tolérantes aux antibiotiques souvent non ou peu répliatives. Cependant, la répliatation intraostéoblastique de *S. aureus* est un phénomène encore mal compris. L'objectif est de déterminer le devenir répliatif intraostéoblastique de *S. aureus* au cours du temps, en absence ou en présence d'une pression antibiotique permettant de caractériser les persisters.

Matériels et méthodes :

S. aureus SH1000 a été marqué à l'eFluor450 avant le début des expériences. A chaque répliatation, l'intensité de fluorescence sera divisée par 2. Les *S. aureus* non répliatifs conserveront leur intensité de fluorescence initiale pour l'eFluor450. SH1000 exprime aussi la GFP constitutivement. *S. aureus* SH1000 GFP/eFluor450 a été incubé avec des ostéoblastes MG-63 pour favoriser l'internalisation. Puis, les bactéries extracellulaires sont éliminées par traitement à la lysostaphine. L'infection est ensuite monitorée pendant 24h avec une prise d'image par heure par microscopie confocale automatisée à fluorescence.

Résultats, conclusion et discussion :

L'augmentation de la multiplicité d'infection (MOI, ratio de bactéries par cellules) impacte le pourcentage d'ostéoblastes infectés. Cependant, elle n'influence pas le pourcentage des différentes sous-populations d'ostéoblastes contenant des staphylocoques intracellulaires non répliatifs (46,5%), à répliatation lente (7%) ou à répliatation rapide (46,5%). Les phases de répliatation rapide conduisent à la rétraction de l'ostéoblaste et au relargage des bactéries intracellulaires dans le milieu extérieur. La répliatation rapide débute en moyenne 11h post-infection et dure 4h. Un traitement par la rifampicine réduit drastiquement et éradique les sous-populations à répliatation lente et rapide respectivement sélectionnant ainsi les staphylocoques intracellulaires non répliatifs. L'addition de ciprofloxacine augmente le pourcentage d'ostéoblastes présentant des bactéries à répliatation lente et réduit celui des bactéries à répliatation rapide.

Nous avons pu mettre en évidence la forte proportion d'ostéoblastes contenant des staphylocoques intracellulaires non répliatifs et le fait que le traitement par la rifampicine sélectionne cette sous-population. Le suivi de la répliatation des bactéries intracellulaires par microscopie sera un outil précieux pour le développement de nouvelles molécules anti-persisters.

Mots clés : *S. aureus* - Intraostéoblastique - Persisters - État répliatif - Microscopie.

SP30-T Tolerance, persistence, resistance...

SP30-T-3

The unforeseen intracellular lifestyle of *Enterococcus faecalis* in human hepatocytes

Cristel Archambaud¹ (cristel.archambaud@inrae.fr), Natalia Nunez^{1,2}, Aurélie Derré-Bobillot¹, Goran Lakusic¹, Alexandre Lecomte¹, Françoise Mercier-Nomé^{3,4}, Anne-Marie Cassart⁵, Hélène Bierne⁶, Pascale Serror¹

¹ Micalis Institute, CPE team, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

² Life & Soft, Plessis-Robinson, France

³ Université Paris-Saclay, INSERM, CNRS, Châtenay-Malabry, France

⁴ Institut Paris Saclay d'Innovation Thérapeutique, Châtenay-Malabry, France

⁵ Inflammation, Microbiome and Immunosurveillance, Université Paris-Saclay, INSERM U996, Clamart, France

⁶ Micalis Institute, EPIMIC team, Université Paris-Saclay/INRAE, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

Introduction and objectives:

Enterococcus faecalis is a commensal bacterium present at a sub-dominant level in the human gut microbiota. It becomes an opportunistic pathogen under specific conditions involving dysbiosis and host immune deficiency [1]. While adhesion and invasion of epithelial cells by *E. faecalis* have been reported in the context of urinary tract infection and gut translocation, the fate of intracellular *E. faecalis* remains poorly understood. Here, we examined the lifestyle of *E. faecalis* inside hepatocytes, the main epithelial cell type in the liver.

Material and methods:

The fate of *E. faecalis* after internalization in hepatocytes was investigated by quantitative and qualitative approaches using cellular models of infections and an *in vivo* murine model.

Results, discussion and conclusion:

We found that the intracellular level of *E. faecalis* increases during hepatocyte infection. This process is accompanied by the formation of intracellular *E. faecalis* clusters in two distinct hepatocyte cell lines, in primary mouse hepatocytes as well as *in vivo*. More importantly, our work revealed that a step of cell wall synthesis occurs within hepatocytes further supporting that *E. faecalis* replicates intracellularly in the liver.

Patients with liver disease frequently have a dysbiotic microbiota with an overgrowth of enterococci [2, 3]. Our results echo the work of B. Schnabl's team demonstrating that upon intestinal dysbiosis overgrowth of enterococci leads enterococcal translocation to the mouse liver leading to a pro-inflammatory response at the origin of liver damage [4]. The severity of alcoholic hepatitis and the mortality of patients suffering from this disease are consistent with the presence of *E. faecalis* strains [5]. Yet, the mechanisms underlying the presence of *E. faecalis* in the liver, especially intracellularly, and the development of hepatopathy remain to be established. Together, our study provides evidence that the intracellular lifestyle of *E. faecalis* has been underestimated. Whether and how this may contribute to pathogenesis will deserve future investigations.

Mots clés : Enterococcus faecalis - Hepatocytes - Liver - Intracellular lifestyle.

Références :

1. Arias CA, Murray BE. 2012. The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol.* 10(4):266-78.
2. Liu J, Wu D, Ahmed A, Li X, Ma Y, Tang L, et al. 2012. Comparison of the gut microbe profiles and numbers between patients with liver cirrhosis and healthy individuals. *Curr Microbiol.* 65(1):7-13.
3. Zhang J, Wang C, Wang J, Zhang F. 2018. Relationship between intestinal flora and inflammatory factors in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Exp Ther Med.* 2018;15(1):723-6.
4. Llorente C, Jepsen P, Inamine T, Wang L, Bluemel S, Wang HJ, et al. 2017. Gastric acid suppression promotes alcoholic liver disease by inducing overgrowth of intestinal Enterococcus. *Nat Commun.* 8(1):837.
5. Duan Y, Llorente C, Lang S, Brandl K, Chu H, Jiang L, et al. 2019. Bacteriophage targeting of gut bacterium attenuates alcoholic liver disease. *Nature.* 2019;575(7783):505-11.

SP30-T Tolerance, persistence, resistance...

SP30-T-4

***Staphylococcus aureus* gamma-toxin BC: unexpected strain-dependent expression and regulation profiles**

Mariane Pivard¹ (mariane.pivard@univ-lyon1.fr), Isabelle Caldelari², Virginie Brun³, Karen Moreau¹, Pascale Romby², François Vandenesch¹

¹ U1111 - Pathogénie des Staphylocoques, CIRI, Lyon, France

² Architecture et Réactivité de l'ARN, IBMC, Strasbourg, France

³ BIG-BGE, CEA, Grenoble, France

Staphylococcus aureus possess a wide diversity of virulence factors, including the Pantone Valentine Leukocidin that impact *S. aureus* virulence during pneumonia. Gamma-hemolysin CB, which targets the same host receptors as PVL, may also impact severity as supported by HlgCB overproducing isolates associated with death in human pneumonia cases (Staphylococcal NRC cohort) and in a rabbit pneumonia model. We hypothesized that the HlgCB expression variations may affect the strain virulence during pneumonia. Quantitative HlgCB mass spectrometry analysis on 32 clinical strains, including CA-MRSA USA300 and the European ST80 strains, revealed two distinct profiles: for two strains, including USA300, the amount of HlgB was much higher than HlgC (unexpectedly for an operon), whereas all other strains, including ST80, produced equimolar amounts of HlgB and HlgC with total amount of proteins higher than for the first group. Here, we aimed to address why ST80 produces overall more HlgCB proteins than USA300 and why USA300 produces more HlgB than HlgC.

5'RACE and primer extension (PE) revealed the same transcriptional start in ST80 and USA300, and promoter fusion showed identical activity of the promoter region of these two strains. Thus, the difference in HlgCB protein levels likely results from post-transcriptional or translational events. *hlgCB* transcript half-life (Rifampicin assay) was 8' and 15' in USA300 and ST80, respectively. Northern blot revealed a long *hlgCB* transcript and a smaller *hlgB* one in both strains. Promoter fusion assays failed to identify an independent promoter for *hlgB*. Altogether, it suggests that *hlgB* mRNA results from the maturation of *hlgCB*. This hypothesis was supported by PE that revealed consistently a major signal localized upstream *hlgB* ATG. However, deletion of several RNase did not affect the level of *hlgB* mRNA. More surprisingly, an insertion of a premature-stop codon in HlgC induced a strong reduction of the *hlgB* transcript. This finding suggests that the maturation of *hlgCB* to generate *hlgB* occurs during *hlgCB* translation.

Altogether, we showed that *S. aureus* isolates present considerable variations in HlgCB production, impacting virulence. The underlying mechanisms responsible for these distinct expression profiles involve differential mRNA stability as well as a complex mechanism of mRNA maturation.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* - Transcriptional regulation - Virulence factors - Hemolysin-gamma - Community-acquired pneumonia.

SP31 Nouvelle génération d'outils en microbiologie**SP31-O.1****Approches volatolomiques : étude des composés organiques volatils en microbiologie**Stanislas Grassin Delyle (stanislas.grassin-delyle@uvsq.fr)*U1173, Hopital Foch / Universite Versailles Saint Quentin, Montigny le Bretonneux, France*

Les approches métabolomiques appliquées à l'analyse de l'air expiré consacrent l'étude des composés organiques volatils (COVs) sous la dénomination de « volatolomique ». Plusieurs centaines de COVs ont été identifiés dans l'air expiré et résultent d'un métabolisme normal ou de processus infectieux, inflammatoires ou pathologiques. Dans le contexte infectieux, les COVs peuvent être produits par les agents microbiens ou par l'hôte, faisant de l'analyse de l'air expiré un domaine de recherche innovant pour détecter, explorer et suivre l'évolution des maladies infectieuses. L'analyse des COVs présente également des applications pour la prédiction et le suivi de la réponse aux thérapeutiques. Ses principaux intérêts résident en la nature non-invasive du prélèvement et à l'utilisation possible de techniques analytiques en temps-réel. Les applications de la volatolomique en microbiologie, ses intérêts médicaux et les stratégies analytiques mises en œuvre seront abordés lors de ce séminaire.

Mots clés : Composés organiques volatils - Air expiré.

SP31 Nouvelle génération d'outils en microbiologie**SP31-O.2****Analyse taxonomique et fonctionnelle par spectrométrie de masse en tandem : de l'isolat aux microbiotes complexes**

Jean Armengaud (jean.armengaud@cea.fr)

Li2D - ProGénoMix platform, CEA, Bagnols-sur-Cèze, France

L'identification par spectrométrie MALDI-TOF des microorganismes isolés a changé le diagnostic clinique en quelques années. Aujourd'hui, de nouvelles méthodes plus raffinées, telle que la spectrométrie de masse en tandem appliquée aux protéines et peptides, permettent d'être encore plus spécifique pour discriminer des sous-espèces, voire des souches, et pour enregistrer encore plus d'information sur chaque échantillon. Le « protéotypage » de tout type de pathogène est désormais possible, même ceux non encore répertoriés dans les bases de données [1,2]. Des échantillons de plus en plus complexes, tels que des microbiotes comportant plusieurs centaines de microorganismes peuvent être analysés de façon exhaustive et ultra-rapidement. L'analyse métaprotéomique permet dans ce cas d'identifier et quantifier des dizaines de milliers de protéines, d'en déduire quels microorganismes sont présents dans l'échantillon, d'établir précisément leurs parts relatives en terme de biomasse, et d'obtenir des informations fonctionnelles telles que par exemple leurs résistomes [3]. Plusieurs exemples acquis avec notre parc instrumental et analysés avec notre pipeline informatique seront commentés. Ces nouvelles perspectives ouvrent un grand éventail de nouveaux diagnostics pour le laboratoire clinique [4].

Mots clés : Microorganismes - Microbiotes - Identification - Spectrométrie - Diagnostic.

Références :

1. Hayoun K, Gaillard JC, 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.
2. Hayoun K, Gouveia D, Grenga L, Pible O, Armengaud J, Alpha-Bazin B. 2019. Evaluation of sample preparation methods for fast proteotyping of microorganisms by tandem mass spectrometry. *Frontiers in Microbiol* 10:1985.
3. 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.
4. Grenga L, Pible O, Armengaud J (2019) Pathogen proteotyping: A rapidly developing application of mass spectrometry to address clinical concerns. *Clinical Mass Spectrometry* 14:9-17.

SP31 Nouvelle génération d'outils en microbiologie**SP31-1****Identification sans marquage de colonies sur agar par imagerie multispectrale dans l'infrarouge**Pierre Marcoux¹ (pierre.marcoux@cea.fr), Joël Le Galudec², Mathieu Dupoy², Véronique Rebuffel¹¹ LETI/DTBS, CEA, Grenoble, France² LETI/DOPT, CEA, Grenoble, France**Introduction et objectifs :**

Les systèmes d'imagerie des boîtes de Petri permettent une observation automatisée des cultures avec toujours plus de détails. Cependant, cette imagerie n'est jusqu'à présent faite que dans le visible et le proche infrarouge (400–1000 nm), ce qui n'apporte des informations que sur le morphotype des colonies et limite donc la précision d'identification de ces systèmes. Notre étude vise à développer un système d'imagerie multispectrale dans une toute autre gamme de longueurs d'onde (5–9 μm), pour obtenir des informations à la fois sur le morphotype et sur la composition chimique des colonies observées. L'objectif est d'arriver à une imagerie non destructive et sans marquage qui fournira une identification à l'espèce, directement sur agar, des colonies cultivées.

Matériels et méthodes :

Cette technique consiste à acquérir des images grand champ (7,4 mm²) à différentes longueurs d'ondes infrarouge d'une ou plusieurs colonies microbiennes, puis à identifier la signature obtenue par apprentissage machine. [1] Le système se compose d'une source lumineuse, constituée de lasers à cascade quantique, et d'un imageur, une matrice de bolomètres. Les colonies sur milieu gélosé sont amenées au plus proche du capteur, sans élément optique intermédiaire, pour être imagées à neuf longueurs d'ondes comprises entre 5.6 et 8 μm. Pour chaque série d'images, différents paramètres rendant compte à la fois de la composition chimique et du morphotype sont extraits. La capacité d'un classifieur à identifier une colonie à l'espèce à partir de ses descripteurs est finalement testée à l'aide d'une validation croisée 1/10.

Résultats, discussion et conclusion :

Ce système a permis l'acquisition d'une base de données sur souches de référence, pour une première évaluation technique. Au total, 2200 colonies appartenant à 8 espèces ont été analysées. À l'issue de la classification, les taux d'identification correcte pour chaque classe vont de 86% à 99%, avec des taux de confusion entre souches d'une même espèce inférieurs à 5%.

Avec l'amélioration continue des capteurs d'image, mais aussi des outils de classification, les résultats obtenus actuellement seront considérablement améliorés dans des expériences ultérieures. Ainsi, l'imagerie multispectrale dans l'infrarouge moyen semble extrêmement prometteuse en tant qu'outil d'identification rapide sur boîte de Petri.

Mots clés : Label-free identification - Artificial intelligence - Mid-infrared - Multispectral imaging - Lensless imaging.

Références :

1. Le galudec J, Dupoy M, Rebuffel V, Marcoux P. Mid-infrared multispectral lensless imaging for wide-field and label-free microbial identification. SPIE Photonics Europe. 2020;11359.

SP31 Nouvelle génération d'outils en microbiologie**SP31-2****Performances des outils bio-informatiques pour l'analyse des données de séquençage des souches du complexe *Mycobacterium tuberculosis***

Pauline Quagliaro¹ (pauline.quagliaro@aphp.fr), Samira Dziri¹, Fatma Magdoud El Alaoui¹, Patrick Saint Louis¹, Julie Marin², Etienne Carbonnelle^{1,2}, Typhaine Billard-Pomares^{1,2}

¹ Microbiologie, Hopital Avicenne, Bobigny, France

² INSERM UMR 1137, IAME, Paris, France

Introduction et objectifs :

Le séquençage du génome complet des souches du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) est un nouvel outil en plein essor qui permet d'obtenir des résultats concernant la résistance et la phylogénie des souches étudiées. Des outils bio-informatiques présentés comme conviviaux et faciles d'utilisation sont mis à disposition sur internet. L'objectif de ce travail était d'évaluer les performances de deux outils bio-informatiques, Mykrobe et PhyResSE, pour l'analyse des données de séquençage.

Matériels et méthodes :

Cent quatre-vingt-seize souches de MTBC isolées de patients venus à l'hôpital Avicenne entre 2016 et 2020 ont été séquencées à l'aide de la technologie MiSeq Illumina® (USA). L'analyse des séquences a été réalisée à l'aide des outils Mykrobe (<https://www.mykrobe.com>) et PhyResSE (<http://www.phyresse.org>) et comparée aux résultats microbiologiques obtenus au laboratoire. Les données concernant la qualité de séquençage, la résistance et la phylogénie ont été étudiées.

Résultats, discussion et conclusion :

Les résultats de qualité de séquençage obtenus à l'aide de l'outil PhyResSE montraient une couverture moyenne de 98% par rapport à la souche de référence H37Rv et une profondeur moyenne de 128x. La concordance de chaque outil par rapport à la méthode phénotypique de détermination de la sensibilité aux antituberculeux de première ligne était de 95% et 93% pour Mykrobe et PhyResSE respectivement. Chaque outil permettait d'identifier des résistances aux antituberculeux de deuxième ligne respectivement dans 3% et 3.5% des cas. La sensibilité et la spécificité de chaque outil en comparaison à la méthode phénotypique était de 78% et 98% pour Mykrobe et de 78% et 97% pour PhyResSE. En termes de phylogénie, les deux outils montraient une concordance de 99% dans la détermination de la lignée.

Les outils bio-informatiques Mykrobe et PhyResSE étaient simples d'utilisation, rapides et performants. L'outil Mykrobe présentait l'avantage d'être hors ligne et son interface était plus conviviale. L'usage de ces plateformes dépend malgré tout de leur accessibilité et de leur actualisation. Toutefois, leur utilisation est accessible aux personnes non formées à la bio-informatique et permettrait une approche complémentaire aux méthodes standards pour l'étude des souches de MTBC.

Mots clés : Séquençage du génome complet - Outils bio-informatiques - *Mycobacterium tuberculosis* - Phylogénie.

Références :

1. Lee RS, Pai M. 2017. Real-time sequencing of *Mycobacterium tuberculosis*: are we there yet? *J Clin Microbiol* 55:1249–1254.

SP32-T New contributions of microscopy: journey into the infinitely small (in association with SFμ)

SP32-T-O.1

Contribution of atomic force microscopy to the study of biofilm formation and antibiotic resistanceCécile Formosa-Dague (formosa@insa-toulouse.fr)

Toulouse Biotechnology Institute, CNRS, INSA de Toulouse, Toulouse, France

Atomic force microscopy (AFM), invented in 1986 [1], is a powerful tool to probe cell surfaces at the nanoscale. Its main advantage is its possibility to work in liquid environment, directly on living cells. This technology thus makes it possible to image living cells at the nanometer scale at high-resolution. AFM is also a sensitive force machine able to record forces as small as 20 pN. This makes it an ideal tool to probe the surface properties of cells, such as their nanomechanical properties or their interacting properties with their environment. After introducing this technology, I will illustrate its use in microbiology in two examples. In the first one, AFM was used to understand the mechanism of resistance of the bacterial pathogen *Klebsiella pneumoniae* to a last chance antibiotic, colistin [2]. In this case, AFM revealed that the nano-architecture and mechanical properties of the capsule of resistant strains were responsible for its resistance. This was further confirmed by genetic analyses that revealed that in resistant strains, a gene involved in the composition of the capsule was inactivated. Then in a second example, AFM was used to understand the role of a protein present at the surface of *Staphylococcus aureus*, SasG, in the interactions between cells, which is a key step in biofilm formation [3]. In this case, force measurements performed between single cells showed that SasG mediates cell–cell adhesion via Zn²⁺-dependent homophilic bonds between specific domains of the protein on neighboring cells. Thus these two different examples show the versatility of AFM, which offers the possibility to answer fundamental questions in microbiology by looking at the microbes from “the outside”.

Mots clés : Atomic force microscopy - Bacterial resistance - Biofilm formation.

Références :

1. Binnig G, Quate CF, Gerber C. 1986. Physical Review Letters. 56(9):9304.
2. Formosa C, Herold M, Vidaillac C, Duval RE, Dague E. 2015. J Antimicrob Chemother. 70(8):226170.
3. Formosa-Dague C, Speziale P, Foster TJ, Geoghegan JA, Dufrêne YF. 2016. PNAS. 113(2):4105.

SP32-T New contributions of microscopy: journey into the infinitely small (*in association with SFμ*)**SP32-T-O.2****Multimodular imaging and microfluidics to understand the intracellular niche formation of enteroinvasive pathogens**Jost Enninga*Institut Pasteur, Paris, France*

Résumé non parvenu

SP32-T New contributions of microscopy: journey into the infinitely small (in association with SFμ)

SP32-T-1

Optical tweezing for the trapping and characterization of single-cells facing antimicrobial stress

Pierre Marcoux¹ (pierre.marcoux@cea.fr), Manon Tardif^{2,3}, Emmanuel Picard², Victor Gaude³, Jean-Baptiste Jager², David Peyrade³, Emmanuel Hadji² - Presenting by: [Simon Glicenstein](#)⁴

¹ LETI-DTBS, CEA, Grenoble, France

² IRIG/DEPHY/PHELIQS/SINAPS, CEA, Grenoble, France

³ LTM, CNRS, Grenoble, France

⁴ Univ. Grenoble Alpes, Grenoble INP, CEA, IRIG, Pheliqs, SiNaPS Lab., Grenoble, France

Introduction and objectives:

Many tests in microbiology are culture-based and/or require large bacterial biomass to be processed. The major interest in characterizing the impact of an antibacterial agent, whether physical or chemical, on a single bacterium is the significant reduction of time-to-result. Furthermore, several measurements can be made on individual cells, to obtain a phenotypic distribution within a clonal population. Optics, through optical tweezers and integrated photonics, can be used to trap bacteria individually and in a nondestructive way, [1] making this technology a possible key component in future microbiology. For example, we proved experimentally that this technique can yield a label-free Gram-typing in a few seconds, on single-cells. [2] Here, the nondestructive measurement of refractive index on a single trapped bacterium is demonstrated. We show, on the specific example of thermal stress, that this measurement is relevant to characterize antibacterial stress at a single-cell scale.

Materials and methods:

A two-laser setup was developed to simultaneously trap and characterize a single bacterium in the close vicinity (<100 nm) of a microresonator, *i.e.* a silicon microstructure able to concentrate considerably light energy. It is immersed in a suspension of bacteria in deionized water within a static fluidic system. While the first laser is used to excite the optical field tweezing the bacterium, the second laser probes a key property of the microresonator: its resonance frequency. This latter is indeed linked to the refractive index of the membrane of the trapped cell.

Results, discussion and conclusion:

Escherichia coli bacteria are stressed by incursion, before optical trapping, at different temperatures (45°C, 51°C and 70°C). Low-level optical index changes (10-2 refractive index units) correlate with the degree of thermal stress, allowing to sort viable and dead bacteria.

With this disruptive diagnosis method bacterial viability upon a stress is probed much faster than with conventional culture based methods. It opens the way to the characterization of any type of stress inducing variations of refractive index. Such stresses are likely to be plentiful: many studies have indeed reported in literature that various antibacterial and antibiotic stresses all lead to the oxidation of bacterial components.

Mots clés : Antimicrobial agent - Single-cell characterization - Refractive index - Optical trapping - Bacterial membrane.

Références :

1. Tardif M, Jager J-B, Marcoux PR, Uchiyamada K, Picard E, Hadji E, et al. Single-cell bacterium identification with a SOI optical microcavity. *Applied Physics Letters*. 2016;109(13):133510.
2. Therisod R, Tardif M, Marcoux PR, Picard E, Jager JB, Hadji E, et al. Gram-type differentiation of bacteria with 2D hollow photonic crystal cavities. *Applied Physics Letters*. 2018;113(11):111101.

SP32-T New contributions of microscopy: journey into the infinitely small (in association with SFμ)

SP32-T-2

Étude de l'imagerie sans lentilles grand champ pour l'analyse et le diagnostic en phagothérapie

Pierre Marcoux¹ (pierre.marcoux@cea.fr), Prisca Perlemoine¹, Emmanuel Picard², Emmanuel Hadji², Grégoire Mugnier³, Marc Zelsmann³, Aurélie Marchet⁴, Grégory Resch⁴, Eric Lacot⁵

¹ LETI/DTBS/LSIV, CEA, Grenoble, France

² IRIG/DEPHY/PHELIQS/SINAPS, CEA, Grenoble, France

³ LTM, CNRS, Grenoble, France

⁴ DMF, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse

⁵ LIPHY, Université Grenoble-Alpes, Grenoble, France

Introduction et objectifs :

La spécificité du spectre des phages impose d'effectuer des phagogrammes pour tester la susceptibilité du pathogène vis-à-vis de différentes souches virales. A ce jour, la méthode de référence est celle de l'agar double couche (DLA), avec analyse à l'œil nu des plages de lyse (PFU). Cependant, cette méthode ne permet pas un suivi cinétique qui assurerait des résultats plus précoces. Nous proposons d'effectuer ce suivi à l'aide de l'imagerie sans lentille grand champ.

Matériels et méthodes :

L'imagerie sans lentille consiste à acquérir des images d'un échantillon directement déposé à la surface d'un capteur d'imagerie, sans utiliser d'objectif optique. On dépose sur le capteur une boîte de Petri contenant une gélose ensemencée avec une bactérie et un phage. La boîte est imagée à intervalle de temps réguliers et les images sont analysées par un algorithme permettant la détection et le comptage des PFU. Cela permet respectivement d'évaluer la susceptibilité de la bactérie au phage et de déterminer le titre infectieux. De plus, on peut étudier la cinétique de croissance de chaque PFU. Enfin, la taille des pixels du capteur (4.3 μm), permet de visualiser l'apparition de micro-colonies de clones phagorésistants au sein des PFU.

Résultats, discussion et conclusion :

Nous avons fabriqué un premier prototype équipé d'un capteur avec une grande surface d'analyse (3,3 cm²) permettant d'imager et d'analyser plusieurs dizaines de PFU. [1] Sur une souche de *Staphylococcus aureus*, on détecte l'apparition des premières PFU en 4 h et on détermine un titre infectieux en 8h. Ce dernier diffère d'environ 30 % par rapport à celui déterminé avec la méthode DLA.

De plus, l'étude cinétique montre qu'une variabilité du rayon final des PFU (entre 175 et 520 μm après 22h d'incubation sur notre exemple) est associée à une variabilité de la vitesse de croissance (entre 15 μm/h et 40 μm/h), cela pour une même bactérie hôte et une même souche virale. Enfin, nous visualisons l'apparition de micro-colonies de *Klebsiella pneumoniae* phagorésistantes au sein de PFU.

L'imagerie sans lentille grand champ est un outil versatile qui permet d'étudier différents aspects relatifs à l'interaction phage/bactérie en milieu gélosé.

Mots clés : phagothérapie - test de susceptibilité - imagerie sans lentille - phagogramme - diagnostic.

Références :

1. Perlemoine P, Marcoux PR, Picard E, Hadji E, Zelsmann M, Mugnier G, et al. Phage susceptibility testing and infectious titer determination through wide-field lensless monitoring of phage plaque growth. PLOS ONE. 2021;16(3):e0248917.

Conférence plénière

Microbiote humain : 20 ans d'étude

Joël Dore

INRAe, Jouy-en-Josas, France

Résumé non parvenu

SP34 Réponse de l'hôte à l'infection virale**SP34-O.1**

Virologie

Virome and autoimmune diseasesIlka Engelmann (ilka.engelmann@chru-lille.fr)*Virologie, ULR3610, Université Lille, CHU Lille, Lille, France*

Technical progress provided new insights into the human virome. The virome comprises all viruses present in or on the human body. The virome consists of phages and viruses of eukaryotes, either pathogenic, opportunistic or commensal. Furthermore, endogenous viruses, integrated in the human genome, are part of the virome. The virome interacts with and influences the microbiome. Importantly, the virome and the microbiome shape the immune and inflammatory response.

Autoimmune diseases are characterized by an immune response directed against self-antigens. Viruses have been suspected to be linked to the development of autoimmune diseases, e. g. type 1 diabetes (T1D). Autoantibodies against pancreatic antigens are detected before the clinical manifestation of T1D.

Cohort studies of newborns followed until development of autoantibodies or T1D were performed to elucidate the association of viruses with T1D. Changes in the composition of the intestinal virome preceded the development of autoantibodies. First, the virome was less diverse in cases compared to controls. Second, a higher abundance of *Circoviridae*-related sequences were found in controls in comparison with cases. Third, bacteriophages populations differed between cases and controls. Fourth, prolonged detection of enterovirus B in stool samples was associated with development of autoantibodies.

The most robust association between viruses and T1D concerns enteroviruses. Enterovirus RNA or protein have been detected in blood, stool, or pancreatic tissue from patients with T1D. Enteroviruses can establish persistent infection *in vivo* and *in vitro*. Of interest, enteroviruses can establish persistent infection in human pancreatic islets and beta cells. Enteroviral infections can lead to beta cell death and decreased insulin secretion. Persistent enterovirus infection can stimulate the innate immune system and drive inflammation and autoimmunity.

In next generation sequencing studies, a large proportion of the intestinal virome sequences did not align to known sequences in databases. Their further study may contribute to the elucidation of the etiology of type 1 diabetes and other autoimmune diseases.

In conclusion, studies of the virome are in their infancy but rapidly progressing due to technical advancements. Their association with T1D and other autoimmune diseases needs to be further studied and may shed light on the pathophysiology of these diseases.

Mots clés : Virome - Autoimmune disease - Autoimmunity - Enterovirus - Diabetes.

SP34 Réponse de l'hôte à l'infection virale

SP34-1

Virologie

Évolution de la réponse humorale et risque de réinfection jusqu'à 13 mois après une infection par le SARS-CoV-2

Floriane Gallais^{1,2} (floriane.gallais@chru-strasbourg.fr), Pierre Gantner^{1,2}, Timothée Bruel^{3,4,5}, Aurélie Velay^{1,2}, Delphine Planas^{3,4,5}, Marie-Josée Wendling¹, Sophie Bayer⁶, Morgane Solis^{1,2}, Elodie Laugel^{1,2}, Nathalie Reix⁶, Anne Schneider⁷, Ludovic Glady⁶, Baptiste Panaget¹, Nicolas Collongues⁸, Marialuisa Partisani⁹, Jean-Marc Lessinger⁶, Arnaud Fontanet^{10,11}, David Rey⁹, Yves Hansmann¹², Laurence Kling-Pillitteri¹³, Olivier Schwartz^{3,4,5}, Jérôme De Sèze⁸, Nicolas Meyer¹⁴, Maria Gonzalez¹³, Catherine Schmidt-Mutter⁸, Samira Fafi-Kremer^{1,2}

¹ Laboratoire de Virologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

² INSERM, IRM UMR-S 1109, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

³ Unité Virus & Immunité, Département de Virologie, Institut Pasteur, Paris, France

⁴ UMR 3569, CNRS, Paris, France

⁵ Institut de Recherche Vaccinale, Créteil, France

⁶ Laboratoire de Biochimie Clinique et Biologie Moléculaire, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

⁷ Département de Génétique Moléculaire du cancer, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

⁸ Centre d'investigation Clinique INSERM 1434, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

⁹ Le Trait d'Union, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

¹⁰ Unité Épidémiologie des maladies émergentes, Département de Santé Publique, Institut Pasteur, Paris, France

¹¹ Unité PACRI, Conservatoire National des Arts et Métiers, Paris, France

¹² Service des maladies infectieuses et tropicales, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

¹³ Service de Pathologies Professionnelles, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

¹⁴ Service de santé Publique, GMRC, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Introduction et objectifs :

Notre décrivons la dynamique de la réponse humorale contre le SARS-CoV-2 chez des soignants jusqu'à 13 mois après infection. Le risque de réinfection a été évalué pendant cette période en comparaison de celui de primo-infection chez des sujets naïfs.

Matériel et méthodes :

Cette étude longitudinale prospective porte sur le suivi de 1309 soignants des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, dont 393 infectés au cours de la première vague en France, et 916 séronégatifs à l'inclusion en avril 2020. Les anticorps sériques IgG anti-protéine Spike (S) et anti-Nucléocapside (N) ont été dosés à un mois (M1), M3-6, M7-9 et M11-13 après le début des symptômes. La sensibilité de la souche mutante D614G et des variants préoccupants B.1.1.7 et B.1.351 aux anticorps anti-S a été caractérisée par test de neutralisation sur virus entier chez 28 participants un an après l'infection, dont 13 secondairement vaccinés et 15 non vaccinés.

Résultats, discussion et conclusion :

Chez les sujets convalescents, les titres d'anticorps anti-SARS-CoV-2 ont modérément baissé de M1 à M7-9, avec une décroissance plus rapide observée chez les hommes. Les anticorps anti-N ont ensuite drastiquement diminué jusqu'à M11-13 tandis que les anticorps anti-S se sont stabilisés (demie-vie de 725 jours) à une valeur médiane de 2,39 log Unités Arbitraires (AU)/mL. Au cours du suivi, 12,22 primo-infections pour 100 personnes-années sont survenues chez les soignants séronégatifs et 0,40 réinfections chez les convalescents, indiquant une réduction relative de l'incidence de 96,7%. Un titre de neutralisation de plus de 2 log CI50 était atteint pour les variants D614G et B.1.1.7 avec un titre d'IgG anti-S de 2,3 log AU/mL, et pour les trois variants avec un titre de 3 log AU/mL. Ce dernier titre a été atteint chez tous les soignants convalescents vaccinés, indépendamment du titre pré-vaccinal, du nombre de doses ou du type de vaccin. Cette étude montre une persistance à long terme des anticorps IgG anti-S jusqu'à au moins 13 mois après infection avec un rôle probable dans la protection contre les réinfections. La vaccination des sujets convalescents permet de considérablement augmenter les titres d'anticorps neutralisants contre les variants, sans nécessité d'une deuxième dose.

Mots clés : SARS-CoV-2 - COVID-19 - Anticorps - Réinfection - Vaccination.

SP34 Réponse de l'hôte à l'infection virale

SP34-2

Virologie

Infections à Aichi virus chez les sujets présentant un déficit immunitaire héréditaire

Jacques Fourgeaud^{1,2} (jacques.fourgeaud@aphp.fr), Philippe Perot², Mathilde Lecuit³, Béatrice Regnault², Delphine Chrétien², Maël Bessaud⁴, Franck Bielle⁵, Danielle Seilhean⁵, Julie Bruneau⁶, Anne Jamet⁷, Agnes Ferroni⁷, Marianne Leruez-Ville¹, Marc Eloit², Bénédicte Neven³

¹ Laboratoire de virologie, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France

² Laboratoire de Découverte de Pathogène, Institut Pasteur Paris, Paris, France

³ Service d'immunologie et hématologie pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France

⁴ Populations virales et pathogénèse, Institut Pasteur Paris, Paris, France

⁵ Service de Neuropathologie, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière - Charles Foix, APHP, Paris, France

⁶ Service d'anatomie pathologie, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France

⁷ Laboratoire de microbiologie, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France

Introduction et objectifs :

Le virus Aichi (AiV) est un virus ubiquitaire de la famille des *Picornaviridae* et est associé à des gastro-entérites aiguës chez le sujet immunocompétent. Le service de Microbiologie clinique de l'Hôpital Necker et le Laboratoire de Découverte de Pathogène de l'Institut Pasteur de Paris se sont associés dans un projet de métagénomique clinique pour la recherche d'agents pathogènes. Cette technique utilisée à but diagnostique a permis la détection des séquences d'AiV dans deux biopsies hépatiques, une biopsie de rate et une biopsie de ganglionnaire chez trois patients ayant une agammaglobulinémie de Bruton (XLA) ou un déficit immunitaire combiné sévère (SCID) hospitalisés dans un contexte d'atteinte hépatique inexplicée. L'objectif de l'étude est de démontrer la causalité de l'AiV dans les symptômes de ces trois enfants porteurs d'un déficit immunitaire héréditaire.

Matériels et méthodes :

1) Le typage moléculaire des 3 virus par séquençage du gène VP1 2) La mise en évidence du génome viral dans les tissus hépatiques, spléniques et ganglionnaire par hybridation *in situ* chromogénique (CISH) 3) La quantification du génome viral dans les prélèvements supplémentaires chez le sujet XLA par qPCR.

Résultats, discussion et conclusion :

Nous avons détecté par métagénomique et confirmé par PCR trois AiV différents de génotype B dans les tissus lésionnels de trois sujets sans co-infection par un autre pathogène. Le génome du AiV a été mis en évidence par CISH dans le cytoplasme des hépatocytes du patient XLA et dans les tissus spléniques et ganglionnaire d'un patient SCID. Le suivi pendant une année de la charge virale AiV du patient XLA a permis de montrer une excrétion prolongée du virus dans les selles, les urines et le plasma ainsi que la réversibilité des symptômes parallèlement à la clairance virale à la suite de la greffe de cellules souches hématopoïétique. Cette association dans un contexte d'infection chronique à AiV a également été rapportée par Buccioli et al en 2018. Ce nouveau rôle probable d'un virus entérique chez des sujets XLA rappelle celui des infections chroniques à entérovirus ou à norovirus.

Mots clés : Aichi virus - Metatranscriptomique - Déficit immunitaire héréditaire - Bruton - Hybridation *in situ*.

SP34 Réponse de l'hôte à l'infection virale**SP34-3**

Virologie

Intérêt de la quantification des Torque Teno Virus chez les patients pris en charge aux urgences pour une infection à SARS-CoV-2

Amandine Caillault¹ (Amandine.CAILLAULT2@aphp.fr), Linda Feghouli¹, Maud Salmona¹, Marie-Laure Nere¹, Constance Delaugerre¹, Elie Azoulay², Olivier Peyrony³, Jérôme Le Goff¹

¹ Laboratoire de Virologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

² Service de Médecine intensive, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

³ Service des urgences, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

Introduction :

Le Torque Teno Virus (TTV) est un virus non enveloppé, à ADN simple brin, circulaire, de polarité négative, et appartenant à la famille des Anelloviridae. Ils sont actuellement considérés comme non pathogènes. Toutefois, leur réplication est étroitement liée au statut immunitaire et est utilisé comme marqueur de suivi de l'état d'immunosuppression chez les patients transplantés. Les voies respiratoires supérieures sont un des site d'entrée et de réplication primaire pour les TTV. La réplication active des TTV à ce niveau pourrait être un facteur aggravant des maladies respiratoires car cela augmente l'inflammation locale.

Nous supposons alors qu'une réactivation plus fréquente et à des charges virales plus élevées de TTV pourrait se produire chez les patients infectés par le SARS-CoV-2 et nécessitant des soins intensifs, par rapport aux patients ambulatoires également infectés.

Méthode :

L'objectif de l'étude était de comparer la fréquence de réactivation et la quantification TTV dans les échantillons respiratoires des patients infectés par le SARS-CoV-2, au moment de l'admission aux urgences, entre ceux nécessitant une hospitalisation en réanimation (REA) et ceux pouvant rentrer à domicile (RAD). Entre le 9 mars et le 6 mai 2020, 137 écouvillons nasopharyngés ont été collectés incluant 45 dans le groupe REA et 92 dans le groupe RAD. La détection et la quantification du TTV a été effectuée par RT-PCR en temps réel avec le test TTV R-Gene (BioMérieux). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad, utilisant un test du Chi-2 et un test de Student.

Résultats :

La proportion d'échantillons positifs au TTV était significativement plus élevée dans le groupe REA (80%) que dans le groupe RAD (50%) ($p=0,0002$). Parmi les positifs, la charge virale TTV médiane était significativement plus élevée dans le groupe REA (3.0 log copies/mL) que chez les RAD (2.2 log copies/mL) ($p=0,0012$). Quinze patients sont décédés dans le groupe REA. Parmi les patients en réanimation, la charge virale TTV était significativement plus élevée chez les patients décédés que chez les patients en vie, avec des médianes respectives de 3,9 et 2,9 log copies/mL ($p=0.0003$).

Conclusion :

La réactivation TTV était plus fréquente et à des niveaux plus élevés chez les patients infectés par le SARS-CoV-2 et nécessitant une prise en charge en soins intensifs. Ces résultats suggèrent que la charge virale TTV respiratoire peut être un témoin de l'immunodépression fonctionnelle dans l'infection SARS-CoV-2 et marqueur prédictif d'aggravation.

SP35-T Dynamiques microbiennes : de la cellule à la communauté microbienne (en association avec la FFBiotech)**SP35-T-O.1****Modélisation par contraintes pour comprendre les interactions microbiennes via des mesures incomplètes**Damien Eveillard*LS2N - Université de Nantes, Nantes, France*

Résumé non parvenu

SP35-T Dynamiques microbiennes : de la cellule à la communauté microbienne (en association avec la FFBiotech)**SP35-T-1****Les inhibiteurs métaboliques induisent des changements populationnels en fermentation mixte microbienne**

Marie Noguier (marie.noguier@inrae.fr), Renaud Escudé, Nicolas Bernet, Eric Trably

UR0050, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement (LBE), INRAE, Narbonne, France

Introduction et objectifs :

La fermentation sombre est un procédé biologique à faible impact environnemental [1] qui permet de valoriser des déchets organiques en biohydrogène. Les rendements en biohydrogène sont néanmoins limités par des inhibitions causées par l'accumulation d'acides dans le milieu de culture au cours de la fermentation [2]. Même si les mécanismes d'inhibition par ces acides ont été étudiés en culture pure [3-4], nous n'avons à ce jour que peu d'informations sur l'impact de l'accumulation de sous-produits métaboliques sur les communautés microbiennes.

Matériels et méthodes :

Nous avons pour cela étudié les effets de l'ajout d'acétate, de butyrate et de lactate de 25 à 400mM sur la fermentation de glucose en batch en utilisant une culture mixte issue d'une station d'épuration. La dégradation du glucose, la production de métabolites solubles et gazeux ainsi que les communautés microbiennes regroupées en OTUs ont été analysées. Une analyse exploratoire des données, une modélisation de l'inhibition ainsi qu'une analyse des diversités bêta et alpha ont été réalisées.

Résultats, discussion et conclusion :

L'étude montre que, quel que soit l'acide, son ajout induit une modification des voies métaboliques et une diminution de la production d'hydrogène dès 50 mM. Cette diminution est due à un détournement des voies métaboliques productrices d'hydrogène vers la production de lactate lorsque du butyrate ou de l'acétate sont ajoutés, tandis que l'ajout de lactate provoque une diminution de l'activité microbienne globale de dégradation du glucose. Des changements de communautés microbiennes ont été observés, associés à ces changements métaboliques. Ainsi, les ajouts d'acétate et de lactate favorisent la croissance de *Lactobacillus sp.* alors que l'ajout de butyrate favorise la croissance de *Bacillus sp.* De plus, aux fortes concentrations en acide ajouté, une forte diminution de la diversité microbienne a été observée. A notre connaissance, ces résultats permettent d'identifier pour la première fois que l'inhibition de la production d'hydrogène par les acides en culture mixte est associée à un changement populationnel. L'identification des espèces bactériennes favorisées en présence des acides et la détermination des seuils d'inhibition constituent des éléments clés pour contrôler les procédés de fermentation pour la production d'hydrogène.

Mots clés : Biohydrogène - Fermentation sombre - Clostridium - Inhibition - lactate.

Références :

1. Dincer I, Acar C. 2014. Review and evaluation of hydrogen production methods for better sustainability. Int J Hydrogen Energy 40:11094–11111.
2. Van Ginkel S, Logan BE. 2005. Inhibition of biohydrogen production by undissociated acetic and butyric acids. Environ Sci Technol 39:9351–9356.
3. Russell JB. 1992. Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH : anion accumulation versus uncoupling. 363–370.
4. Tang J, Yuan Y, Guo WQ, Ren NQ. 2012. Inhibitory effects of acetate and ethanol on biohydrogen production of *Ethanoligenens harbinense* B49. Int J Hydrogen Energy 37:741–747.

SP35-T Dynamiques microbiennes : de la cellule à la communauté microbienne (en association avec la FFBiotech)**SP35-T-2****Characterization of the diversity of viruses infecting methanogens in anaerobic digestion processes by shotgun sequencing metagenomics**

Hoang Ngo¹ (hoang.ngo@inrae.fr), Cédric Midoux^{1,2}, Chrystelle Bureau¹, Angéline Guenne¹, Nadine Derlet¹, Valentin Loux², Laurent Mazéas¹, Olivier Chapleur¹, Théodore Bouchez¹, François Enault³, Mart Krupovic⁴, Ariane Bize¹

¹ PROSE, INRAE, Antony, France

² Maïage, INRAE, Jouy en Josas, France

³ LMGE, CNRS, Clermont-Ferand, France

⁴ BMGE, Institut Pasteur, Paris, France

Introduction and objectives:

Viruses of microbes are recognized as major drivers of ecosystem functioning. However, deciphering the specificity of host-microbes interaction in communities of uncultured microbes remains an important bottleneck in microbial ecology. In this contribution, we focus on the viral diversity in anaerobic digestion (AD) plants which is still poorly characterized(1). We developed a laboratory-scale study based on metagenomics and stable isotope probing (SIP) to identify viruses associated to uncultured methanogenic archaeal populations.

Material and methods:

We used ¹³C-labeled formate, a substrate for methanogenesis, to both enrich and label formate-consuming methanogens in AD microcosms. We separated cellular and viral DNAs by SIP, according to their mass density, by ultracentrifugation on a CsCl gradient. The total cellular DNA and the three cellular DNA fractions separated by SIP were sequenced by Illumina NextSeq. Shotgun metagenomic data served for the construction of Metagenome Assembled Genomes (MAGs) and of a spacer database, thanks to spacer detection in contigs. Shotgun metaviromes were also obtained. In order to identify the possible hosts of viruses, we aligned the viral contigs against the metagenome-based spacer database, as well as a public spacer database (<https://crisprcas.i2bc.paris-saclay.fr/>).

Results and discussion:

We showed by SIP and 16S rDNA metabarcoding that the microbial community had been enriched in *Methanobacterium* species, which were also enriched in the heavy DNA fraction.

We estimate that about 15 viral contigs longer than 3 kb may originated from viruses of methanogens. Among them, three could be novel viral genomes that are not related to known viruses; according to the presence of an encoded structural protein, one of them is likely a novel spindle-shape virus, a morphotype specific for archaeal viruses which was also observed by transmission electron microscopy.

Conclusions:

In this contribution, we showed the innovative use of DNA-SIP methodology to identify viral populations associated to key functional groups contributing to biogeochemical fluxes in communities of uncultured microbes. This approach should greatly develop the knowledge on the diversity of viruses of methanogens in AD ecosystems.

Mots clés : Viral ecology - Methanogenic archaea - Isotopic labelling - Metagenomics - Bioinformatics.

Références :

1. Calusinska M, Marynowska M, Goux X, Lentzen E, Delfosse P. 2016. Analysis of dsDNA and RNA viromes in methanogenic digesters reveals novel viral genetic diversity. Environ Microbiol. 18(4):116275.

SP35-T Dynamiques microbiennes : de la cellule à la communauté microbienne (en association avec la FFBiotech)

SP35-T-3

Microbial dynamics and methanogenic activity during start-up of twelve replicated anaerobic digestersBaptiste Quentin (baptiste.quentin@inrae.fr), Séverine Lasne, Olivier Chapleur*PRocédés biotechnologiques au Service de l'Environnement, Université Paris-Saclay, INRAe, Antony, France***Introduction and main purposes:**

Anaerobic digestion is a promising solution for waste reduction and biogas production. This process is driven by a complex microbial community mainly composed of archaea and bacteria that collaborate to degrade organic matter into methane. They form a tenuous equilibrium, structured by a complex network of interactions. However, the evolution of these ecosystems after their start-up is not fully understood in mesophilic conditions. Whether the microbial communities evolution follows a deterministic or a stochastic trajectory is not clear. Knowing it would be useful to better operate anaerobic digesters on the long run.

Materials and methods:

Twelve replicate semi-continuously fed stirred anaerobic digesters were set-up and operated in parallel. They were inoculated with sludge from another digester and fed with biowaste. Biowaste degradation was monitored by measuring biogas production and composition, as well as dissolved organic and inorganic carbon and volatile fatty acids concentrations. Metabolic pathway of methane production was determined using measurements of the carbon isotopic fractionation in the biogas. Microbial dynamics were followed with sequencing. Both DNA and RNA were extracted from 104 samples taken at different dates in the 12 digesters. They were used for 16S rRNA gene and rRNA metabarcoding, to get insight on both the present and the active microorganisms. Data were analyzed with different multivariate approaches to assess whether microbial community evolution followed stochastic or deterministic trajectories.

Results, discussion and conclusion:

A progressive evolution of microbial communities through time was observed in all the digesters. It was correlated between the twelve replicates, which suggests that the set parameters (such as organic loading rate, substrate composition, ...) had a strong deterministic effect on the anaerobic digestion process.

Comparison of 16 rRNA and rRNA gene metabarcoding showed that the most abundant microorganisms were not necessarily the most active ones: for instance, relative abundance of Nanoarchaeota *Woesearchaeales* was two to four times less important in RNA than in DNA metabarcoding after ten weeks.

Mots clés : Biotechnologies - Anaerobic digestion - Microbial ecology - Determinism.

SP35-T Dynamiques microbiennes : de la cellule à la communauté microbienne (en association avec la FFBiotech)**SP35-T-4****Wastewater Reuse: the fate of mobile genetic elements vector of antibiotic resistance in the circular economy**

Nicolas Gallois¹ (galloisnicolas.ng@gmail.com), Daniel Youdkes², Fernando Saso², Iakovos C. Iakovides³, Vasiliki Beretsou³, Despo Fatta-Kassinou³, Célia Manaia⁴, Eddie Cytryn², Christophe Merlin¹

¹ LCPME - UMR 7564 CNRS-Université de Lorraine, CNRS, Vandoeuvre-les-Nancy, France

² Department of Soil Chemistry, The Volcani Institute, Agricultural Research Organization, Tel-Aviv, Israël

³ Department of Civil and Environmental Engineering and Nireas-International Water, School of Engineering, University of Cyprus, Nicosie, Chypre

⁴ Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina, Escola Superior de Biotecnologia, Porto, Portugal

Water scarcity is an emerging concern affecting billions of people all over the world. Reuse of treated wastewater (TWW) for crop irrigation is of prime importance for ensuring food security in water-stressed environments, especially in the perspective of increasing global populations and climate change. Conventional treatment processes need to be revisited in the context of TWW reuse to fulfill different effluent quality requirements that are vital for maintaining public and environmental health and soil fertility. Major TWW quality and safety threats include bacterial and viral pathogens, antibiotic-resistant bacteria (ARB), antibiotic resistance genes (ARGs) and mobile genetic elements (MGEs), salinity and contaminants of emerging concern (CECs), which persistence in reclaimed water can potentially compromise soil quality and food safety. In this work, metagenomics analysis and a set of MGEs associated with ARGs have been used to monitor wastewater treatment modules developed in framework of the DSWAP project, aiming their optimization.

Cost- and energy-efficient treatment processes have been developed for TWW reuse for agricultural purpose. A toolbox with various methodologies for analyzing plant, soil, and water samples was generated, and tested on samples from field in Cyprus and Israel. Physico-chemical parameters, CECs concentrations and microbiological agents were monitored in waters, plant and soils. The persistence of bacterial/viral pathogens, ARGs and MGEs (*i.e.* class 1 integron, SXT/R391, Tn916/Tn1545, IncP) was evaluated by molecular approaches (*i.e.* metagenomic sequencing, real-time PCR, droplet digital PCR).

Israel soils irrigated with TWW displayed an increased salinity, highlighting the probable alteration of soil agricultural performance and a necessity to control salinity. The metagenomic analysis of Cyprus and Israel samples revealed the contrasts between TWW and soil molecular signatures, allowing the identification of biomarkers, including ARGs, to monitor the TWW footprint in soil. The quantification of specific MGEs along the entire process demonstrates that storing reclaimed water either in tank or in open field reservoir reduces the relative abundance of MGEs in the population (MGE/rDNA 16S) from 7 to 14 times. With distinctive microbial communities, field reservoirs may be perceived as a natural ecological barrier to limit the persistence and invasion of ARGs, MGEs and pathogens.

Mots clés : Mobilome - Resistome - Wastewater treatment plant - ddPCR - Water reuse.

SP36 Recent advances in pathophysiology and treatment of infectious diseases**SP36-O.1**

Pathogénie

Streptococcus agalactiae* neonatal infection: the role of perinatal sex hormones**Asmaa Tazi (asmaa.tazi@aphp.fr)*Equipe Bactéries et Périnatalité, Institut Cochin - Université de Paris - AP-HP, Paris, FranceBackground:**

Streptococcus agalactiae (Group B *Streptococcus*, GBS) is the leading cause of invasive bacterial neonatal infections. Two neonatal syndromes are recognized, the early-onset disease (EOD) and the late-onset disease (LOD), which occur before and after 7 days of life, respectively. LOD are largely due to a particular GBS clone designated the hypervirulent GBS CC17. However, CC17 invasion route and the factors involved in its association with LOD remain elusive. We studied the impact of estradiol (E2) and progesterone (P4) to which the neonate is exposed during fetal life on the pathophysiology of GBS infections.

Methods:

Cellular and mouse models of hormonal impregnation corresponding to concentrations found at birth (E2-P4 C₀) and over 7 days old (E2-P4 C₇) were set up. Intestinal cells were cultured on transwell inserts to address bacterial transcytosis through the cellular layer. Mice were gavaged orally to investigate bacterial capacity to cross the intestinal barrier. Bacterial association with intestinal cells and tissues was measured by confocal microscopy and colony forming units (CFU) counts. Gene expression was quantified by RT-qPCR and protein expression by western-blot.

Results:

We demonstrate that E2-P4 C₇ concentrations favor the severity of CC17 GBS meningitis following mice oral infection. GBS CC17 crosses the intestinal barrier through M cells in a process dependent on the CC17 specific surface protein Srr2. Besides, GBS CC17 association with M cells is enhanced by E2-P4 C₇ concentrations which promote M cells maturation and transcytosis capacities.

Conclusion:

We uncovered the cellular pathway for GBS CC17 intestinal translocation and provide an explanation for neonate susceptibility to GBS CC17 LOD.

Mots clés : *Streptococcus agalactiae* - Group B *Streptococcus* - Sex hormones - Intestinal barrier - M cell.

SP36 Recent advances in pathophysiology and treatment of infectious diseases**SP36-1**

Pathogénie

Neonatal susceptibility to the hypervirulent clone of Group B *Streptococcus* (GBS) in meningitis developmentJulie Guignot (julie.guignot@inserm.fr)

U1016 équipe bactéries et périnatalité, INSERM Institut Cochin, Paris, France

Group B *Streptococcus* (GBS) is the major cause of human neonatal infections. A single clone, designated CC17-GBS, accounts for more than 80% of meningitis cases, the most severe form of the infection. However, the events allowing blood-borne GBS to penetrate the brain remain largely elusive. In this study, we identified the host transmembrane receptors $\alpha 5b1$ and $\alpha vb3$ integrins as the ligands of Srr2, a major CC17-GBS specific adhesin. Two motifs located in the binding region of Srr2 were responsible for the interaction between CC17-GBS and these integrins. We demonstrated, in a blood-brain barrier cellular model, that both integrins contributed to the adhesion and internalization of CC17-GBS. Strikingly, both integrins were overexpressed during the post-natal period in the brain vessels of the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers and contributed to the juvenile susceptibility to CC17-meningitis. Finally, blocking these integrins decreased CC17-GBS crossing into the juvenile mice central nervous system in an *in vivo* model of meningitis.

Our study demonstrates that CC17-GBS exploits integrins for crossing the brain vessels leading to meningitis. Importantly, it provides host molecular insights into neonate's susceptibility to CC17-GBS meningitis, thereby opening new perspectives for therapeutic and prevention strategies of GBS-elicited meningitis.

Mots clés : Meningitis - Neonates - Blood brain barrier - Susceptibility.

SP36 Recent advances in pathophysiology and treatment of infectious diseases

SP36-2

Pathogénie

PPK, the Achilles' heel of pathogenic *E. coli* strains?

Min Tang (min.tang@inserm.fr)

INSERM IRSD U1220, Toulouse, France

Introduction and objectives:

Colibactin is a secondary metabolite produced primarily by *Escherichia coli* carrying the *pks* genomic island. Colibactin induces DNA damages in mammalian cells and has been linked to the virulence of *E. coli* and the promotion of colorectal cancer (CRC). Recent studies have provided strong evidence supporting the causative role of colibactin in human colorectal cancer (CRC) progression. However, understanding of the regulation of colibactin production is still far from complete. We therefore investigated the regulators involved in colibactin production.

Materials and methods:

The construction and validation of the promoter-reporter fusion of the gene *clbB* essential for colibactin production. The construction of a mutant library of the colibactin-producing *E. coli* containing the *clbB* promoter-reporter fusion. The screening of the mutant library to identify mutants having abnormal *clbB* promoter activity. The verification of the regulator involved in colibactin production by comparing the mutant and the wild type: quantification of the prodrug motif of colibactin, genotoxicity assay, DNA cross-linking assay and megalocytosis assay. The confirmation of the regulator by using its inhibitor.

Results, discussion and conclusion:

We found that a mutant of the gene coding for the polyphosphate kinase (PPK) produced less colibactin than the parental strain. We observed this phenotype in different strains ranging from pathogens responsible for meningitis, urinary tract infection or CRC to the probiotic Nissle 1917. We confirmed the role of PPK by using the inhibitor of PPK enzymatic activity, mesalamine (also known as 5-aminosalicylic acid). With the treatment of mesalamine, a decreased genotoxicity of colibactin-producing *E. coli* was observed both on epithelial cells and directly on purified DNA. This demonstrates that mesalamine has a direct effect on bacteria, which is independent from its anti-inflammatory effect on eukaryotic cells. Our results suggest that the mechanisms of action of mesalamine in treating inflammatory bowel diseases and preventing CRC could also lie in the inhibition of colibactin production. All in all, we demonstrate that PPK is required for the promoter activity of *clbB* and the production of colibactin, which suggests that PPK is a promising target for the development of anti-colibactin and anti-virulence strategies.

Mots clés : Colibactin - The *pks* island - Genotoxicity - Polyphosphate kinase - Mesalamine.

Références :

1. Min Tang-Fichaux, Camille V Chagneau, Nadège Bossuet-Greif, Jean-Philippe Nougayrède, Eric Oswald, Priscilla Branchu, 2020, mSphere, 5(6):e01195-20.

SP36 Recent advances in pathophysiology and treatment of infectious diseases**SP36-3**

Pathogénie

Positive selection of capsule and rapid emergence of hypervirulent traits in *K. pneumoniae*Amandine Buffet¹ (amandine.buffet@pasteur.fr), Eduardo Rocha^{1,2}, Olaya Rendueles-Garcia^{1,2}¹ *Génomique Evolutive des Microbes, Institut Pasteur, Paris, France*² *UMR3525, CNRS, Paris, France*

Half of the bacterial diversity codes for a capsule, an extracellular layer covering the cell wall. It is a major virulence factor as it increases resistance to the immune system and poses a significant threat to the efficacy of antibiotic treatments. It is present in all ESKAPE (multi-drug resistant) pathogens including *Klebsiella pneumoniae* (Kpn). Kpn is an ubiquitous enterobacteria and a nosocomial pathogen responsible for, among others, urinary infections and liver abscesses. Recently, hypervirulent lineages have emerged and are characterized by an elevated capsule production leading to a hypermucoviscous phenotype.

Many works suggest that the host could be the main driver of capsule maintenance and evolution, however, we have recently reported that most non-pathogenic bacteria had capsules. Thus, to further understand which environments and selective pressures govern capsule evolution, we combined genetics and population biology techniques, and analyzed a diverse panel of 19 Kpn strains.

First, we show that in well-mixed environments, non-capsulated mutants rapidly emerge when nutrients are available, like in artificial sputum. Whole genome sequencing revealed that capsule inactivation was mostly caused by mutations in *wcaJ* gene, the first enzyme of the capsule biosynthesis pathway. Competition experiments between wild type and their isogenic capsule mutants revealed that the capsule cost was *ca.* 20%. By contrast, the capsule was maintained and provided a strong fitness advantage in low-nutrient environments, including artificial urine. This reveals that small changes in nutrient accessibility can affect capsule maintenance, and suggest that the capsule can also be positively selected and play an important role outside the host.

Then, we allowed two hypervirulent and one environmental strain to evolve for ~700 generations in structured environments. Capsulated clones were largely predominant in most populations across all environments. Worryingly, we observed both the increase and *de novo* evolution of hypermucoviscosity in the clinical strains and the environmental strain, respectively, even when grown in soil.

Taken together, our results highlight that even in the absence of biotic stresses, the capsule can be maintained and evolve in such a way that it leads to the emergence of hypervirulent phenotypes as a mere by-product of bacterial adaption outside the host.

Mots clés : Hypervirulence - Capsule - Selection - Mucoviscosity - Nosocomial pathogen.

SP36 Recent advances in pathophysiology and treatment of infectious diseases**SP36-4**

Pathogénie

***In vivo* expression kinetics of the PagN *Salmonella* entry factor**

Michael Koczerka (michael.koczerka@inrae.fr), Olivier Grépinet, Isabelle Lantier, Marie Morillon, Justine Deperne, Camille Clamagirand, Isabelle Virlogeux-Payant

UMR 1282 ISP INRAE, Université de Tours, Nouzilly, France

Introduction and aims: *Salmonella* are among the top-ranked foodborne pathogens, inducing a wide variety of diseases ranging from gastroenteritis to typhoid fever, depending on the infecting serovar, the host and its genetic background. As a facultative intracellular pathogen, it can induce its own internalization in non-phagocytic cells through at least 3 different bacterial factors: the SPI-1-encoded T3SS-1, and two outer membrane proteins, Rck and PagN. The *pagN* gene is part of the PhoP-PhoQ regulon, and was identified, through the use of *in vivo* expression technology, as a gene required for *Salmonella* Typhimurium survival in BALB/c mice [1]. It encodes for a widely conserved, 27 kDa protein displaying both structure and function homology with the proteins Hek and Tia of *E. coli*. This invasin allows *Salmonella* to invade cells through a Zipper-like mechanism, following interaction with heparan sulfate proteoglycans [2, 3]. However, its precise role *in vivo* remains to be determined including the cells targeted by this invasin. In this study, we aimed to precisely determine the kinetics of expression of this entry factor in mice. Material and methods: Bioluminescent *S. Typhimurium* reporter strains carrying transcriptional fusions were used to track the transcription of *pagN* in three murine models reproducing the different pathologies induced by *Salmonella*: typhoid fever, gastroenteritis and asymptomatic carriage.

Results, discussion and conclusion: We observed a transcription of *pagN* in the intestine independently of the genetic background of the host and the inflammatory state of the animals. Moreover, *pagN* transcription was detected at later time points in lymphoid organs following the systemic spread of the pathogen in the typhoid fever reproducing model. This result demonstrates for the first time that *pagN* is expressed in the intestine and that its expression is different according to the pathology induced by *Salmonella*.

Further analyses are in progress, focusing on the identification of the cells targeted by PagN.

Mots clés : Salmonella - PagN - Virulence - Expression - Bioluminescence.

Références :

1. Heithoff DM, Conner CP, Hanna PC, Julio SM, Hentschel U, Mahan MJ. 1997. Bacterial infection as assessed by *in vivo* gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*. 94:934-9.
2. Barilleau E, Vedrine M, Koczerka M, Burlaud-Gaillard J, Kempf F, Grépinet O, et al. 2021. Investigation of the invasion mechanism mediated by the outer membrane protein PagN of *Salmonella* Typhimurium. *BMC Microbiol*. 21:153.
3. Lambert MA, Smith SG. 2009. The PagN protein mediates invasion via interaction with proteoglycan. *FEMS Microbiol Lett*. 297:209-16.

SP37 Innovations pédagogiques dans l'enseignement de la microbiologie : comment booster votre enseignement ?**SP37-O.1****Innovations pédagogiques : what's next??**Christelle Lison*Canada*

Résumé non parvenu

SP37 Innovations pédagogiques dans l'enseignement de la microbiologie : comment booster votre enseignement ?**SP37-1****Intégration d'un Escape Game dans un parcours pédagogique**

Julien Delmas¹ (julien.delmas@uca.fr), Héloïse Chat², Guillaume Dalmasso¹, Audrey Mirand³, Laurence Hamon⁴, Ha Robin-Tran⁴

¹ Service de bactériologie, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

² M2iSH, Inserm U1071, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

³ Service de virologie, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

⁴ Pôle Ingénierie Pédagogique et Production Audiovisuelle, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Le projet pédagogique « RAMSES – des résultats bruts aux messages scientifiques » est une expérimentation pédagogique retenue dans l'appel à projets Soutien à l'Innovation Pédagogique dédié à l'approche par compétences de l'Université Clermont Auvergne. Son objectif était de faire acquérir par les étudiants de Master I des compétences nécessaires pour transformer des données expérimentales en un message scientifique clair.

Plusieurs méthodes pédagogiques, dont l'Escape Game (EG), étaient utilisées afin de stimuler l'implication des étudiants. Le choix de l'EG comme support pédagogique s'est imposé parce qu'il permet de vérifier les acquis des étudiants sous une forme ludique tout en nécessitant un travail collaboratif. La construction du scénario et la création des énigmes reposaient sur l'intégration de différentes techniques couramment utilisées en science et l'exploitation de données brutes. Les étudiants ont formé leurs équipes qui comprenaient 3 à 5 joueurs. L'EG d'une durée d'une heure a été rejoué 5 fois. Il a eu lieu en salle de travaux pratiques qui simulait le laboratoire d'un étudiant en thèse. Les deux enseignants présents à l'EG orientaient les joueurs en cas d'impasse et apportaient des explications scientifiques complémentaires à la demande des étudiants. La semaine d'après, un débriefing collectif a repris les différentes énigmes et techniques évoquées.

L'évaluation de l'EG s'est faite à travers un portfolio numérique et un entretien de 20 minutes entre l'étudiante de l'équipe pédagogique et des groupes de 3 à 4 étudiants de Master. Les étudiants ont fortement adhéré à cette activité et leur témoignage rapporte une impression d'amélioration de leurs compétences scientifiques et sociales : capacité à exploiter des résultats, à travailler dans un temps requis, à travailler en équipe en communiquant et en se répartissant les tâches, ...). Il en est également ressorti que l'observation des étudiants lors de l'EG est une excellente méthode pour les enseignants de révéler les compétences et le savoir-être des individus qui pourraient difficilement se deviner sans ce catalyseur.

En conclusion, l'EG est un réel dispositif pédagogique permettant de motiver les étudiants, d'évaluer leur niveau de maîtrise de compétence et de travailler l'évaluation formative. Il apparaît donc complémentaire des systèmes d'évaluation des connaissances.

Mots clés : Approche par compétences - Évaluation formative - Escape game - Pédagogie - Master.

SP37 Innovations pédagogiques dans l'enseignement de la microbiologie : comment booster votre enseignement ?**SP37-2****Résultats de notre enquête nationale via la SFM sur les enseignements distanciés en Microbiologie**Mathilde Lescat¹ (mathilde.lescat@aphp.fr), Julie Marin²¹ *Microbiologie, APHP Avicenne, Bobigny, France*² *Université Sorbonne Paris Nord, Bobigny, France*

L'épidémie de coronavirus de 2019 a incité toutes les universités à modifier complètement leurs enseignements de manière très rapide dans le monde entier. En France, la plupart des cours universitaires pour l'année 2020 ont dû être dispensés à distance. Cela pourrait être l'occasion pour certains de repenser la place et la forme de l'enseignement à distance. Nous avons ainsi réalisé début 2021 via la société Française de Microbiologie une enquête nationale auprès des enseignants de Microbiologie inscrits à la SFM et de leurs étudiants sur leurs retours d'expérience des enseignements à distance et des outils numériques favorisant l'interaction.

Nous avons reçu les réponses de 76 enseignants et 297 étudiants en majorité provenant de filières médicales (médecine et pharmacie). Leurs réponses montrent que, dans l'ensemble, l'organisation et les connexions Internet ont permis aux enseignements distanciés de bien se dérouler.

Il est intéressant de noter qu'une partie des enseignants (40%) et des étudiants (40%) étaient favorables au développement d'une solution mixte, avec des cours magistraux en distancié et des cours interactifs en présentiel. Une autre partie des enseignants (41%) et des étudiants (28%) au contraire préférait conserver un format « tout présentiel ». Une faible minorité des enseignants et étudiants souhaitait voir développer un format « tout distancié ». L'analyse des facteurs associés à ces observations est en cours et nous permettra de mieux comprendre la diversité de ces réponses.

Concernant l'utilisation d'un logiciel favorisant l'interaction, la majorité (31,4%) utilisaient Wooclap®, 46% un autre logiciel (MOODLE, Socrative...) et 22% n'utilisaient pas de logiciel. Lorsqu'un logiciel interactif était utilisé, son usage s'est avéré facile et à développer pour toutes les enseignements que ce soient pour les enseignants et les étudiants.

Cette étude basée sur une enquête nationale nous apporte des éléments intéressants à analyser afin d'apporter un regard réflexif sur les enseignements de Microbiologie et ainsi améliorer nos enseignements à l'avenir.

Mots clés : Distanciés - Enseignements - Microbiologie.

SP37 Innovations pédagogiques dans l'enseignement de la microbiologie : comment booster votre enseignement ?**SP37-3****La transdisciplinarité dans un jeu sérieux pour conduire une investigation de toxi-infection alimentaire et encourager la coopération entre vétérinaire et ingénieurs en agroalimentaire**

Géraldine Boué¹ (geraldine.boue@oniris-nantes.fr), Fanny Renois¹, Sébastien Lefebvre², Guillaume Bezier³, Thomas Fournier³, Louise Maspero Carel³, Marion Rousseau¹, Catherine Magras¹

¹ Oniris, Nantes, France

² VetAgro Sup, Marcy l'Etoile, France

³ ANR-11-IDFI-0003 Man-Imal, Nantes, France

Développer des compétences interdisciplinaires et des capacités à coopérer entre ingénieurs en agro-alimentaire et vétérinaires est indispensable en situation professionnelle de Toxi-Infection Alimentaire. Un jeu sérieux a été développé afin de favoriser la compréhension des étudiants sur la nécessité de mettre en place un dispositif de prévention des risques sanitaires tout au long du cycle de vie des denrées alimentaires (de la fourche à la fourchette), au travers de la résolution d'une enquête de Toxi-Infection Alimentaire.

Les compétences interconnectées ciblées sont abordées dans les enseignements respectifs aux deux cursus avant la réalisation du jeu sérieux (analyse de données, réalisation d'un diagnostic, connaissance des tableaux cliniques associés aux microorganismes, mise en place de plan HACCP (Analyse des Dangers et des Points Critiques pour leur Maîtrise) et traçabilité).

Le dispositif a été conçu comme un jeu plateau par trois enseignants-chercheurs en sciences vétérinaire et agro-alimentaire, avec le soutien de l'Idefi Man-Imal [1], d'un ingénieur pédagogique et d'une graphiste. Le scénario proposé aux apprenants est le suivant : ils sont appelés sur le lieu d'un banquet où plusieurs personnes sont malades. En 45 minutes, à l'aide d'indices sous forme de cartes à retourner sur 3 à 4 plateaux différents (la cuisine, les consommateurs, les aliments), ils doivent découvrir le couple aliment/pathogène responsable de cette maladie d'origine alimentaire.

Plusieurs tests auprès d'enseignants puis d'étudiants ont permis de valider la jouabilité, les buts de l'activité, le sentiment de contrôle, d'auto-efficacité, la qualité des feedback et les indicateurs du Flow du jeu. Ce dispositif a été évalué de façon très positive, il permet de décloisonner les disciplines entre vétérinaires et ingénieurs agroalimentaires et de placer les étudiants dans une démarche de diagnostic puis de préconisations dans un esprit collaboratif.

Mots clés : Pédagogie active - Compétences transversales - Coopération ingénieur agro-alimentaire et vétérinaire - Transdisciplinarité - Jeux sérieux.

Références :

1. Man-Imal est un IDEFI (Initiative d'Excellence en Formations Innovantes). Basé sur le concept «One World One Health», l'IDEFI MAN-IMAL a été créé en 2013 et propose un master international à partir d'enseignements multidisciplinaires (santé humaine, santé animale, agriculture et agro-alimentaire). Il promeut et accompagne la création de plusieurs autres pratiques pédagogiques innovantes, adossées au TICE notamment.

SP38 Peptides antimicrobiens (en association avec la SFPAM et le GTPAM)

SP38-O.1

Les mécanismes de résistance aux polymyxines chez *Pseudomonas aeruginosa*Katy Jeannot*Hôpital Jean Minjoz, Besançon, France*

Résumé non parvenu

SP38 Peptides antimicrobiens (en association avec la SFPAM et le GTPAM)

SP38-1

Chimiodiversité et biosynthèse des altérines : des peptides antibactériens produits par des bactéries marines du genre *Pseudoalteromonas*Hélène Cuny¹ (helena.cuny@univ-brest.fr), Benjamin Brillet¹, Romain Chevrot², Alexis Bazire³, Yannick Fleury¹¹ Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines LBCM EA 3884, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, Quimper, France² Littoral, ENvironnement et Sociétés LIENSs UMR CNRS 7266, Université de La Rochelle, La Rochelle, France³ Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines LBCM EA 3884, Université de Bretagne Sud, Lorient, France**Introduction et objectifs :**

Les bactéries marines constituent un réservoir de composés antimicrobiens largement sous-exploré. Nous avons utilisé les organismes sessiles filtreurs tels que les mollusques bivalves comme agents de sélection biologique. Cinq souches bactériennes du genre *Pseudoalteromonas* ont été isolées de l'hémolymphe d'huîtres *Crassostrea gigas* et *Ostrea edulis*, respectivement, pour leurs activités antimicrobiennes [1,2]. La structure des composés bioactifs a ensuite été élucidée révélant une nature cyclolipopeptidique originale. Ces métabolites, appelés altérines, sont composés d'un cycle peptidique cationique de 7 résidus d'acides aminés dont une leucine (Leu), une arginine (Arg) ainsi qu'une déhydrobutyryne (Dhb), des acides diaminobutyriques (Dab) et des monomères originaux β -hydroxy-Dab (Dab(β HO)). Le premier résidu du cycle est lié à une chaîne hydrocarbonée. Le mécanisme d'action des altérines a été élucidé. Ils agissent par perméabilisation de la membrane plasmique après liaison spécifique aux LPS des bactéries à Gram négatif. [3]. Cette étude a pour objectifs l'identification de leur mécanisme de biosynthèse par une approche génomique et l'analyse de leur diversité chimique.

Matériels et méthodes :

D'un point de vue biochimique, la diversité structurale des altérines dans les surnageants de culture a été évaluée par UPLC-HRMS. D'un point de vue génomique, l'analyse des génomes des 5 souches a été réalisée par une approche bio-informatique afin d'identifier un cluster de gènes de biosynthèse des altérines, notamment les voies non ribosomales.

Résultats, discussion et conclusion :

L'analyse de la chimiodiversité des altérines a révélé plus de 50 analogues allant de 453 à 998Da dont 38 structures ont été confirmées. Les variations dans la structure ont été observées au niveau de la longueur de chaîne d'acide gras de C8 à C13 et pouvant porter ou non, une hydroxylation et/ou insaturation.

Le système de biosynthèse des altérines a également été identifié. Il s'agit d'un système Non Ribosomal Peptide Synthetase (NRPS) d'environ 30kb ayant de deux gènes principaux codant des protéines NRPS de 360 kDa et 514 kDa. Ce système a été identifié chez les 5 souches de *Pseudoalteromonas* mais également chez la souche *Pseudoalteromonas* sp. HM-SA03. L'analyse du surnageant de culture de *Pseudoalteromonas* sp. HM-SA03 a révélé la présence des altérines ce qui suggère une distribution plus large de ces composés au sein des bactéries marines. Les souches productrices étant des bactéries à Gram négatif produisant des composés anti-Gram négatif, la question de leur immunité aux cyclolipopeptides reste à élucider.

Mots clés : Peptide - NRPS - Antibiotique - *Pseudoalteromonas*.

Références :

1. Defer D, Desriac F, Henry J, Bourgougnon N, Baudy-Floc'h M, Brillet B, et al. Antimicrobial peptides in oyster hemolymph: The bacterial connection. *Fish & Shellfish Immunology* 2013;34:1439–47. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.03.357>.
2. Desriac F, Chevalier PL, Brillet B, Leguerinell, Thuillier B, Paillard C, et al. Exploring the hologenome concept in marine bivalvia: haemolymph microbiota as a pertinent source of probiotics for aquaculture. *FEMS Microbiology Letters* 2014;350:107–16. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12308>.
3. Desriac F, El Harras A, Simon M, Bondon A, Brillet B, Le Chevalier P, et al. Alterins Produced by Oyster-Associated *Pseudoalteromonas* are Antibacterial Cyclolipopeptides with LPS-Binding Activity. *Marine Drugs* 2020;18:630. <https://doi.org/10.3390/md18120630>.

SP38 Peptides antimicrobiens (en association avec la SFPAM et le GTPAM)

SP38-2

Acquisition de résistances aux peptides antimicrobiens *in vivo* : le modèle de *Staphylococcus aureus* - Daptomycine

Brigitte Lamy^{1,2} (brigitte_lamy@yahoo.fr), Camille Kolenda³, Patricia Simoes Martin³, Andrew Edwards², Marc Dionne², Frédéric Laurent³

¹ Laboratoire de bactériologie, CHU Nice, Université Côte d'Azur, Nice, France

² MRC Centre for Molecular Bacteriology and Infection, Imperial College of London, Royaume-Uni

³ Hospices Civils de Lyon, Institut des Agents Infectieux, Department of Bacteriology, French National Reference Centre for Staphylococci, Lyon, France

Introduction et objectifs :

L'acquisition de résistance au peptide antimicrobien daptomycine est associée chez *Staphylococcus aureus* à des modifications complexes que nous explorons dans ce travail en évaluant les impacts sur la résistance aux antibiotiques, les caractéristiques de surface bactérienne et la virulence.

Méthodes :

12 couples de souches cliniques (10 SARM), issus de 12 patients, ont été isolés avant et après acquisition de la daptomycine-résistance. Les génomes bactériens ont été séquencés et la résistance aux antibiotiques évaluée par CMI en milieu liquide. La fluidité membranaire, la capacité à fixer la daptomycine, la charge négative de la surface bactérienne, l'épaisseur de la paroi bactérienne sont évalués par fluorescence. La virulence est explorée en modèle *Drosophila melanogaster* (infection systémique par injection abdominale) en comparant la survie des animaux (Kaplan-Meier) infectés par la souche daptomycine-sensible ou daptomycine-résistante. 3 modalités de la réponse immunitaire sont étudiées en comparant la survie à l'infection de lignées sauvages (W1118), mutantes pour la voie TOLL (invalidée pour Dif) ou la production de bomanines (invalidée pour 55C) et transgéniques pour la voie mélanisation (invalidée pour PPO1,2).

Résultats :

Pour 9 couples, les génomes appariés différaient par 1 ou 2 mutation(s) seulement, tandis que 5 ou 10 insertions-délétions étaient détectées chez 2 couples, 1 couple présentant aucune différence. Une mutation dans le gène *mprF* était retrouvée chez 10/12 souches daptomycine-résistantes. Le contenu en gènes de virulence était inchangé. L'augmentation des CMI à la daptomycine (0.125-0.5 à 2 mg/L) était associée à des CMI oxacilline réduites (1 à 6 dilutions) chez 9 couples, les CMI aux autres antibiotiques testés étant inchangées. La fixation de la daptomycine était réduite chez 6/12 souches daptomycine-résistantes. Comparée à l'infection par la souche daptomycine-sensible, la survie des drosophiles était augmentée avec la souche daptomycine-résistante (10 couples, $p < 0,001$). Les voies TOLL ou les bomanines n'étaient pas significativement impliquées dans cette différence. La voie de la mélanisation a un effet protecteur prépondérant, la différence de survie disparaissant avec les mouches invalidées pour PPO. Cette voie étant associée au *Reactive Oxidative Species*, le rôle de la réponse bactérienne au stress oxydatif est en cours d'exploration.

Conclusion :

La daptomycine-résistance chez *S.aureus* est associée à une méticillino-résistance et une virulence réduite en modèle drosophile, probablement non reliée à une résistance aux peptides antimicrobiens chez la drosophile.

Mots clés : Daptomycine - *Staphylococcus aureus* - Peptides antimicrobiens - Virulence - Modèle drosophile.

SP38 Peptides antimicrobiens (en association avec la SFPAM et le GTPAM)

SP38-3

Anti-microbiens & résistance

Ruminococcin C, a remarkable sactipeptide as alternative to conventional antibiotics

Clarisse Roblin¹ (clarisse.roblin@univ-amu.fr), Steve Chiumento², Cédric Jacqueline³, Eric Pinloche⁴, Cendrine Nicoletti¹, Hamza Olleik¹, Elise Courvoisier-Dezord¹, Agnès Amouric¹, Christian Basset², Louis Dru^{1,2}, Marie Ollivier⁵, Aurélie Bogey-Lambert⁵, Nicolas Vidal⁶, Katy Jeannot^{7,8}, Mohammed Atta², Marc Maresca¹, Estelle Devillard⁴, Victor Duarte², Josette Perrier¹, Mickael Lafond¹

¹ CNRS, Aix-Marseille University, Centrale Marseille, iSm2, Marseille, France

² University Grenoble Alpes, CEA, IRIG, CBM, CNRS UMR5249, Grenoble, France

³ EA3826, IRS2 Nantes-Biotech, Université de Nantes, Nantes, France

⁴ Centre d'Expertise et de Recherche en Nutrition, ADISSEO France SAS, Commentry, France

⁵ BioAzur Biogroup-Vet'Analys Laboratory, Hyères, France

⁶ Yelen Analytics, Aix-Marseille University ICR, Marseille

⁷ Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, Laboratoire de Bactériologie, Centre Hospitalier Universitaire de Besançon, Besançon, France

⁸ UMR 6249 Chrono-Environnement, Unité de Formation et de Recherche (UFR) Santé, Université de Bourgogne-Franche-Comté, Besançon, France

Introduction and aim

The resurgence of microbial infections associated with the increasing emergence of antibiotic resistant strains and the lack of new antibiotics have escalated quickly to become one of the major threats in Public Health nowadays. In that context, new molecules with antibacterial activity are actively searched. Ribosomally synthesized and Post-translationally modified Peptides (RiPPs) are a potential trove of such alternatives to antibiotics. One of the prominent members of the human gut microbiome, *Ruminococcus gnavus*, produces various antibacterial RiPPs designated as Ruminococcins. The focus of our team is the Ruminococcin C (RumC) which is synthesized in the form of several variants by the strain E1, exclusively in the context of symbiosis within an animal host [1-2].

Material and methods

Thanks to the development of an heterologous expression system of the variant C1 of RumC (RumC1) in *Escherichia coli*, we were able to produce enough RumC1 to thoroughly characterized its biological activity on both prokaryotic and eukaryotic cells, in vitro as well as *in vivo*.

Results, discussion and conclusion

The biological characterization of RumC1 demonstrated its promising potential as a therapeutic agent. First, RumC1 shows potent activity towards Gram-positive pathogens including multi-drug resistant clinical strains in vitro [3]. Secondly, treatment with RumC1 successfully rescued mice infected with *Clostridium perfringens* from a lethal peritoneal infection, with a lower dose than the conventional antibiotic vancomycin. RumC1 was also effective against this pathogen in a complex gut microbiota, with a selective impact on a few bacterial genera and an overall positive influence on the gut homeostasis. In addition to its antibacterial activity, RumC1 also exerts other host beneficial activities such as anti-inflammatory and wound healing effects [4]. Finally, RumC1 displays drug-like features such as resistance to proteolytic, physical, and chemical treatments; safety for human tissues; low propensity for resistance selection and higher affinity for bacterial than eukaryotic cells [2-3]. It is worth noting that the lack of these drug-like features is often limiting the clinical development of RiPPs. Hence, RumC1 appears to be a good candidate for drug development as alternatives to antibiotics. Investigations are ongoing to identify the precise molecular target of RumC1 which could support and enhance the development of a therapeutic agent.

.../...

SP38 Peptides antimicrobiens (en association avec la SFPAM et le GTPAM)

Mots clés : RiPPs - Sactipeptides - Antibiotics - Ruminococcus gnavus E1 - Human gut microbiome.

References :

1. Ramare F, Nicoli J, Dabard J, Corring T, Ladire M, Gueugneau AM, Raibaud P. 1993. Trypsin-Dependent Production of an Antibacterial Substance by a Human *Peptostreptococcus* Strain in Gnotobiotic Rats and in Vitro. *Appl Environ Microbiol.* 59 (9), 2876–2883.
2. Chiumento S, Roblin C, Kieffer-Jaquinod S, Tachon S, Leprêtre C, Basset C, *et al.* 2019. Ruminococcin C, a promising antibiotic produced by a human gut symbiont. *Science Advances.* 5, eaaw9969.
3. Roblin C, Chiumento S, Bornet O, Nouailler M, Müller C, Jeannot K, *et al.* 2020. The unusual structure of Ruminococcin C1 antimicrobial peptide promotes its potential therapeutic use. *Proc Natl Acad Sci USA.* 117 (32) 19168-19177.
4. Roblin C, Chiumento S, Jacqueline C, Pinloche E, Nicoletti C, Olleik H, *et al.* 2021. The Multifunctional Sactipeptide Ruminococcin C1 Displays Potent Antibacterial Activity In Vivo as Well as Other Beneficial Properties for Human Health. *Int J Mol Sci.* 22, 3253.

SP38 Peptides antimicrobiens (en association avec la SFPAM et le GTPAM)

SP38-4

Expression et mise en évidence d'une activité anti-*Escherichia coli* y compris *E. coli* résistant à la colistine, d'une nouvelle bactériocine de classe II, produite par *Lactocaseibacillus paracasei* CNCM I-5369

Désiré Madi-Moussa (desire.madimoussa.etu@univ-lille.fr), Françoise Coucheney, Djamel Drider

UMRT BioEcoAgro 1158 INRAE, Université de Lille, Villeneuve-d'Ascq, France

Introduction et objectifs

Chaque année, la résistance aux antibiotiques est responsable de 700 000 décès dans le monde et d'ici 2050, elle causera plus de 10 millions de décès par an. Pour l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), lutter contre la résistance aux antimicrobiens est une priorité. L'une des stratégies qui a été proposée pour surmonter ce phénomène de résistance aux antibiotiques est l'utilisation des bactériocines. Dans cette optique, une souche de *Lactocaseibacillus paracasei* CNCM I-5369, capable de produire cinq bactériocines ayant une activité anti-*E. coli* y compris *E. coli* résistant à la colistine a été identifiée. Toutefois, cette activité est pH dépendante, dans la mesure où elle n'est observée qu'à un pH compris entre 4,5 et 5. Ainsi, nous nous focaliserons sur la production, la purification et la caractérisation d'une des cinq bactériocines appelée ORF030.

Matériels et méthodes

La bactériocine ORF030 a été produite en système hétérologue chez *E. coli* Rosetta et purifiée par chromatographie Ni-NTA. Sa structure secondaire a été prédite à l'aide du logiciel I-tasser puis confirmée par dichroïsme circulaire (DC). Pour pouvoir identifier la région du peptide ORF030 requise pour l'activité antibactérienne, les déterminants génétiques correspondant aux régions N-terminale (39 premiers acides aminés) et C-terminale (71 derniers acides aminés) ont été clonés dans le plasmide pET-32b, permettant ainsi de les exprimer individuellement dans un système hétérologue, à partir d'un promoteur inductible à l'IPTG. Par ailleurs, plusieurs variants de la bactériocine ORF030 ont été construits par mutagenèse dirigée afin de déterminer l'implication des acides aminés substitués dans l'activité antibactérienne, plus particulièrement anti-*E. coli*.

Résultats, discussion et conclusion

La bactériocine ORF030 adopte une structure secondaire caractérisée par la présence de cinq hélices α et sa région N-terminale est plus impliquée dans l'activité antibactérienne. Cependant, les expériences de mutagenèse dirigée réalisées sur le gène codant le peptide ORF030 ont permis de mettre en évidence les acides aminés impliqués dans l'activité anti-Gram négatif.

Mots clés : Bactériocines - Expression hétérologue - Activité anti-Gram négatif.

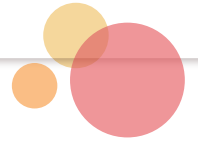


Société Française
de Microbiologie

MICROBES 2021

16^e Congrès National de la SFM

22-24
SEPT



RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES

MICROBES 2021

...mille lieux
au cœur de la
microbiologie

A-P Autres

A-P01

Autres

Identification *in silico* d'une cinquantaine de nouvelles familles de systèmes de quorum sensing chez les bactéries gram-positives et leur MGEs, dont de nouveaux systèmes de communication phage-phage impliqués dans la manipulation de l'hôte

Charles Bernard¹ (charles.bernard@cri-paris.org), Yanyan Li², Philippe Lopez¹, Eric Bapteste¹

¹ Institut de Systématique, Biodiversité et Evolution (ISYEB), Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France

² Unité Communication et Adaptation des Microorganismes (MCAM), Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France

Introduction :

Les systèmes de quorum sensing (QSSs) sont des systèmes de gènes permettant la communication entre cellules, entre plasmides, ou entre bacteriophages. En régulant des transitions comportementales en fonction de la densité des population qui les codent, les QSSs influent sur les dynamiques sociales des communautés microbiennes. Néanmoins leur diversité est sous-explorée au sein des éléments génétiques mobiles (MGEs), et particulièrement au sein des bacteriophages, pourtant les entités biologiques les plus abondantes sur Terre. En effet, seule une famille de QSSs de phages a été décrite avant nos travaux, en 2017. Etendre la diversité connue des QSSs, notamment ceux codés par les phages, révélerait de nouveaux processus décisionnels densité-dépendants bactériens ou viraux qui enrichiraient considérablement nos connaissances actuelles en microbiologie et en biologie évolutive.

Matériels et méthodes :

Nous avons démontré qu'une signature détectable *in silico* est commune à différentes familles caractérisées de QSSs, est suffisamment générique pour trouver de nouveaux QSSs tout en étant spécifique au quorum-sensing de bactéries du phylum Firmicutes et leur MGEs. Nous avons donc systématiquement recherché cette signature, qualifiée de RRNPP, dans des génomes complets de Firmicutes et de virus.

Résultats et discussion :

Nous avons identifiés 2708 QSSs candidats, distribués en 63 familles, dont 57 nouvelles et couvrant une large diversité phylogénétique. Parmi ces systèmes de communication, 382 appartiennent à des phages/prophages. Notamment, nous avons identifié les premiers phages «bilingues», possédant 2 systèmes de communication différents. Les 382 QSSs candidats de (pro)phages sont distribués en 25 familles, dont 22 jamais décrites auparavant chez ces virus. Parmi ces familles, 6 ont été prédites, à partir de leur contexte génomique, pour réguler, non pas des processus de phages, mais des processus critiques d'hôtes bactériens, tels que la compétence et la sporulation. Cette prédiction, étayée par des preuves issues de jeux de données publiques, challenge le paradigme actuel selon lequel les bactéries décident de sporuler en situations défavorables. En effet, nos analyses soulignent que les bacteriophages ont évolué, de multiples fois, des systèmes génétiques qui influencent cette décision à leur avantage, faisant de la sporulation un mécanisme de survie de dernier recours pour les collectifs phages-hôtes.

Mots clés : Communication Microbienne - Quorum Sensing - Collectif Phage-Hôte - Evolution - Virus.

Références :

1. Bernard C, Li Y, Lopez P, Bapteste E. (2020). Beyond arbitrium: identification of a second communication system in Bacillus phage phi3T that may regulate host defense mechanisms. The ISME Journal.
2. Bernard C, Li Y, Lopez P, Bapteste E. (2021). Large-Scale identification of viral quorum-sensing-systems reveals convergent evolution of sporulation-hijacking mechanisms in bacteriophages. ISMEj (under review).

A-P Autres

A-P02

Autres

Role of flagellin in the recognition of *Yersinia pestis* by its host during plague and contribution to virulence

Mara Emilia Carloni^{1,2} (mara.carloni@pasteur.fr), Pierre Lê-Bury¹, Anne Derbise¹, Hebert Echenique Rivera¹, Delphine Bonhomme³, Catherine Werts³, Javier Pizarro-Cerda¹, Christian Demeure¹

¹ Unité de Recherche *Yersinia* - Département de Microbiologie, Institut Pasteur, Paris, France

² Université de Paris, Paris, France

³ Groupe Immunité Innée et Leptospores, Département de Microbiologie, Unité Biologie et Génétique de la Paroi Bactérienne, Institut Pasteur, Paris, France

Yersinia pestis – the agent of plague – is undoubtedly one of the deadliest pathogens, in spite of the fact that it has over 97% homology for most chromosomal genes when compared to its ancestor *Yersinia pseudotuberculosis* (an opportunistic enteropathogen causing gastrointestinal symptoms). Plague, this historic scourge, has not disappeared and is considered a re-emerging disease, especially in areas that had been spared for a long time.

Flagellin is a protein that accounts for 95% of the total mass of flagella, a motility appendix of bacteria, and is also an important target of innate immune response. In *Y. pestis*, the flagellin-coding locus (*fliC*) is part of a flagellar system whose transcription is thought to be completely abrogated, providing a possible explanation for the lack of motility in the plague bacillus.

Although the presence of several mutations in different genes of the flagellar regulon, we demonstrated by qRT-PCR that *fliC* is transcribed at the host temperature. Even more surprisingly, by deleting *fliC*, we observed a reduction in virulence of a factor of >100 in a mouse bubonic plague model, confirmed by gene complementation. By bioluminescence imaging, we observed that the mutant bacterium infects lymph nodes, but spreads less systemically and causes less fatal sepsis, suggesting a role for FliC in the bubo rupture and bacteria passage through the blood. To elucidate the mechanism by which flagellin contributes *Y. pestis* virulence, we now seek to understand by histology and fluorescence microscopy its effects in tissues and organs, as well as to identify the host cells involved. We are also trying to identify the cellular receptors recognizing flagellin and to determine the mechanisms of cell signaling induced.

In conclusion, these results identify a new pathogenic mechanism of the plague bacillus and suggest that the mutations leading to the loss of motility allowed a use of flagellin that is not motility-related and that is favorable to virulence.

A-P Autres

A-P03

Autres

Application de la méthode « vapeur » pour nettoyer et quantifier des biofilms de bactéries anaérobies et de champignons

Jordan Chamarande¹ (jordan.chamarande@univ-lorraine.fr), Maurine D'Agostino¹, Lisiane Cunat¹, Corentine Alauzet^{1,2}, Anne Debourgogne^{1,3}, Catherine Cailliez-Grimal¹

¹ Laboratoire SIMPA, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

² Service de Microbiologie, CHRU Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

³ Service de Parasitologie-Mycologie, CHRU Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

Le **biofilm** est une communauté multicellulaire complexe constituée de micro-organismes. La technique classiquement utilisée pour **laver le biofilm** et permettre sa quantification est basée sur l'utilisation d'une **micropipette**. Cette méthode, bien que fonctionnelle, **manque de reproductibilité** des résultats. L'équipe de Tasse *et al.*, (2018) a développé une méthode basée sur l'utilisation de la **vapeur** pour nettoyer le biofilm de **bactéries aérobies**, limitant ainsi son décollement et permettant une meilleure reproductibilité des résultats [1]. L'objectif de ce projet était de déterminer si cette méthode pourrait être appliquée également aux **bactéries anaérobies**, étant plus exigeantes, et **aux champignons** tout en préservant leur **survie**. Les résultats obtenus après utilisation de la méthode vapeur, en comparaison à l'utilisation de la micropipette, apparaissent **plus homogènes** et la survie des bactéries anaérobies et des champignons testés est préservée.

La mesure de la **turbidité** après resuspension du biofilm dans du PBS, comme alternative à la coloration au Cristal Violet (CV) a également été analysée sur les bactéries anaérobies. Cette technique permet en effet de poursuivre la quantification par dénombrement sur gélose et/ou qPCR et s'est révélée **efficace et reproductible**.

Le lavage à la vapeur pourrait donc être une alternative à la quantification des biofilms de bactéries anaérobies et de champignons.

Mots clés : Biofilm - Vapeur - Bactéries anaérobies - Champignons - Turbidité.

Références :

1. Tasse, J.; Cara, A.; Saglio, M.; Villet, R.; Laurent, F. A Steam-Based Method to Investigate Biofilm. *Sci. Rep.* 2018, 8, 13040, doi:10.1038/s41598-018-31437-

A-P Autres

A-P04

Autres

Étude du rôle du facteur RpoS et de sa régulation par le système chimiosenseur Che1 chez *Shewanella oneidensis*

Emma Fortier^{1,1} (efortier@imm.cnrs.fr), Pascale Infossi¹, Amine Ali-Chaouche¹, Gaël Panis², Vincent Méjean¹, Marie-Thérèse Giudici-Ortoni¹, Chantal Iobbi-Nivol¹

¹ Bioénergétique et ingénierie des protéines (BIP), IMM | Institut de Microbiologie de la Méditerranée, Marseille, France

² Université de Genève, Genève, Suisse

Shewanella oneidensis est une bactérie aquatique qui vit dans des environnements rudes et versatiles. Il s'agit probablement de l'un des organismes bactériens qui déploie le plus grand nombre de stratégies pour se développer quelles que soient les conditions. Pour appréhender et répondre aux changements environnementaux, *S. oneidensis* possède deux systèmes chimiosenseurs fonctionnels, Che1 et Che3. Ces systèmes permettent d'apprécier les conditions extérieures, de transférer l'information et d'y apporter la réponse la plus appropriée pour la survie de la bactérie. Parmi ces deux systèmes, Che3 est le système chimiotactique permettant d'orienter la nage de la bactérie en fonction des « molécules signales » détectées.

Au sein de l'équipe, il a été montré que chez *S. oneidensis*, la régulation post-traductionnelle du facteur RpoS/ σ^S , responsable de la réponse aux stress généraux dépend d'un système « partner switch » CrsR-CrsA qui séquestre ou libère RpoS en fonction des besoins de la cellule. Les gènes codant CrsR et CrsA sont intégrés dans l'opéron *che1* qui code pour le second chimiosenseur fonctionnel de la bactérie et dont le rôle n'avait jamais été décrit. Ce système est composé de deux chimiosenseurs, MCP1 qui est membranaire et MCP2 qui est cytoplasmique, une protéine de connexion CheW1, une histidine kinase CheA1 et un régulateur de réponse CheY1.

L'objectif de ce travail consiste à démontrer l'implication de Che1 dans la régulation post-traductionnelle de RpoS et à définir les gènes régulés par RpoS.

Diverses approches, alliant génétique, biochimie, microscopie et approches globales (proteomique, transcriptomique) ont permis d'approfondir les connaissances sur la voie de signalisation très efficace et hautement sophistiquée permettant l'activation du facteur RpoS.

Nos résultats indiquent que la régulation post-traductionnelle de RpoS passe par une voie adaptative originale, impliquant le système Che1. Les deux protéines senseurs agiraient à des niveaux différents, MCP1 avec le système Che3 dans le mouvement bactérien et MCP2, senseur d'oxygène, avec Che1. Des expériences de ChipSeq ont permis de définir le régulon du facteur RpoS. Enfin, RpoS aurait un rôle dans la formation du biofilm.

L'étude globale du système Che1 et du régulon de RpoS permet de mieux appréhender les mécanismes de survie d'une bactérie environnementale.

Mots clés : Adaptation - Régulation - Chimiosenseur - Chimiotactisme - Biofilm.

Références :

1. Bouillet S, Genest O, Jourlin-Castelli C, Fons M, Méjean V, Iobbi-Nivol C. The General Stress Response σ^S Is Regulated by a Partner Switch in the Gram-negative Bacterium *Shewanella oneidensis*. *J Biol Chem*. 2016;291(50):26151-26163. doi:10.1074/jbc.M116.751933
2. Bouillet S, Genest O, Méjean V, Iobbi-Nivol C. Protection of the general stress response σ^S factor by the CrsR regulator allows a rapid and efficient adaptation of *Shewanella oneidensis*. *J Biol Chem*. 2017;292(36):14921-14928. doi:10.1074/jbc.M117.781443

A-P Autres

A-P05

Autres

Étude du rôle de la cycline D3 et de la régulation de son expression par le butyrate dans des lignées cellulaires

Mohammed Ghrib¹ (mohammedala.ghrib@inrae.fr), Hervé Blottiere², Jean-Marc Lelievre², Vladimir Uversky³

¹ Institut MICALIS, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

² MetagenoPolis MGP, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

³ Morsani College of Medicine, University of South Florida, Department of Molecular Medicine and USF Health Byrd Alzheimer's Research Instit, Tampa, FLORIDA, États-Unis

Introduction et objectifs :

La fermentation des fibres alimentaires dans le côlon a un rôle protecteur contre le cancer colorectal via l'action d'acides gras à chaîne courte dans la lumière intestinale, en particulier le butyrate dont la concentration varie en fonction du régime. Dans des lignées cellulaires intestinales et des cellules souches de la crypte intestinale, le butyrate inhibe la prolifération cellulaire, induisant un arrêt du cycle en G1 ou G2. Les cyclines de type D (D1, D2 et D3) activent les cyclines dépendantes kinases CDK4 et CDK6 lors de la phase G1. Elles sont souvent fortement exprimées dans divers cancers. La CCND3 est fortement exprimée dans les colonocytes différenciés quiescents au sommet de cryptes exposées à de fortes concentrations de butyrate. Il a été montré que la cycline D3 est fortement accumulée dans des lignées cellulaires exposées au butyrate. Nous décrivons ici les premiers résultats pour comprendre le rôle de CCND3 et la régulation de son niveau d'expression par le butyrate.

Matériels et méthodes :

Le niveau des protéines CCND et des ARNm correspondant a été déterminé respectivement par Western et RT-qPCR (Taqman, ThermoFisher). Des clones avec une cycline D3 invalidée ont été obtenus par CRISPR-Cas9 dans les lignées HCT116 et Caco-2 via le kit KN 2.0 (Origene). Des clones surexprimant une protéine recombinante avec l'épitope HA de l'hémagglutinine sous la dépendance du promoteur CMV ont été aussi générés. L'analyse des phases du cycle cellulaire a été réalisée avec un FACScalibur. La prolifération cellulaire a été mesurée après coloration des cellules fixées avec le Sulforhodamine B (SRB).

Résultats, discussion et conclusion :

Les résultats obtenus démontrent que la cycline D3 n'est pas nécessaire ni à la prolifération ni au blocage du cycle cellulaire induit par le butyrate dans les lignées cellulaires étudiées. L'augmentation du niveau de CCND3 est essentiellement dû à une inhibition de la protéine dans les cellules exposées au butyrate. Une analyse structurale révèle que le domaine C-ter de CCND3, essentiel pour la dégradation de la protéine, est un domaine intrinsèquement désordonné qui possède des caractéristiques uniques par rapport aux 2 autres cyclines D.

Mots clés : Butyrate - Cycline D3 - Dégradation protéique - Domaine intrinsèquement désordonné.

A-P Autres

A-P06

Autres

Study of antimicrobial properties of marine algae polysaccharides

Mélissa Pannier¹ (melissa.pannier@hotmail.fr), Jean-Christophe Giard¹, Salma Asekele¹, Lisa Daniel², Anne Dhalluin¹, Franck Hennequart², Jérémy Brebion²

¹ U2RM, Université de Caen Normandie, Caen, France

² Research and Innovation, Algaia, Saint-Lô, France

Background and objectives:

Marine algae polysaccharides (MAPs) are abundant biomacromolecules known to have pharmacological activities. However, few data are available about the antimicrobial activity of these molecules. The goal of this work was to carry out a screening of algae extracts with potential antibacterial properties in order to propose new ways of producing natural and environmentally friendly bioactive compounds.

Materials and methods:

Eighteen MAPs were extracted, purified, and characterized from brown green or red algae. For this, methods developed by Algaia Company allowed a separation by size of the compounds and characterization of the extracts. Purified MAPs were afterward solubilized into pure water. The biological activity was then evaluated using a collection of eleven pathogenic bacteria (Gram positive and negative). The impact of the molecules on the bacterial development was assessed by diffusion agar tests with drops containing compounds, growth curves and cell counts in presence of MAPs (0.1 to 10 mg/mL). In addition, using one of the most interesting molecule (BioAc99), modification of antimicrobial susceptibility profiles was assessed. To evaluate the cellular impact of this compound, global proteomic study was performed with *S. aureus* incubated with sub-inhibitory concentration of BioAc99.

Results, discussion and conclusion:

No bactericidal activities have been observed for the eighteen MAPs tested so far, nevertheless, 7 polysaccharides from green and brown algae extract (M3; AB1; AB2; BioAc99; BioAc100; BioAc102 and LH-Lam) seemed to impact the bacterial development of different strains. Further studies have been carried out with BioAc99 molecule displaying activities against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. We showed that this molecule (at 1 mg/mL) increased the susceptibility to amoxicillin in *E. coli*, to tetracycline and ceftazidime in *S. aureus* and to ceftazidime in *P. aeruginosa*. Interestingly, our global proteomic analysis performed with *S. aureus* led to the identification of 69 proteins whose production were modified by the addition of BioAc99, some of which linked to oxidative stress response within cells. Such results pave the way for the development of growth inhibiting compounds free from toxic solvents which could make pharmaceutical or cosmetic formulations safer.

Mots clés : Marine algae polysaccharides - Growth inhibitor - Antimicrobials - Proteomic.

A-P Autres

A-P07

Autres

Recherche des causes de faux positifs sur l'automate ID NOW SARS-COV-2 Abbott-Alère

Thomas Gueudet¹ (thomas.gueudet@ch-colmar.fr), Cécile Elong¹, Guillaume Gregorowicz¹, Olivier Augereau¹, Baptiste Panager¹, Florian Baquer¹, Eric Thibaud², Marie Szulc³, Dominique De Briel¹

¹ Laboratoire, Hôpitaux civils de Colmar, Colmar, France

² Service d'accueil des urgences adultes, Hôpitaux civils de Colmar, Colmar, France

³ Service d'accueil des urgences pédiatriques, Hôpitaux civils de Colmar, Colmar, France

Objectif :

Depuis l'installation des trois automates IDNOW Abbott en biologie délocalisée au mois de novembre 2020 nous sommes confrontés à une problématique de cas de faux positif. Le but de ce travail est de trouver les causes de ces résultats anormaux.

Matériel et méthode :

Nous avons mené une étude rétrospective entre novembre 2020 et juillet 2021 sur 30000 échantillons analysés. Pour chaque patient positif sur IDNOW nous avons regardé sur quel automate il a été passé, par quel opérateur, si un contrôle a été réalisé au laboratoire, la valeur du Ct trouvé, et les antécédents covid du patient

Résultats et discussion :

Sur 531 tests positifs, 64% ont eu un contrôle par un test PCR au laboratoire. Le taux de faux positif sur la technique Abbott est en moyenne de 30.7 %.

Une étude approfondie a été faite sur 104 cas de faux positifs. Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre le réalisateur du test et un résultat discordant. L'ensemble des trois automates ont été impactés de la même manière. Il n'y a pas d'influence de l'environnement puisque les automates sont dans des bâtiments différents et analysent des populations différentes (Urgences adulte (6800 tests), Urgences pédiatrique (2400) et Urgences adulte unité 2 (3200)). Il n'y a pas de lot qui soit plus incriminé. L'analyse des Ct a montré que l'automate est capable de détecter aussi bien des Ct fort positif que des Ct faibles positifs (Moyenne des Ct 26.7 avec extrêmes 41.2 et 10.5). Nous avons un patient qui a testé positif 8 semaines après un premier test positif, mais c'est également le cas en PCR classique. La clearance du virus est très patient dépendant.

Le taux de faux positif (66.7% en juin 2021 contre 10.9% en novembre 2020) est beaucoup plus important lorsque la prévalence du virus est faible. Ce qui implique une plus grande vigilance des cliniciens.

Aujourd'hui le fournisseur se doit d'explorer la spécificité de son test, ainsi que sa sensibilité. Il doit proposer un CQI plus en adéquation avec la technique.

Mots clés : IDNOW - Biologie délocalisé - Faux positif - SARSCOV2.

A-P Autres

A-P08

Autres

Le Centre International de Ressources Microbiennes (CIRM), une infrastructure de Centres de Ressources microBiotique (mCRB) aux dimensions nationales et européenne au service de la recherche agronomique et environnementale

Michel-Yves Mistou¹ (michel-yves.mistou@inrae.fr), Anne Favel², Emmanuelle Helloin³, Jean-Luc Legras⁴, Perrine Portier⁵, Florence Valence-Bertel⁶

¹ CIRM-coordination - MalAGE, INRAE, Jouy-en-Josas, France

² CIRM-CF - Unité Biodiversité et biotechnologie fongique, INRAE, Marseille, France

³ CIRM-BP - Unité Infectiologie et santé publique, INRAE, Tours, France

⁴ CIRM-Levures - Unité Sciences pour l'oenologie, INRAE, Montpellier, France

⁵ CIRM-CFBP - Unité Institut de recherche en horticulture et semences, INRAE, Angers, France

⁶ CIRM-BP - Unité Science et technologie du lait et de l'oeuf, INRAE, Rennes, France

Le CIRM est un groupement d'intérêt scientifique (GIS) géré par INRAE, associant L'institut Agro et les universités d'Aix-Marseille, Angers, Montpellier et Tours. Les cinq mCRB qui constituent le CIRM gèrent des collections spécialisées, stratégiques dans les domaines agronomique, agro-alimentaire, biotechnologique et environnemental.

Le CIRM préserve, enrichit, caractérise et valorise cette diversité microbienne et propose un ensemble de services et prestations :

- Données génomiques, moléculaires, taxonomiques, phénotypiques et écologiques
- Développements méthodologiques pour le criblage d'activités et la sélection
- Service de dépôt confidentiel pour la conservation de souches

CIRM-Champignons filamenteux (CIRM-CF) : Plus de 2000 souches, représentatives de 500 espèces de champignons ligno-cellulolytiques, Basidiomycètes et Ascomycètes. La biodiversité enzymatique associée nourrit des projets de caractérisation et de valorisation dans les biotechnologies vertes et blanches.

CIRM-Bactéries associées aux plantes (CIRM-CFBP) : héberge aujourd'hui plus de 7000 accessions (63 genres). L'ensemble des taxons de bactéries pathogènes de plantes sont représentés et font l'objet de projets de séquençage et de phénotypage à haut-débit.

CIRM-Bactéries pathogènes des animaux ou de l'homme (CIRM-BP) La collection regroupe des souches de 65 genres de bactéries pathogènes de classe 2 et 3 isolées de l'animal, de l'homme ou de l'environnement, qui permettent la mise en place de cribles d'activités antibactériennes.

CIRM-Bactéries d'intérêt agro-alimentaires (CIRM-BIA) : Les collections du CIRM-BIA regroupent plus de 4000 souches appartenant à 30 genres et 150 espèces différentes. Le CIRM-BIA caractérise la biodiversité à des fins d'innovation dans le domaine agro-alimentaire.

CIRM-Levures : Plus de 4000 isolats de levures Saccharomycotina et Basidiomycota, (63 genres) issues de fermentations traditionnelles et d'environnements variés. Son implication dans la génomique place le CIRM-Levures à la pointe de la recherche en taxonomie et évolution des levures.

Certifié ISO 9001 depuis 2008, le CIRM a reçu le label IBISA en tant qu'infrastructure en Biologie Santé et Agronomie. Le CIRM pilote le pilier microbien de l'infrastructure nationale **AgroBRC-RARE** inscrite sur la feuille de route nationale des infrastructures du MESRI. Le CIRM est également membre fondateur de l'Infrastructure paneuropéenne **MIRRI-ERIC**, qui permet l'accès à un large éventail de ressources, de données et de services dans le domaine microbiologique.

Mots clés : Collections - Centre de ressource microbiologique - Biodiversité - Conservation - Génomique.

A-P Autres

A-P09

Autres

Factors influencing the observed antimicrobial behaviour of oak wood

Muhammad Tanveer Munir¹ (tanveer.munir@esb-campus.fr), Matthieu Eveillard², Hélène Pailhories³, Christophe Belloncle¹, Michel Federighi⁴

¹ LIMBHA, Ecole supérieur du Bois, Nantes, France

² CRCINA, CHU Angers, Angers, France

³ Laboratoire de Bactériologie, CHU Angers, Angers, France

⁴ SECALIM, ONIRIS, Nantes, France

Introduction:

Wood is an organic material and a renewable resource of nature that is widely used as a contact surface in food and construction industries. Counterintuitive to general perception of this organic material supporting microbial growth, some solid wood materials show antimicrobial properties. Therefore, the objective of this study is to identify the material-related factors which can influence the antimicrobial behavior of wood.

Material and methods:

Six oak wood trees (*Quercus petraea*) were collected from 3 different locations in France. The heartwood part of wood was used to prepare round discs (diameter 9.95 ± 0.1 mm, thickness 3 mm) with either transverse (RT), tangential (LT) or radial (LR) faces via a laser machine or a manual punch machine, and were sterilized with gamma irradiation (25 kGy) or autoclaving (121   C). The antimicrobial activity of wood was tested using a direct diffusion method (antiboisgram) against *Staphylococcus aureus*. Bacterial suspensions adjusted to a density of 0.5 MacFarland were inoculated by streaking on Mueller-Hinton agar plates. Then wood discs were placed directly on agar plates with positive (Vancomycine (5  g)) and negative controls (inert paper discs). Each plate (12 cm²) was utilized to test 16 sample discs (4x4) and incubated at 37  C for 24 hours. The experiment was performed in triplicates and the inhibition zones, if present, were blindly measured by two independent readers.

Results and discussion:

The transverse-faced discs exhibited higher antimicrobial activity. Samples that had been sterilized by autoclaving showed significantly ($p < 0.05$) lower antimicrobial activity, whereas the cutting method and origin of tree did not influence the antimicrobial activity of wood material.

Therefore, the choice of sterilization method and cutting planes must be taken into account while studying and interpreting the antibacterial properties of wood materials.

Mots clés : Agar diffusion - Antimicrobial properties - Woods - Hygiene - Onehealth.

Références :

1. Munir, M.T.; Pailhories, H.; Eveillard, M.; Irle, M.; Aviat, F.; Federighi, M.; Belloncle, C. Experimental Parameters Influence the Observed Antimicrobial Response of Oak Wood (*Quercus petraea*). *Antibiotics* 2020, 9, 535.

A-P Autres

A-P10

Autres

Staphylococcus aureus Decreases SUMOylation Host Response to Promote Intramacrophage Survival

Youssef Nadhuma (nadhuma.youssef@umontpellier.fr)

LPHI, Université de Montpellier, Montpellier, France

Introduction and objectives:

S. aureus can invade a variety of non-professional phagocytes and can survive within professional phagocytes during several days. During infection, pathogen bacteria exploit several eukaryotic signaling pathways and manipulate their host cells to allow their own replication, 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 methodes:

The clinical *S. aureus* strain were plated on Tryptic Soy Agar or grown in Tryptic Soy Broth medium at 37 °C under agitation. *S. aureus* NSA739 bacteria were heat-killed at 80 °C for 20 min. The murine macrophage cell line Raw264.7 was maintained in Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 10% of fetal bovine serum at 37 °C in a humidified atmosphere at 5% CO₂. Raw264.7 cells expressing 6His-tagged SUMO1 and SUMO3 proteins were generated using lentiviral transduction. For macrophage infection, cells were seeded at 5 × 10⁵ cells/mL 24 h before infection and infected at a multiplicity of infection of 10:1 (bacteria:cells). Lysis of macrophages and enumeration of intracellular bacteria at time points T0, T0.5 h, T5 h, T24 h, or T48 h post-gentamicin (pGt) treatment was performed. Western blot was also performed to quantify host sumoylated proteins.

Results, discussions and conclusion:

Interestingly, *S. aureus* impact on SUMOylation host response occurs at longer times post-infection and then seems critical for bacterial long-term persistence. Moreover, 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 in such SUMO-inhibited macrophages, and (iii) that when macrophages were infected with *S. aureus*, the level of Ubc9 was significantly reduced in infected macrophages 24 h pGt. 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, to favor its intracellular replication.

Mots clés : Staphylococcus aureus - SUMOylation - Infection - Ubc9 - Macrophage.

A-P Autres

A-P11

Autres

Wood materials for limiting the bacterial reservoir on surfaces in the hospital setting: would it be worthwhile to go further?

Hélène Pailhoriès^{1,2} (helene.pailhories@chu-angers.fr), Muhammad Tanveer Munir³, Florence Aviat⁴, Didier Lepelletier⁵, Patrice Le Pape⁶, Laurence Dubreil⁷, Mark Irle³, Michel Federighi⁸, Christophe Belloncle³, Matthieu Eveillard^{1,9}

¹ Laboratoire de Bactériologie, CHU Angers, Angers, France

² Laboratoire HIFIH, UPRES EA3859, SFR 4208, Université d'Angers, Angers, France

³ Laboratoire Innovation Matériau Bois Habitat Apprentissage (LIMBHA), Ecole Supérieure du Bois, Nantes, France

⁴ Your Research-Bio-Scientific, Le Landreau, France

⁵ Laboratoire MiHAR EE 1701 S, Université de Nantes, Nantes, France

⁶ EA 1155 IICiMed, Université de Nantes, Nantes, France

⁷ APEX UMR703 Panther, ONIRIS, Nantes, France

⁸ UMR INRA 1014 SECALIM, ONIRIS, Nantes, France

⁹ CRCINA, Université de Nantes, Nantes, France

Introduction et objectifs :

The hospital environment is a reservoir for bacterial transmission. Meanwhile, the use of raw wood as a material in the hospital is controversial due to its poor ability to be disinfected. Our objective was to assess the activity of *Quercus petraea* (oak) on five bacterial species/genus frequently involved in hospital-acquired infections for exploring the potential interest of untreated wood as a material in the hospital setting.

Matériels et méthodes :

8 reference strains and 42 clinical isolates belonging to 5 bacterial species/genus (*Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex (Acb), *Escherichia coli*, *Enterococcus (faecalis and faecium)*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*) were included. Resistant isolates were included for each species/genus. The antimicrobial activity of *Quercus petraea* was studied by disc diffusion method, using circular wood discs (diameter 9.8-10 mm, thickness 3.5-4.5 mm), manufactured from 6 *Quercus petraea* trees. For each bacterial isolate, 18 discs were tested (three discs for each of the six *Quercus petraea* trees). The mean and standard deviation (SD) of the inhibition diameters were calculated for each bacterial species/genus. Wood was considered active on an isolate when the inhibition zone was ≥ 10 mm (wood disc diameter) + 1 SD.

Résultats :

Quercus petraea was active on *S. aureus* (mean diameter 20 mm; 17 mm cut-off) and Acb complex (mean diameter 15 mm; 13 mm cut-off). This activity was independent from the antibiotic resistance, with activity on Carbapenem-resistant Acb, Methicillin-resistant or Glycopeptide-intermediate *S. aureus*. In these 2 species, the diameters varied widely depending on the isolate (range from 14 to 20 mm for Acb, and from 17 to 35 mm for *S. aureus*). *Quercus petraea* had no activity on *E. coli*, a weak activity on one *Enterococcus* isolate, and presented an inconsistent activity on *P. aeruginosa* isolates.

Discussion et conclusion :

Quercus petraea presents a noticeable activity on most of Acb and *S. aureus* isolates. Interestingly, this activity does not seem influenced by the susceptibility to antibiotics. These results could retain the attention of infection control teams in the perspective of using wood as material in the hospital setting. Other studies should help to assess the antibacterial activity of raw wood.

Mots clés : Raw wood - Antimicrobial activity - Hospital environment - Bacterial resistance.

A-P Autres

A-P12

Autres

Performance clinique de la PCR/du séquençage à large spectre des gènes de l'ARNr 16S et 18S comparée à la culture : revue systématique et méta-analyse portant sur 4 419 échantillons cliniques

Malin Wollens¹ (wollens@molzym.com), Marina Linow¹, Michael Lustig¹, Laureen Ferchaud²

¹ Molzym, Bremen, Allemagne

² Molzym, Bordeaux, France

L'identification des agents infectieux reste un défi multifactoriel. Les méthodes conventionnelles de culture souffrent d'une forte négativité, liée à l'administration d'antibiotiques ou à des exigences de croissance spécifique. Les approches moléculaires sont décrites par un manque de sensibilité, de spécificité ou de performance d'identification. Dans cette méta-analyse, 23 publications employant les solutions de tests moléculaires directs de Molzym (MMDx), Sepsitest™-UMD, UMD-SelectNA™ et Micro-Dx™, ont été évaluées pour leurs performances cliniques comparées au diagnostic par culture pour l'identification de bactéries et champignons.

Une revue systématique et une méta-analyse ont été réalisées conformément aux directives du Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) ; l'analyse statistique réalisée à l'aide de MetaXL (EpiGear International). Les paramètres de sensibilité, spécificité diagnostique et de la valeur ajoutée du MMDx (identification d'agent pathogène dans les échantillons à culture négative (C-)) ont été rapportés en plus des taux de positivité, de faux-positifs et de faux-négatifs, pour l'ensemble des données et par sous-groupes.

Au total, 23 études analysant 4 419 échantillons provenant de 2 378 épisodes ont été incluses pour l'extraction des données. Les résultats suivants ont été déterminés :

Positivité plus élevée du MMDx (35 % de positivité globale) par rapport à la culture conventionnelle (21 % de positivité globale).

L'identification des microbes qui se sont révélés positifs par culture avec MMDx montre une sensibilité de 87 % et une spécificité de 87 %.

Valeur ajoutée globale du MMDx : 18% dans les C-, en plus des 21% identifiés par la culture.

Les résultats de MMDx ont eu un impact direct sur la prise en charge des patients avec l'ajustement du régime thérapeutique dans 16% à 25% des cas positifs.

De nombreux micro-organismes infectieux restent non identifiés par la culture.

MMDx a identifié une valeur absolue de 18% de pathogènes dans les résultats C- ; soit +86% de cas identifiés en plus de la culture conventionnelle.

MMDx permet d'identifier les agents pathogènes directement à partir de fluides corporels, de tissus ou d'écouvillons en 7 heures, utile au diagnostic de pathologie telles que la sepsis, les infections liées aux implants orthopédiques, les endocardites et les méningites.

Mots clés : PCR 16S/18S - Bactéries - Champignons - Méta-analyse - Diagnostic.

Références :

1. Marbjerg LH, Holznecht BJ, Dargis R, 2020, Diagn Microbiol Inf Dis 97, <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115028>.
2. Gabas T, Podglajen I, Cheminet G et al., 2019, J Inf 79, 462-470.
3. Ribeyrolles S, Ternacle J, San S et al., 2019, Arch Cardiovas Dis 112, 381-389.
4. Tkadlec J, Peckova M, Sramkova L et al., 2019, Clin Microbiol Inf 25, 747-752
5. Peeters B, Herijgers P, Beuselink K et al., 2017, Clin Microbiol Inf 23, 888.e1-888.e5 (doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2017.06.008>).

A-P Autres

A-P13

Autres

Analyse de la structure des populations et surveillance génomique des *Shigella* à l'aide d'une technique standardisée de core-genome multilocus sequence typing (cgMLST)

Iman Yassine^{1,2} (iman@live.com), Sophie Lefèvre¹, Elisabeth E. Hansen¹, Corinne Ruckly¹, Isabelle Carle¹, Monique Lejay-Collin¹, Laëtitia Fabre¹, Rayane Rafei², Dominique Clermont³, Maria Pardos de la Gandara¹, Fouad Dabboussi², Nicholas R. Thomson^{4,5}, François-Xavier Weill¹

¹ Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Institut Pasteur, Paris, France

² Laboratoire Microbiologie Santé et Environnement, Université Libanaise, Tripoli, Liban

³ Collection de l'Institut Pasteur, Institut Pasteur, Paris, France

⁴ Wellcome Sanger Institute, Cambridge, Royaume-Uni

⁵ London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, Royaume-Uni

Introduction et objectifs :

La surveillance des infections à *Shigella* repose sur une nomenclature, standardisée à la fin des années 1940, et qui différencie quatre sérogroupes et plus de 50 sérotypes sur la base de tests biochimiques et antigéniques (sérotypage de l'antigène O). Ces dernières années, la surveillance génomique en temps réel a été mise en place dans plusieurs pays, mais sans recourir à une méthode standardisée. Le but de notre travail a été de décrire la diversité des populations de *Shigella* à l'aide de la méthode de core-genome multilocus sequence typing (cgMLST), puis de créer une table de correspondance entre les sérotypes de la méthode historique et les hierarchical clusters (HC) de la méthode cgMLST de façon à faire évoluer la surveillance microbiologique de ces infections.

Matériel et méthodes :

Nous avons étudié par la technique historique de sérotypage plus de 4000 souches de référence et isolats cliniques de *Shigella*, couvrant tous les sérotypes, y compris les sérotypes provisoires et des souches biochimiquement atypiques. Ces souches ont été également séquencées puis analysées avec le schéma cgMLST des *Escherichia/Shigella* développé par EnteroBase.

Résultats, discussion et conclusion :

Les génomes de *Shigella* ont été regroupés en huit groupes phylogénétiquement distincts au sein de l'espèce *Escherichia coli*. Trois de ces groupes contenaient des souches de différents sérogroupes et sérotypes, les cinq autres étaient constitués d'un seul sérotype. L'analyse des clusters HC à différents niveaux de résolution (HC2000 à HC400) a permis l'identification des populations naturelles de *Shigella*, alors que la technique de sérotypage fortement affectée par le transfert horizontal de gènes a conduit au regroupement de souches de *Shigella* génétiquement non apparentées et inversement. Enfin l'analyse des différents sérotypes provisoires rapportés dans la littérature a permis de mettre à jour la nomenclature en décrivant cinq nouveaux (séro)types de *Shigella*.

En conclusion, le cgMLST des *Escherichia/Shigella* d'EnteroBase est une technique standardisée, robuste, facile d'utilisation et à haute résolution qui améliorera la surveillance génomique des infections à *Shigella*. Cependant, les données cgMLST doivent être toujours couplées avec des données de sérotypage *in silico* afin de maintenir un certain niveau de compatibilité avec la nomenclature historique.

Mots clés : Shigella - cgMLST - EnteroBase - Séquençage à haut débit - Sérotypage.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P01

Anti-microbiens & résistance

Détection de KPC, NDM et OXA-23 chez une même patiente de retour d'Égypte

Margaux Allain^{1,2} (margaux.allain2@aphp.fr), Benoist Gibeaux¹, Guilène Barnaud¹, Nadia Idri¹, Nicolas Javaud³, Luce Landraud^{1,2}

¹ Service de Microbiologie-Hygiène, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France

² IAME U1137, INSERM, Paris, France

³ Service d'Accueil et Urgences adultes, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France

Introduction et objectifs :

Nous présentons le cas clinique d'une patiente, revenant d'Égypte, consultant pour un sepsis à point de départ urinaire. Une souche de *Klebsiella pneumoniae* et un *Acinetobacter baumannii* pan-résistants ont été isolés dans ses urines et dans son dépistage rectal. L'objectif de ce travail était de caractériser la résistance aux carbapénèmes des deux souches.

Matériels et méthodes :

Le profil de multirésistance a été déterminé par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations 2019 du CA-SFM/EUCAST.

Pour les deux souches, le contenu plasmidique a été extrait (Midi kit Qiagen®) et la caractérisation des gènes de carbapénémases a été réalisée par le kit Xpert Carba-R (Cepheid®). Une recherche ciblée a ensuite été effectuée, sur les souches et les extraits plasmidiques, pour CTX-M, NDM, KPC et 3 oxacillinases (OXA-23, OXA-24 et OXA-58) d'*A. baumannii*. Les gènes *bla*_{NDM} et *bla*_{KPC} ont été séquencés (technique Sanger, Genewiz®).

Le typage des replicases plasmidiques a été réalisé avec le PBRT-kit Diatheva® pour *K. pneumoniae* et par la recherche du gène *aci6* pour *A. baumannii* [1]. Enfin, la recherche du transposon Tn125 a été effectuée par PCR.

Résultats, discussion et conclusion :

Ce travail a permis de caractériser, d'une part, une souche de *K. pneumoniae* porteuse d'une CTX-M-14, d'une NDM-1 et d'une KPC-2, pour laquelle trois réplicases plasmidiques ont été détectées (IncFII, FIB-M et IncR) [2] et d'autre part, de montrer que la souche d'*A. baumannii* portait une NDM-1, une OXA-23 et la réplicase *Aci6*. Enfin, le transposon composite Tn125, classiquement associé au gène *bla*_{NDM} [3], a été détecté pour les deux souches.

Les premiers éléments moléculaires évoquent des homologues avec des clones épidémiques déjà décrits [4]. Une analyse plus précise des clones et des plasmides serait pertinente. En effet, la localisation de *bla*_{NDM} chez *A. baumannii* reste discutée, le gène ayant été décrit au niveau chromosomique mais aussi au niveau plasmidique [5]. Cette observation originale avec la co-découverte de plusieurs carbapénémases chez la même patiente, et notamment une NDM commune au sein de deux espèces, rappelle l'importance de la surveillance épidémiologique des carbapénémases au regard de la dissémination de ces résistances.

Mots clés : Multirésistance - Carbapénémase - Plasmide - *Acinetobacter* - NDM.

Références :

1. Bertini A, Poirel L, Mugnier P, Villa L, Nordmann P, Carattoli A. 2010. Characterization and PCR-Based Replicon Typing of Resistance Plasmids in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 54(10):4168-77.
2. Villa L, Poirel L, Nordmann P, Carta C, Carattoli A. 2012. Complete sequencing of an IncH plasmid carrying the *bla*_{NDM-1}, *bla*_{CTX-M-15} and *qnrB1* genes. *J Antimicrob Chemother.* 67(7):1645-50.
3. Bontron S, Nordmann P, Poirel L. 2016. Transposition of Tn125 Encoding the NDM-1 Carbapenemase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 60(12):7245-51.
4. Lee C, Lee J, Park K, Kim Y, Jeong B, Lee S. 2016. Global Dissemination of Carbapenemase Producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. *Front Microbiol.* 7: 895.
5. Jones L, Toleman M, Weeks J, Howe R, Walsh T, Kumarasamy K. 2014. Plasmid Carriage of *bla*_{NDM-1} in Clinical *Acinetobacter baumannii* Isolates from India. *Antimicrob Agents Chemother.* 58(7): 4211-13.

AR-P Anti-microbiens & résistance**AR-P02****Dépistage simplifié des entérobactéries multi-résistantes sur antibiogramme : deux boîtes valent-elles mieux qu'une ?**

Florian Baquer (baquer.florian@gmail.com), Guillaume Gregorowicz, Baptise Panager, Olivier Augereau, Thomas Gueudet, Dominique De Briel

Laboratoire, Hôpitaux civils de Colmar, Colmar, France

Objectif :

Le dépistage des bêta-lactamases à spectre étendu et des carbapénèmases est un enjeu de santé publique. La mise en évidence des mécanismes de résistance nécessite la réalisation d'un antibiogramme sur gélose Muller Hinton (MHE). Le besoin d'utiliser une gélose Muller Hinton additionnée de cloxacilline à 250 mg/L (MHC) pour la recherche de céphalosporinase hyperproduite se traduit parfois par une utilisation systématique dans certains laboratoires pour l'identification des mécanismes de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération.

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'utilisation d'une boîte unique MHE comportant entre autres les disques de ceftriaxone, ceftazidime et céfépime combinés à de l'acide clavulanique ainsi que la disposition d'un disque d'amoxicilline/acide clavulanique rapproché pour détecter les mécanismes de résistance aux C3G.

Matériel et méthode :

Quatre-vingt-cinq isolats d'entérobactéries présentant une croissance sur géloses sélectives ESBL et/ou CARBA et/ou OXA-48 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) ont été incluses de juin à août 2021, à partir de prélèvements rectaux de dépistages. Des antibiogrammes ont été réalisés en utilisant le panel de disque cité sur gélose MHE et MHC.

Résultats et conclusions :

Le panel sur boîte unique MHE utilisé permet une bonne détection des BLSE, des céphalosporinases de haut niveau, de leur association ainsi que des carbapénèmases. Toutes les souches productrices de carbapénémase ont été suspectées à partir du panel testé. Neuf virgule quatre pourcent des isolats ont nécessité l'utilisation dans un second temps d'une gélose additionnée de cloxacilline en raison d'un ertapénème réduit, ces souches étaient toutes productrices d'une céphalosporinase de haut niveau. L'utilisation d'une gélose unique MHE a permis une économie de 65% du budget compressible des géloses MH pour antibiogramme sur un laboratoire pratiquant 5650 dépistages par an avec un taux de positivité des géloses sélectives de 28%.

Mots clés : BMR - Détection - Simplification - Disques combinés - MHC.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P03

Transmission horizontale de *Escherichia coli* multirésistants favorisée via l'environnement sans transmission verticale directe dans la pyramide de l'élevage de poulets

Philippe Bochereau^{1,2} (philippe.bochereau@inrae.fr), Isabelle Foubert^{1,2}, Benoît Doublet^{1,2}, Sébastien Leclercq^{1,2}, Sylvie Baucheron^{1,2}

¹ ISP, INRAe, Nouzilly, France

² Université de Tours, Tours, France

Le taux d'antibiorésistance diminue depuis plusieurs années dans les élevages de volailles en France, en corrélation avec un moindre recours aux antibiotiques en santé animale. Cependant le tube digestif des animaux de rente et l'environnement d'élevage sont considérés comme potentiels réservoirs de bactéries multirésistantes. Cette étude évalue la transmission verticale ou horizontale ou la persistance de l'antibiorésistance tout au long de la chaîne de production de poulets.

Des prélèvements de fientes de poulets sains, de surfaces des bâtiments et d'eau ont été réalisés en 2018 - 2019 dans un élevage expérimental qui permet l'accès à l'ensemble des étapes la filière avicole. Le suivi de l'antibiorésistance a été réalisé sur trois générations successives de poules reproductrices élevées en bâtiment protégé afin d'entretenir la lignée (lot reproducteur) ainsi que sur leurs descendants élevés dans des conditions standards pour la production de viande (lot testage).

Malgré la non-utilisation d'antibiotiques dans cet élevage depuis une décennie, des *E. coli* antibiorésistants ont été isolés des prélèvements biologiques et environnementaux. Le phénotype majoritaire de multirésistance aux sulfamides, tétracycline, triméthoprim et ampicilline présentait un taux de 45,5 % chez les isolats de fientes. Une diversité plus importante des phénotypes de multirésistance a été observée chez les isolats du lot testage, telle que les résistances supplémentaires à la streptomycine, aux quinolones et/ou aux phénicolés.

L'analyse de séquences des génomes entiers pour 152 isolats d'*E. coli* a montré qu'ils appartiennent majoritairement au phylogroupe A (55,9%), exclusivement associé au lot reproducteur et au phylogroupe B1 (36,2%), très fortement associé au lot testage. Les trois séquence types majoritaires sont ST162 (B1), ST93 et ST2701 (A) et sont partagés entre générations, de plus chaque ST est associé à un seul sérotype, excepté ST162 associé à deux sérotypes.

Les gènes d'antibiorésistance identifiés corroborent les profils phénotypiques des isolats et les plasmides identifiés indiquent une possible transmission horizontale de l'antibiorésistance plasmidique entre bactéries portées par les animaux d'un même lot.

Les *E. coli* multirésistants isolés de l'élevage présentent donc une faible diversité génétique. Ils semblent persister dans l'environnement d'élevage et s'implanter chez les animaux des lots successifs, sans transmission verticale inter-générationnelle directe.

Mots clés : Antibiorésistance transférable - *E. coli* - Plasmide - Élevage - Poulet.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P04

Interaction entre la membrane cellulaire de *Oenococcus oeni* et la protéine Lo18

Tiffany Bellanger¹ (tiffany.bellanger@u-bourgogne.fr), Fabrice Neiers², Ali Assifaoui³, Patrice Delarue⁴, Patrick Senet⁴, Hervé Alexandre¹, Stéphanie Weidmann¹

¹ Procédés Alimentaires et Microbiologiques (PAM), Laboratoire VALMiS-IUVV, Université de Bourgogne-Franche-Comté, Dijon, France

² Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation (CSGA), Université de Bourgogne-Franche-Comté, Dijon, France

³ Procédés Alimentaires et Microbiologiques (PAM), Université de Bourgogne-Franche-Comté, Dijon, France

⁴ Laboratoire Interdisciplinaire Carnot de Bourgogne (ICB), Université de Bourgogne-Franche-Comté, Dijon, France

Introduction et objectif :

Oenococcus oeni, bactérie lactique impliquée dans la fermentation malolactique du vin, doit mettre en place différentes stratégies pour contrecarrer les stress causés par ce milieu difficile. Parmi les stratégies de réponse au stress développées par cette bactérie, la small heat shock protein (sHSP) Lo18 est produite dès le début du stress et adressée à la membrane sous sa forme dimérique. Elle exerce alors un rôle de lipochaperon en interagissant avec les lipides constituant la membrane afin de maintenir une fluidité membranaire optimale nécessaire à la survie de *O. oeni*. Ces travaux s'intéressent aux mécanismes d'interaction, encore peu décrits, entre la membrane cellulaire de *O. oeni* et Lo18.

Matériels et méthodes :

Les expériences visant à caractériser ces interactions ont été réalisées en surproduisant la protéine Lo18 dans un système hétérologue chez *Escherichia coli* puis en la purifiant. Un mutant de Lo18 nommé Y107A, altéré pour l'activité lipochaperon, a été créé en remplaçant une tyrosine par une alanine en position 107. Par des analyses bio-informatiques, sa localisation sur la structure tertiaire de la protéine a été déterminée par alignements multiples entre les séquences de sHSPs de structures connues ou décrites pour leur activité lipochaperon. De ces alignements, des calculs de modélisation ont été effectués pour déterminer, *in silico*, la structure tridimensionnelle de Lo18 et ses interactions physiques avec des phospholipides.

La charge globale de la protéine a été déterminée *in vitro* par des mesures du potentiel Zeta. Puis, les interactions entre plusieurs phospholipides et Lo18 sauvage et mutée ont été testées par immunomarquage.

Résultats, discussion et conclusion :

Lo18, chargé négativement à pH physiologique, interagit préférentiellement avec des phospholipides chargés positivement ou neutre et en phase cristalline. Cette interaction n'étant pas modifiée avec le mutant Y107A, Lo18 se lierait à la membrane grâce à des interactions d'ordre électrostatique, mais rigidifierait la membrane par d'autres mécanismes encore inconnus. D'ailleurs, l'analyse des différentes structures connues de sHsp ainsi que la modélisation suggèrent l'implication du domaine C-ter dans l'interaction avec les lipides. L'ensemble de ces résultats, obtenus par homologie de séquence, doivent être confirmés par la détermination de la structure tridimensionnelle de Lo18.

Mots clés : sHsp - Activité lipochaperon - Bactérie lactique - Interaction lipides-protéines.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P05

Tracking antibioresistance in a North Sea largely harvested fish species: origin, drivers and human health issues

Thomas Brauge¹ (tbrauge@yahoo.fr), Pierre Cresson², Sophie Granier³, Sylvain Trigueros¹, Arnaud Briet^{1,4}, Margaux Denamiel², Manuel Rouquette^{2,5}, Graziella Midelet¹

¹ Food Safety Laboratory, Anses, Boulogne-sur-Mer, France

² Channel/North Sea fisheries laboratory, Ifremer, Boulogne-sur-Mer, France

³ Fougères Laboratory, Anses, Fougères, France

⁴ Bactériologie moléculaire, Université libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique

⁵ Laboratoire Environnement et Ressources Bretagne nord, Ifremer, Dinard, France

Stable isotopes have been used for decades to understand the fate of chemicals in the marine food webs but never to track if antimicrobial resistance (AMR) is also driven by trophic drivers. AMR is now recognized as a major risk for human health, and most health agencies worldwide put a high priority on it (e.g. WHO, FAO or OIE). So far, AMR bacteria in livestock animal received much attention while AMR bacteria in marine environment has been overlooked. Through a large collection of whiting (*Merlangius merlangus*) samples in the south of the North Sea, we collected the bacterial communities associated with this species, the occurrence of AMR bacteria, and also collected individuals' life history traits, under the assumption that human (e.g. integration of riverine inputs, potentially carrying AMR bacteria) or natural factors (e.g. trophic level) may drive the composition of fish-associated bacterial community or AMR bacteria occurrence.

Among the 4 major bacterial genus observed (*Staphylococcus*, *Bacillus*, *Psychrobacter* and *Aerococcus*), AMR was detected for some strains from the genus of *Staphylococcus* in some locations. In addition, 7 strains were found to be multi-resistant (i.e. remaining to at least 3 classes of antibiotics).

This collection was also the opportunity to look for the spatial variability of isotope ratio in this area. Rivers had local influence on whiting isotopic ratios notably in the south of the North Sea (eg French, Belgian and Dutch coasts) but not on the English side. Values are also consistent with the known repartition of whiting populations (e.g. small individuals in the eastern North Sea nursery).

The combined analysis of microbiological, ecological and environmental descriptors shows little correlation between them. This seems to exclude an influence of growth or feeding mechanisms in the composition of bacterial communities in the gills or skin of fish, nor in the acquisition of antibiotic resistance. Only latitude seems to be correlated with microbiological variables, but this reflects more an influence of rivers. It appears that the trophic component of riverine inputs (usually traced by stable isotopes) is not relevant to understanding the effect of rivers on the bacterial community or antibiotic resistance.

Mots clés : Antimicrobial resistance - Isotopes - Fish - North Sea - Staphylococcus.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P06

Eva-BHRe : outil de prévention de la transmission des BHRe en établissement de santé de SPARES

Elodie Couvé-Deacon^{1,2} (elodie.couve-deacon@chu-limoges.fr), Olivia Ali-Brandmeyer³, Julien Claver³, Emmanuelle Reyraud⁴, Karine Blanckaert⁵, Nathalie D'Hollander-Pestourie², Wasfi Fillali², Anne-Gaëlle Venier⁶, Le groupe SPARES³, Catherine Dumartin⁷, Loïc Simon³

¹ Laboratoire Bactériologie-Virologie-Hygiène - mission SPARES, CHU Dupuytren, Limoges, France

² Laboratoire Bactériologie-Virologie-Hygiène - unité d'Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

³ Mission SPARES, CPias Grand Est, Nancy, France

⁴ Mission SPARES, CPias Nouvelle Aquitaine, Bordeaux, France

⁵ Mission PRIMO, CPias Pays de la Loire, Nantes, France

⁶ Mission MATIS, CPias Nouvelle Aquitaine, Bordeaux, France

⁷ Mission SPARES, CPias Nouvelle Aquitaine, Nancy, France

Introduction :

Dans le cadre de son volet prévention, la mission SPARES (Surveillance et Prévention de l'AntibioRésistance dans les Etablissements de Santé) a mis en place un outil d'autoévaluation de la maîtrise de la transmission croisée des Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRe) à destination des établissements de santé (ES). L'objectif de l'outil était de proposer des axes d'amélioration ciblés en accord avec les recommandations « Prévention de la transmission croisée des BHRe » du HCSP de décembre 2019.

Matériel et méthodes :

Cette évaluation concernait les ES ayant hospitalisé un patient porteur BHRe dans les 6 mois. Les données recueillies au moyen de fiches établissement, service et patient portaient sur 12 grands items représentant les points clés de risques de transmission des BHRe en termes de stratégies de prise en charge des patients porteurs, de connaissances et de pratiques des soignants lors de l'admission du dernier patient porteur. Les résultats étaient saisis dans une application en ligne permettant le calcul d'un niveau de maîtrise par item (haut, modéré et bas), associé en fonction du niveau de maîtrise de l'item à une proposition d'axe d'amélioration pratique.

Résultats :

L'évaluation a été conduite du 1er octobre 2020 au 28 février 2021 par 132 ES, soit 377 services et 377 observations patient. L'hygiène des mains était maîtrisée dans 40% des ES et la composition d'Equipe Opérationnelle d'Hygiène (EOH) conforme dans 75% des ES. Le bionettoyage autour des patients porteurs était maîtrisé dans 63% des services, l'information du patient dans 38%, la transmission des informations lors de la sortie et des transferts dans 73% et l'identification des porteurs de BHRe à l'admission dans 80% des services.

Conclusion :

Nos résultats soulignent comme axes majeurs d'amélioration de la transmission croisée des BHRe la formation régulière des professionnels, l'application des recommandations du HCSP et une évolution vers la conformité de la composition de l'EOH. Une première amélioration sera la sensibilisation des services participants par la restitution des éléments d'audit. La mise en œuvre des axes d'amélioration suggérés par l'outil fera l'objet d'une enquête d'impact prévue à 6 mois.

Mots clés : Bactéries Hautement Résistantes émergentes - Transmission croisée - Niveau de maîtrise - Évaluation - Axes d'amélioration.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P07

Resistance to macrolides-lincosamides and tetracyclines of *Streptococcus suis* strains isolated from swine in France

Manon Dechene-Tempier¹ (manon.dechene-tempier@univ-lorraine.fr), Eric Jouy¹, Sophie Payot-Lacroix², Virginie Libante², Corinne Marois-Créhan¹

¹ Unité Mycoplasmologie, Bactériologie et Antibiorésistance, Anses, Ploufragan, France

² Laboratoire Dynamique des Génomes et Adaptation Microbienne, INRAE, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

Introduction:

Streptococcus suis is a zoonotic bacterial pathogen causing pig infections [1]. A key determinant for infections is the serotype of the bacteria. Even though serotype 2 is preponderant worldwide, other serotypes can be responsible for infections [2]. The serotype distribution can change with time and geographical location. Strains of *S. suis* can also be classified into three groups according to their pathotypes [3]. Tetracyclines and macrolides belong to antibiotics mostly used in swine industry [4]. Resistance to those antibiotics has been widely observed in *S. suis*, in addition the genes conferring these resistances are localized on mobile genetic elements [5]. However, we only have few data for France, especially in relation with the different serotypes and pathotypes. Therefore, the aim of the study was to estimate the resistance to tetracycline, macrolides-lincosamides of *S. suis* strains isolated from pigs in France at different time periods and belonging to different pathotypes and serotypes.

Materials and methods:

A total of 200 stains isolated before 2010 and after 2015 and belonging to 3 pathotypes (non-clinical, respiratory, systemic) and 21 serotypes (serotypes 2, 9, 7, 3, 1, 1/2, and others), were explored. Tetracycline, erythromycin, lincomycine and clindamicin, have been tested using the disk diffusion method according the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). Results were interpreted with the criteria specified in CLSI performance standard VET01-S3.

Results and discussion:

The relations between the antibiotic resistance phenotypic profiles, the year of isolation, the pathotype and the serotype were explored. The resistance rate observed was in adequacy with the literature (60-70% of the strains tested are resistant to macrolides-lincosamides and tetracyclines). Apparent bond between pathotypes, serotypes and the resistance rate of antibiotics are suggested.

Resistance rate against tetracyclines and macrolides is high in this bacterial species. The prescription of these antibiotics is not indicated for invasive streptococcal diseases. The pressure of selections induced by the use of these molecules for other infections therefore plays a key role in the development of their resistance. *S. suis* can therefore play a major role in the spreading of resistance genes to other species sharing the same habitat.

Mots clés : Streptococcus suis - Antimicrobial resistance - Disk diffusion.

Références :

1. Gottschalk M. Diseases of Swine : p. 841-855. In K. L. Zimmerman JJ, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW (ed.), Diseases of swine, 10th ed. Wiley-Blackwell Publishing, Ames, IA.
2. Segura M. Streptococcus suis Research: Progress and Challenges. Pathogens. 2020;9(9):707.
3. Weinert LA, Chaudhuri RR, Wang J, Peters SE, Corander J, Jombart T, Baig A, Howell KJ, Vehkala M, Välimäki N, Harris D, Chieu TTB, Van Vinh Chau N, Campbell J, Schultsz C, Parkhill J, Bentley SD, Langford PR, Rycroft AN, Wren BW, Farrar J, Baker S, Hoa NT, Holden MTG, Tucker AW, Maskell DJ. Genomic signatures of human and animal disease in the zoonotic pathogen Streptococcus suis. Nat Commun. 3 nov 2015;6(1):6740.
4. Lekagul A, Tangcharoensathien V, Yeung S. Patterns of antibiotic use in global pig production: A systematic review. Veterinary and Animal Science. juin 2019;7:100058.
5. Libante V, Nombre Y, Coluzzi C, Staub J, Guédon G, Gottschalk M, Teatero S, Fittipaldi N, Leblond-bourget N, Payot S. Chromosomal conjugative and mobilizable elements in Streptococcus suis: Major actors in the spreading of antimicrobial resistance and bacteriocin synthesis genes. Pathogens. 2020;9(1):1 23.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P08

Genomic characterization of a *mcr-1* and *mcr-3*-producing *Escherichia coli* strain isolated from pig in France

Afaf Hamame^{1,2} (afafhamame@gmail.com), Bernard Davoust^{1,2}, Zerrouki Hanane¹, Jean Marc Rolain^{1,2}, Seydina Diene^{1,2}

¹ Aix Marseille Univ, IRD, APHM, MEPHI, Faculté de Pharmacie, Marseille, France

² IHU-Méditerranée Infection, IRD, APHM, MEPHI, Marseille, France

Introduction and objective:

In this manuscript, we describe the phenotype and the genotype of an atypical *Escherichia coli* Q4552 isolated from pig with two *mcr* genes conferring resistance to colistin. This strain is the first bacteria carrying two variant *mcr* genes in France. Genomic and biomolecular background revealed the presence of a chromosomal *mcr-1* gene and a plasmidic *mcr-3* gene.

Materials and methods:

Colistin resistant bacteria were investigated from pigs' stool samples, collected in 2020 from a pigs' slaughterhouse in Avignon department of Vaucluse, France. Firstly, biomolecular tools were used for *mcr* detection (PCR, sequencing). Then, culture on LBJMR medium followed by a series of isolations and identifications by MALDI TOF. Antibiotic susceptibility testing (AST) was performed on isolated bacterium of interest. Whole genome sequencing using Miseq Illumina and MinION technologies was performed and an exhaustive bioinformatic genome analysis has been carried out.

Results and discussion:

Selective culture of pigs' stool and MALDI-TOF identification revealed the presence of *E. coli* strain named Q4552. This strain was positive for *mcr* gene variants by RT-PCR, standard PCR and sequencing revealing the co-occurrence (i.e., *mcr-1.1* and *mcr-3.5*). The performed AST showed its multi-resistance phenotype to antibiotics including resistance to colistin. Interestingly, Whole genome sequencing resulted to a genome size of 4'702'528-pb with % GC content of 50.8%. Further, genomic analysis improved the crucial role of MGEs mobile genetic elements in *mcr* localization. It is managed by a transposon harboring *mcr-1.1* in the chromosome and *mcr-3.5* bearing IncFII plasmid. Bioinformatic set analysis reveals coincidentally the high homology of the same MGEs in *E. coli* from pigs in China and the IncFII carrying *mcr-3.5* in Vietnam ^{1,2}.

Conclusion:

This study elucidates other important hypothesis the origin of *E. coli* Q4552 and principal implication of MGEs in the spread of *mcr* genes. Co-appearance of *mcr* genes need more studies to explore their mechanisms.

Mots clés : Mcr - Colistine resistance - Pigs - France - MGEs.

Références :

1. Yamaguchi, T. et al. The presence of colistin resistance gene *mcr-1* and -3 in ESBL producing *Escherichia coli* isolated from food in Ho Chi Minh City, Vietnam. *FEMS Microbiol Lett* 365, (2018).
2. Li, R. et al. Comprehensive Genomic Investigation of Coevolution of *mcr* genes in *Escherichia coli* Strains via Nanopore Sequencing. *Global Challenges* 5, 2000014 (2021).

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P09

Impact of the physiological state of mold spores on their resistance to chlorinated disinfectant

Aurélie Hanin¹ (a.hanin@actalia.eu), Malvina Lefevre¹, Vincent Visconti², Benjamin Duqué¹, Bernard Picoche¹

¹ Food Safety, ACTALIA, Saint-Lô, France

² Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France

Introduction:

Fungi are a major source of contamination of agri-food environments because of their ability to survive and grow on foods, particularly through the production of spores that also facilitate their dissemination. They can directly or indirectly cause the contamination of food products. To reduce the risks of contamination, manufacturers use a wide variety of chemical disinfectants. Their fungicidal efficacy is evaluated according to the protocols described in many standards, including the standard NF EN 17272 (2020) for the specific evaluation of process-product couples for airborne room disinfections. However, these standards may have some limitations. Indeed, the chosen species, the physiological conditions of fungi during sporulation and the presence of a soiling substance can have an impact on the survival rate of conidia in response to a treatment with a disinfectant. The impact of these parameters was then investigated in this study.

Material and methods:

Two strains of *Penicillium commune* isolated from spoiled cheeses were used. Spores were produced on reduced aw (aw 0.95) or non-reduced aw (aw 0.99) media. Then, spores were collected without being rehydrated or being rehydrated in different interfering substances (whole or skim milk, BSA 0.3 g/l or 1/20th skim milk) and subjected to a 0.1% chlorine treatment for 12.5 min after adhesion on stainless steel surfaces.

Results and conclusion:

Where spores were in contact with skim or whole milk, the activity of the chlorine solution is nil or greatly reduced. In contrary, when spores were suspended in 0.3 g/L BSA or 20-fold diluted skim milk (standard conditions), no surviving spores were counted in almost all cases with a log reduction greater than or equal to 3-3.5 log. Dry spores produced on a medium with reduced aw displayed intermediate phenotypes.

This study then showed that the use of spores rehydrated in 1/20th skim milk or in BSA at 0.3 g/l could cause an overestimation of the efficiency of chlorine towards dry spores produced under suboptimal growth conditions and could call into question the normative conditions used to validate the fungicidal effect of biocides. Besides, these results demonstrate once again the importance of cleaning prior to disinfection.

Mots clés : Fungi - Disinfectant - Conidia - Resistance - Chlorine.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P10

Emergence of plasmid-mediated AmpC genes in *Enterobacter cloacae* complex strains from a sepsis outbreak in a neonatal intensive care unit

Enrique Hernandez Alonso¹ (ehernandez_aa@hotmail.com), Véronique Derouin², Marine Evevrin², Millie Villet², Mariana Bilan², Pierre Jatteau², Daniele De Luca De Luca², Florence Doucet-Populaire^{2,3}, Nadège Bourgeois-Nicolaos^{2,3}

¹ Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC) UMR 9198, University Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France

² Service de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine-Béclère Ap-Hp, Clamart, France

³ Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC) UMR 9198, University Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France

Background:

The dissemination of plasmid-mediated *ampC* genes (pAmpC) conferring resistance to third-generation cephalosporins has been widely reported around the world making this a public health problem. pAmpC enzymes are most often found in nosocomial *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains and there are few published reports regarding occurrence of these enzymes in other genera. In this study we described the prevalence of pAmpC encoding genes in *Enterobacter cloacae* complex (ECC) isolates collected from a sepsis outbreak in a neonatal intensive care unit (NICU).

Materials and methods:

Among 60 non-related ECC strains, 25 cefotaxime resistant isolates were obtained from the outbreak in NICU. The isolates were identified by MALDI-TOF and antimicrobial susceptibility was performed by disk diffusion according to Antibiogram Committee of the Microbiology French Society (CA-SFM, 2018). PCR and sequencing were employed to detect pAmpC genes (ACT, MIR and CMH) and whole genome sequences (WGS). The clonal relatedness of pAmpC-positive isolates was evaluated by enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PCR method.

Results:

In total 25 isolates of ECC were positive for presence of pAmpC genes among those *bla*ACT-like (19/25) was the most prevalent gene followed by *bla*MIR-like (5/25) and *bla*CMH-like (1/25). All strains were susceptible to carbapenems. (ERIC)-PCR analysis showed clonal relationship between *bla*MIR-like isolates and non-clonal relationship between *bla*ACT-like isolates. Two new alleles *bla*MIR-like and *bla*CMH-like were identified by WGS. The amino acid sequences showed 89% identity between *bla*MIR-like and *bla*MIR-14 with 14 amino acid changes. *bla*CMH-like show 2 amino acid changes with the other 5 alleles reported in GenBank.

Conclusions:

Plasmid-mediated *bla*ACT-like *ampC* genes was highly prevalent in this study. A two novel alleles plasmid-mediated AmpC (MIR/CMH) in *E. cloacae* complex were identified. The highly prevalence found in this work is worrisome due to their possible plasmidial location that could be disseminated and favored the selection of multiresistant strains.

Mots clés : Enterobacter - AmpC - Resistance - Enterobacteriaceae.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P11

Analysis of the binding and nicking-closing activities of a MOBt relaxase reveals unusual features

Haifa Laroussi (haifa.laroussi@univ-lorraine.fr), Yanis Aoudache, Emilie Robert, Nicolas Soler, Nathalie Leblond-Bourget

Dynamique des génomes et adaptation microbienne, Université de Lorraine, Nancy, France

Introduction and objectives:

Conjugation is one of the main mechanisms of horizontal gene transfer, playing a crucial role in the evolution and adaptation of prokaryotes but also contributing to the spread of antibiotic resistance. Conjugation can be mediated by conjugative plasmids or by integrative and conjugative elements (ICEs). The analysis of streptococcal genomes showed the high prevalence of ICEs belonging to the ICESt3/Tn916 superfamily (Ambroset et al, 2016). The initiation of conjugation requires a key protein named relaxase. This protein nicks the DNA to be transferred at the origin of transfer (*oriT*). The ICESt3 superfamily encodes uncanonical relaxases belonging to a unique family called MOBt recently characterized (Soler et al, 2019). This family is related to the rolling circle replication initiators of the Rep-trans family (prototype RepC from pT181). The nick site of this family is conserved with Rep-trans proteins; however, the DNA binding site is still unknown. The aim of this study was to determine the binding site of the relaxase RelSt3 from ICESt3 (*Streptococcus thermophilus*) on *oriT* given that RelSt3 harbors a HTH domain, and to understand the functional link of this binding with the nicking activity.

Materials and methods:

Binding site identification was performed by electrophoretic mobility shift experiments (EMSA). Nicking-closing assays were done using labeled oligonucleotides in the presence of the cationic cofactor of RelSt3, Mn²⁺.

Results, discussion and conclusion:

We determined the minimal sequence on the *oriT* recognized by RelSt3. It includes the conserved nicking site and a downstream region containing inverted repeats. We showed that this binding is mediated by the HTH domain of RelSt3. This binding is important for a full nicking activity *in vitro*, and is essential *in vivo*, as demonstrated by the absence of transconjugants using a variant of ICESt3 depleted for this HTH domain. We also further characterized the enzymatic activities of RelSt3, demonstrating its closing activity using oligonucleotides, and revealing the existence of a covalent intermediate for the first time for a MOBt family.

Mots clés : Bacterial conjugation - ICE/Tn916 - Relaxase - MOBt - DNA binding.

AR-P Anti-microbiens & résistance**AR-P12****Air sampling protocol for SARS-CoV-2 detection in healthcare settings**

Cecilia Lorient (cecilia.lorient@bertin.fr), Sophie Dubacq, Laure Duvauchelle, Mariana Gaboriau

Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, France

Introduction and objectives:

Nosocomial infections are an increasing source of concern for the Covid-19 pandemic. Several studies have shown that the transmission of Covid-19 in healthcare settings may amplify local outbreaks, and can worsen the burden on already overstretched resources (1). Understanding the airborne transmission of respiratory viruses, such as the coronaviruses or the influenza viruses, is a crucial step to design the appropriate prevention and control measures. However, monitoring the presence of viruses in the air can be a very challenging process as viruses are often present at a very low concentration relative to the detection threshold of PCR assays.

Material and methods:

In this poster, we present how the Coriolis air samplers (Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, France) can be used to detect the presence of viruses in the air. We describe a protocol used to evaluate SARS-CoV-2 surface and air contamination in a London hospital, using surface swabs and the Coriolis μ air sampler coupled with RT-qPCR and viral culture.

Results:

Viral RNA was detected in 14/31 (38.7%) of the collected air samples but no virus was cultured. Viral RNA was found in the air occupied by Covid-19 patients but also in public areas of the hospital.

Mots clés : SARS-CoV-2 detection - Air Sampling - Coriolis.

Références :

1. Taylor, Jennifer, et al. «Nosocomial COVID-19: experience from a large acute NHS Trust in South-West London.» *Journal of Hospital Infection* 106.3 (2020): 621-625.

AR-P Anti-microbiens & résistance**AR-P13****Expression et mise en évidence d'une activité anti-*Escherichia coli* y compris *E. coli* résistant à la colistine, d'une nouvelle bactériocine de classe II, produite par *Lacticaseibacillus paracasei* CNCM I-5369**

Désiré Madi Moussa (desire.madimoussa.etu@univ-lille.fr), Françoise Coucheney, Djamel Drider

UMRT BioEcoAgro1158 Polytech Lille, Villeneuve-d'Ascq, France

Introduction et objectifs :

Chaque année, la résistance aux antibiotiques est responsable de 700 000 décès dans le monde et d'ici 2050, elle causera plus de 10 millions de décès par an. Pour l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), lutter contre la résistance aux antimicrobiens est une priorité. L'une des stratégies qui a été proposée pour surmonter ce phénomène de résistance aux antibiotiques est l'utilisation des bactériocines. Dans cette optique, une souche de *Lacticaseibacillus paracasei* CNCM I-5369, capable de produire cinq bactériocines ayant une activité anti-*E. coli* y compris *E. coli* résistant à la colistine a été identifiée. Toutefois, cette activité est pH dépendante, dans la mesure où elle n'est observée qu'à un pH compris entre 4,5 et 5. Ainsi, nous nous focaliserons sur la production, la purification et la caractérisation d'une des cinq bactériocines appelée ORF030.

Matériels et méthodes :

La bactériocine ORF030 a été produite en système hétérologue chez *E. coli* Rosetta et purifiée par chromatographie Ni-NTA. Sa structure secondaire a été prédite à l'aide du logiciel I-tasser puis confirmée par dichroïsme circulaire (DC). Pour pouvoir identifier la région du peptide ORF030 requise pour l'activité antibactérienne, les déterminants génétiques correspondant aux régions N-terminale (39 premiers acides aminés) et C-terminale (71 derniers acides aminés) ont été clonés dans le plasmide pET-32b, permettant ainsi de les exprimer individuellement dans un système hétérologue, à partir d'un promoteur inductible à l'IPTG. Par ailleurs, plusieurs variants de la bactériocine ORF030 ont été construits par mutagenèse dirigée afin de déterminer l'implication des acides aminés substitués dans l'activité antibactérienne, plus particulièrement anti-*E. coli*.

Résultats, discussion et conclusion :

La bactériocine ORF030 adopte une structure secondaire caractérisée par la présence de cinq hélices α et sa région N-terminale est plus impliquée dans l'activité antibactérienne. Cependant, les expériences de mutagenèse dirigée réalisées sur le gène codant le peptide ORF030 ont permis de mettre en évidence les acides aminés impliqués dans l'activité anti-Gram négatif.

Mots clés : Bactériocines - Expression hétérologue - Activité anti-Gram négatif.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P14

Understanding and exploiting bioactivation enzymes in *Mycobacterium tuberculosis* as a non-canonical anti-TB strategyHedia Marrakchi (hedia.marrakchi@ipbs.fr)

IPBS/CNRS UMR5089, Toulouse, France

Tuberculosis (TB), caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), is the leading cause of death from a single infectious agent worldwide. Moreover, the continuous rise in the number of drug-resistant strains highlights the urgent need for innovative anti-TB drug development. One emerging approach is to potentiate and improve anti-TB compounds with validated mechanisms of action towards more effective and less toxic drug candidates. In the actual TB treatment, many anti-TB drugs require bioactivation by mycobacterial enzymes, notably through oxidation by Flavin-containing monooxygenases (MOs). *Mtb* was shown to have MOs that play roles in lipid metabolism as well as activation of anti-TB prodrugs. However, despite their emerging importance, their distribution, structural and functional features in mycobacteria remain enigmatic. We applied a comprehensive bioinformatics analysis among selected actinobacteria, including mycobacteria and confirmed the presence of six monooxygenases in *Mtb*. We used *in silico* sequence/structure/function characterization and *in vitro* and *in vivo* validation to examine these enzymes further and provide evidence that they contain characteristic motifs. We confirmed their activity and outlined their substrate preference. The biological significance of this finding was validated in a mycobacterial cell system, where sensitivity to prodrugs was searched upon overexpression of the proteins in mycobacteria. These data emphasize the selectivity and potential redundant role played by these class of enzymes in bacterial physiology and infection. Therefore, further biochemical and structural knowledge will open new avenues to target *Mtb* and other pathogens.

Mots clés : Tuberculosis - Monooxygenase - Bioactivation - Enzyme activity - Mycobacterium.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P15

Antibiotic Resistance Phenotypes of *Enterobacteriaceae* Isolated from Household Wastewater in Brazzaville, Republic of CongoRachel Moyen¹ (rmoyen@yahoo.fr), Tarcisse Baloki Ngoulou¹, Etienne Nguimbi^{1,2}, Gabriel Ahombo¹¹ Laboratoire de BCM, Faculté des Sciences et Techniques Université Marien NGOUABI, Brazzaville, Congo-Brazzaville² IRSN, Ministère de la Recherche Scientifique, Brazzaville, Congo-Brazzaville**Abstract:**

Household wastewater is a source of pollution and can present health risks when discharged into the environment. Thus, samples of household wastewater from a few neighborhoods in Brazzaville were analyzed for microbiological quality. The various samples were cultured for isolation on solid media using conventional microbiological methods. The bacteria isolated were identified by the *Enterobacter* System gallery. Sensitivity tests were performed using the standard antibiotic susceptibility test by diffusion on Mueller Hinton medium. At the end of the analysis, 51 *Enterobacteriaceae* were isolated and identified. They included: 8 (15.68%) *Escherichia coli*, 8 (15.68%) *Salmonella spp.*, 8 (15.68%) *Shigella spp.*, 8 (15.68%) *Klebsiella spp.*, 5 (9.80%) *Enterobacter aerogenes*, 8 (15.68%) *Enterobacter cloacae*, 3 (5.90%) *Arizona spp.*, 3 (5.90%) *Proteus spp.* The results obtained show that the bacteria tested showed total resistance to the following antibiotics: amoxicillin, amoxicillin + clavulanic acid, cloxacillin and nalidixic acid. On the other hand, imipenem, cefuroxime, cefotaxime, ceftriazone and kanamycin were the most active antibiotics with low levels of resistance. The low resistance rates observed for imipenem, cefotaxime, cefuroxime and ceftriazone show that these antibiotics can be used for the treatment of infections caused by household wastewater bacteria.

Mots clés : Antibiotics - Therapy - Enterobacteriaceae - Sewage - Households.

Références :

1. Jansen, K.U., Knirsch, C. and Anderson, A.S. (2018) The Role of Vaccines in Preventing Bacterial Antimicrobial Resistance. *Nature Medicine*, 24, 10-19. <https://doi.org/10.1038/nm.4465>
2. Ouali El Lalami, A., Zanibou, A., Bekhti, K., Zerrouq, F. and Marzouk, M. (2014) Microbiological Quality Control of Domestic and Industrial Wastewater from the City of FES in Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5, 2325- 2332.
3. Diallo, A.A. (2013) Pathogenic and Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in Effluents of Human and Animal Origin: Prevalence and Characterization before and after Purification Treatment. Single Thesis, University of Toulouse III, Toulouse, 204 p.
4. Tagajdid, M.R., Boumhil, L., Iken, M., Adnaoui, M. and Benoud, A. (2010) Study of the Resistance of *Escherichia coli* Strains Isolated in Urine to Third Generation Fluoroquinolones and Cephalosporins. *Medicine and Infectious Diseases*, 40, 70-73.
5. Oubrim, N., Cohen, N., Hajjami, K., Mohamed, B. and Mustapha, M.E. (2012) Détection des entérocoques fécaux et *Escherichia coli* résistant aux antibiotiques isolés à partir des eaux brutes épurées et cultures. *European Journal of Scientific Research*, 68, 453-461.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P16

First description of Extended-Spectrum β -lactamases and OXA-48 carbapenemase in Enterobacteriaceae isolates in Brazzaville, Congo

Esther Nina Ontsira Ngoyi¹ (esther_muller2003@yahoo.fr), Fils Landry Mpelle², Etienne Nguimbi², Christian Aimé Kayath², Jean-Marc Rolain³

¹ Université Marien NGOUABI de Brazzaville, Brazzaville, Congo-Brazzaville

² Faculty of Science and Technology, Marien Ngouabi University, Brazzaville, Congo-Brazzaville

³ Unit research unit on infectious and tropical emerging diseases (URMITE), IHU Me, Marseille, France

Objective:

To characterize genotypically ESBL and OXA-48 carbapenemases producing Enterobacteriaceae especially *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* (KES) and *Citrobacter* species in portage and infection processes at CHUB.

Material and methods:

The study was carried out for 7 months. 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.

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:

Thirty-four no duplicate Enterobacteria strains were isolated from thirty-four patients, of which 12/34 (35.29%) were from outpatients and 22/34 (64.70%) from internal patients.

Except for imipenem, colistin; the amikacin and Fosfomycin, tested antibiotics show high resistance to most of the beta-lactam, as well as a resistance very frequent aminoglycosides, to sulfamides, tetracyclines and Fluoroquinolones. 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.

Conclusion:

We report here for the first time in Congo Brazzaville, the presence of β -lactamase genes including *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX-M* and *blaOXA-48* genes at disturbing frequencies within Enterobacteriaceae strains at the Brazzaville University Hospital.

Mots clés : Enterobacteria - Beta lactamase - Carbapenemase - Brazzaville - Congo.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P17

A new transport pathway for the leaderless bacteriocin EntDD14 based on PH domain-containing proteins

Adrian Perez Ramos¹ (adrian.perez-ramos@univ-lille.fr), Abdallah Benachour², Djamel Drider¹¹ UMR Transfrontalière BioEcoAgro 1158, Institute Charles Viollette, Villeneuve-d'Ascq, France² UR Risques Microbiens, Université Caen-Normandie, Caen, France**Introduction and objectives:**

Enterocin DD14 (EntDD14) is a two-peptide leaderless bacteriocin (LLB) produced by *Enterococcus faecalis* 14, a strain isolated from meconium [1]. The LLB do not possess the N-terminal leader peptide (a common signal for the externalisation), nor undergo post-translational modifications. Thus, these atypical bacteriocins are reported to be immediately active after their translation in the cytoplasm. *E. faecalis* 14 carries a DNA cluster of 10 genes *ddABCDEFGHIIJ*, involved in the biosynthesis of EntDD14 [2]. The genes *ddE* and *ddF* encode the peculiar DdE and DdF proteins, which carry the pleckstrin homology (PH) domains, quite common in Eukarya proteins where are involved in intracellular signalling or cytoskeleton organization [3]. Nevertheless, their role in bacteria is unknown, thus in this work we aim to provide information on their function in the biosynthesis of EntDD14.

Materials and methods:

We have constructed two deletion mutants, *deltaddE* and *deltaddF*, lacking the corresponding gene. The mutants were obtained by recombinant exchange, using the conditional replicative pLT06 plasmid [4]. Then, the antimicrobial activity of the mutant supernatants was measured against *Listeria*; the gene expression of the operon was evaluated by RT-qPCR; the EntDD14 was detected by MALDI-TOF/MS; and the viability of the mutants was analysed.

Results, discussion and conclusions:

The *deltaddE* or *deltaddF* mutants have lost their anti-*Listeria* activity. The EntDD14 was absent from the supernatants, even though there was clear expression of the structural genes *ddAB* encoding EntDD14, and the genes *ddHIJ* encoding an ABC transporter. In both mutant strains, the EntDD14 was detected by mass spectrometry in the intracellular soluble fraction exerting, upon its accumulation, a toxic effect on the producing strain as revealed by cell-counting and confocal microscopy analysis. Thus, the mutant strains keep synthesized the EntDD14 but they are unable to export it out the cell. In addition, the *in silico* analysis of the proteins DdE and DdF showed that both proteins have transmembrane domains and have certain structural similarities with proteins involved in transport and translocation across the membrane. Altogether, these results clearly indicate that PH domain-containing proteins, DdE and DdF, are acting as transporters of the leaderless two-peptide EntDD14.

Mots clés : Enterocin DD14 - Leaderless bacteriocin - Transport - PH domain.

Références :

1. Al Atya A-K, Drider-hadiouche K, Ravallec R, Silvain A, Vachee A, Drider D. 2015. Probiotic potential of *Enterococcus faecalis* strains isolated from meconium. *Front. Microbiol.* 6, 227.
2. Ladjouzi R, Lucau-Danila A, Benachour A, Drider D. 2020. A leaderless two-peptide bacteriocin, enterocin DD14, is involved in its own self-immunity: evidence and insights. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8, 644.
3. Lemmon M-A. 2010. Pleckstrin homology (PH) domains. Chapter 136 p.1093-1101. in *Handbook of Cell Signaling*. Bradshaw R-A, Dennis E-A (eds). Academic Press.
4. Thurlow L-R, Thomas V-C, Hancock L-E. 2009. Capsular polysaccharide production in *Enterococcus faecalis* and contribution of CpsF to capsule serospecificity. *J. Bacteriol.* 191, 6203-6210.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P18

Rhodococcus equi résistant à la rifampicine chez les équidés

Sandrine Petry¹ (sandrine.petry@anses.fr), Corinne Sévin¹, Sofia Kozak¹, Nathalie Foucher¹, Claire Laugier¹, Maud Linster¹, Marie-France Breuil¹, Marie-Capucine Dupuis², Aymeric Hans¹, Fabien Duquesne¹, Jackie Tapprest¹

¹ Laboratoire de Santé Animale, site de Normandie, Unité PhEED, Anses, Goustranville, France

² VETODIAG, Berville L'Oudon, France

Introduction et objectifs :

Rhodococcus equi est une bactérie à Gram positif, ubiquiste et intracellulaire facultative, responsable d'infections pulmonaires voire extra-pulmonaires graves à mortelles chez les animaux et l'Homme. En filière équine, c'est un pathogène majeur endémique dans de nombreux élevages à l'origine de taux de mortalité élevés chez les poulains de moins de 6 mois. La bithérapie macrolides-rifampicine est le traitement de choix des poulains malgré la circulation alarmante de clones multirésistants aux USA [1]. Depuis 1995, ≈ 2000 souches de *R. equi* ont été isolées à l'Anses LSA site de Normandie à partir d'autopsies équines ou d'enquêtes épidémiologiques, dont 20 sont résistantes à la rifampicine (aucune résistance aux macrolides). L'objectif est de caractériser cette résistance, principalement conférée par des substitutions dans la sous-unité β de l'ARN polymérase codée par le gène *rpoB*.

Matériels et méthodes :

L'évaluation de la résistance à la rifampicine par disque diffusion en milieu gélosé (seuils critiques de *Streptococcus* spp. [2]) et par macrodilution en bouillon, le séquençage du gène *rpoB* et le génotypage par MLST (Multi-Locus Sequence Typing) ont été réalisés sur 40 souches isolées entre 1998 et 2018, dont 20 étaient résistantes à la rifampicine lors des antibiogrammes effectués au moment de leur isolement.

Résultats, discussion et conclusion [3] :

Une corrélation entre les diamètres d'inhibition et les CMI a été globalement observée. Parmi les souches non sensibles à la rifampicine par disque diffusion, une forte résistance était corrélée avec les substitutions His526Asp et Ser531Leu fréquemment rapportées dans la littérature et une faible résistance avec la substitution Asp516Tyr jamais décrite chez *R. equi*. Les souches sensibles à la rifampicine par disque diffusion ne montraient aucune substitution d'intérêt, à l'exception de 2 souches portant respectivement les substitutions His526Asn et Asp516Val, déjà rapportées comme impliquées dans une faible résistance à la rifampicine ; ces 2 souches proviennent d'un même animal chez lequel 10 autres souches non sensibles à la rifampicine ont également été isolées. Les résultats de ces 2 souches montrent une sous-estimation de la résistance à la rifampicine par disque diffusion.

Mots clés : *Rhodococcus equi* - Rifampicine - Résistance - *rpoB* - Maladie équine.

Références :

1. Huber L, Giguère S, Slovis NM, Carter CN, Barr BS, Cohen ND, et al. 2019. Emergence of Resistance to Macrolides and Rifampin in Clinical Isolates of *Rhodococcus equi* from Foals in Central Kentucky, 1995 to 2017. *Antimicrob Agents Chemother.* 63(1):e01714-18.
2. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2013. https://resapath.anses.fr/resapath_uploadfiles/files/Documents/2013_CASFM.pdf
3. Petry S, Sévin C, Kozak S, Foucher N, Laugier C, Linster M, et al. 2020. Relationship between rifampicin resistance and *RpoB* substitutions of *Rhodococcus equi* strains isolated in France. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 23:137-144.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P19

Anti-microbiens & résistance

La présence de l'antigène K1 est associé à un profil d'antibiorésistance différent chez *Escherichia coli*

Maelys Proquot¹ (maelys.proquot@etu.univ-poitiers.fr), Lovasoa Najaraly Jamal², Chloé Plouzeau-Jayle¹, Anthony Michaud¹, Lauranne Broutin¹, Christophe Burucoa^{1,3}, Julie Cremniter^{1,3}, Maxime Pichon^{1,3}

¹ Laboratoire de Bactériologie, CHU La Milétrie - Poitiers, Poitiers, France

² Laboratoire de Bactériologie, CHU La Milétrie - Poitiers, Poitiers, France

³ INSERM U1070, Université de Poitiers, Poitiers, France

Introduction et objectifs :

Escherichia coli est une bactérie à Gram-négatif responsable de maladies de sévérité variable. L'antigène «K» désignant les polysaccharides capsulaires à la surface de ce micro-organisme, est similaire à ceux des bactéries hautement pathogènes. L'antigène K1 est souvent trouvé chez les souches d'*E. coli* pathogènes. Alors que les études publiées à ce jour sur le profil d'antibiorésistance (ATBg) des souches d'*E. coli* possédant l'antigène capsulaire K1 se sont focalisées sur les isollements des femmes enceintes ou des nouveau-nés, cette étude avait donc pour objectif de caractériser les ATBg d'*E. coli* K1 indépendamment de l'échantillon clinique d'isolement.

Matériels et méthodes :

Sur une période de 4 semaines, tous les patients hospitalisés/consultant au CHU de Poitiers, présentant un isolement d'une souche d'*E. coli* pour laquelle a été réalisée un antibiogramme ont été inclus prospectivement pour définir leur statut K1 (Pastorex Meningitis, BioRad) et d'en recueillir les données cliniques (âge/sexe) ou des métadonnées biologiques (antibiogramme/Concentration Minimales Inhibitrices selon le CA-SFM).

Résultats, discussion et conclusion :

Parmi les 296 échantillons inclus, si aucune différence n'a été observée concernant la nature de l'échantillon dépendante du statut K1, l'absence d'antigène K1 était associée à une multirésistance aux antibiotiques (12,3% vs 33,0% ; $p < 0,01$). Les résultats des ATBg différaient entre ces groupes, avec une proportion plus élevée de souches K1-négatif parmi les souches résistantes, en particulier sur les β -lactamines (uréidopénicilline -25,8% vs. 14,9%- et ampicilline/inhibiteur -50,0 % vs 26,8 %- ; $p < 0,05$), sur les quinolones (19,8% vs. 7,0% ; $p < 0,01$) et sur le sulfaméthoxazole-triméthoprim (30,2% vs. 12,3%) ($p < 0,01$). Cette étude est la première à avoir mis en évidence les différences de profils d'antibiorésistance des *E. coli* isolées dans les échantillons cliniques de toute natures, en fonction de leur statut en antigène K1.

Mots clés : Antibiorésistance - *Escherichia coli* - Antigène K1 - Virulence - Infection.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P20

Anti-microbiens & résistance

Impact d'une pré-exposition aux antiseptiques sur l'émergence de l'antibiorésistance

Noémie Prébonnaud^{1,2} (noemie.prebonnaud@chu-poitiers.fr), Sandrine Marchand^{1,2}, William Couet^{1,2}, Olivier Mimoz^{2,3}, Julien Buyck², Maxime Pichon^{2,4}

¹ Laboratoire de Pharmacocinétique et Toxicologie, CHU La Milétrie - Poitiers, Poitiers, France

² INSERMU1070, Université de Poitiers, Poitiers, France

³ Service d'Accueil des Urgences, CHU La Milétrie - Poitiers, Poitiers, France

⁴ Laboratoire de Bactériologie - Département des Agents Infectieux, CHU La Milétrie - Poitiers, Poitiers, France

Introduction et objectifs :

En France, près de 20% des patients hospitalisés requièrent l'utilisation de cathéters veineux périphériques, exposants à des complications infectieuses principalement causées par *Staphylococcus aureus* (SA) et/ou *Pseudomonas aeruginosa* (PA). Pour limiter ces complications, l'application cutanée d'une solution antiseptique préalable à l'insertion du cathéter est recommandée. Cependant, des données suggèrent que cette pré-exposition aux antiseptiques puisse participer à l'émergence de l'antibiorésistance. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'existence / l'effet d'une pré-exposition à différents antiseptiques sur la résistance de SA et de PA.

Matériels et méthodes :

L'effet de trois antiseptiques : Chlorhexidine (CHX), hypochlorite sodique (DAK) et Povidone-Iodée (PVP-I) a été étudié sur trois souches bactériennes de référence : SA méticilline-sensible (SASM, ATCC29213), SA méticilline-résistant (SARM, ATCC1026) et PA (PAO1, ATCC15692). Après détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) aux antiseptiques, une analyse dynamique a été réalisée par des courbes de bactéricidie aux antiseptiques. Les profils d'antibiorésistance post-exposition aux antiseptiques ont été déterminés selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Résultats, discussion et conclusion :

Pour les deux SA, les CMI étaient comprises entre 1024 à 2048 mg/L (PVP-I), 224 à 512 mg/L (DAK) et 0.125 à 2 mg/L (CHX). Pour PA, les CMI étaient plus élevées, comprises entre 2048 à 2560 mg/L (PVP-I), 320 à 416 mg/L (DAK) et 4 à 8 mg/L (CHX). Pour tous les antiseptiques testés et toutes les souches, les CMB étaient équivalentes aux CMI (différence relative inférieure à 50%). Pour SASM, SARM et PAO1, les courbes de bactéricidie montraient des profils de décroissance suivi d'une repousse bactérienne pour des concentrations respectives de CHX à 0.25, 0.5, 4 mg/L; de PVP-I à 2730, 1706, 2560 mg/L et de DAK à 448, 171, 640 mg/L. Pour les deux SA, en post-exposition à ces concentrations, les profils de résistance n'ont montré aucune différence. Pour PAO1, une diminution du diamètre d'inhibition à la Ceftazidime apparaît en post-exposition à ces concentrations. Cette étude a permis d'optimiser un protocole de pré-exposition, qui permettra par la suite d'explorer les mécanismes moléculaires de l'impact de l'exposition aux antiseptiques sur l'émergence de l'antibiorésistance.

Mots clés : Antiseptiques - Antibiorésistance - Résistance croisée - *Staphylococcus aureus* - *Pseudomonas aeruginosa*.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P21

New fluorescent chemical probes targeting bacterial efflux to early detect and fight the first barrier in gram-negative bacteria antibiotic resistance

Johan Revol-Tissot (revoltissot.j@gmail.com), Julia Vergalli, Jean-Marie Pagès, Jean-Michel Bolla, Gérard Boyer, Sandrine Alibert

UMR MD1, U-1261, MCT, INSERM, IRBA, Aix-Marseille Universités, Marseille, France

Introduction and aims:

Antimicrobial resistance is one of the more serious problems of Public Health. Worrying levels worldwide involve therapeutic failure of large antibiotic classes especially in Gram-negative bacterial diseases because of imposed selective pressure. [1] Efflux overexpression is a major early-stage trigger in Multi-Drug Resistance setting up. Resistance-Nodulation-Cell-Division superfamily constitutes resistance first line in Gram-negative bacteria. [2] While it can affect resistance prevalence in clinic, it becomes critical to work on several issues, notably in the field of diagnosis tools enabling early antibiotic treatment optimisation and adaptation for patients. [3]

Materials and methods:

One pertinent approach involves the search for new compound derivatives with high fluorescent signal as chemical tool responsive to efflux pump expression clinical resistance. Starting from selected natural product library screening and thanks to developed spectrofluorometric accumulation method from our laboratory, [4] we were able to identify interesting pharmacophores. For that, Minimum Inhibitory Concentration and accumulation measurements with high fluorescence intensity in bacteria were determined from starting commercial and synthesized compounds against various efflux pumps expression *E.coli* strains with porins and CCCP – AcrAB-TolC proton pumps inhibitor – impact.

Results, discussions and conclusions:

A molecular structure was first selected for its fluorescent properties. Different substitutions on the scaffold were tested. Two positions conduced to the most interesting fluorescence increase signal with good polarity electro-donor functions and no cytotoxic effects on bacteria growth. We measured compounds cell accumulation according to concentration ratio in deleted and different level efflux producer strains to determine efflux sensitivity. Hydrophilic-hydrophobic balance confirmed to be crucial to select a molecule with efflux uptake. Indeed, alkyl chain variations especially 5 carbons showed the best accumulation ratio, according to pump expression, at least threefold higher than fluoroquinolone controls for similar overall accumulation profiles. We demonstrated that derivatives weren't exhibiting any significant influx variation for short time in porin underexpressed strains. We are still focused on new scaffold substitutions vs. hit on *E. coli* and other AcrAB-TolC producer strains. They constitute a strong basis to improve real-time diagnosis tool design [5] allowing antibiotic accumulation identification as susceptibility test linked with efflux resistance early appearance in clinic.

Mots clés : Bacterial resistance - Efflux pumps - Diagnosis - Fluorescence - Drug design.

Références :

1. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance 2014. WHO. Available from: <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>
2. Alibert S, N'gompaza Diarra J, Hernandez J, et al. 2016. Multidrug efflux pumps and their role in antibiotic and antiseptic resistance: a pharmacodynamic perspective, Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology.; 13(3):301-309.
3. O'Neill J. 2016. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. The review on antimicrobial resistance. p.886.
4. Vergalli J, Dumont E, Cinquin B, Maigre L, Pajovic J, Bacqué E et al. 2017. Fluoroquinolone structure and translocation flux across bacterial membrane. Sci Rep. 7(1):9821.
5. Puttaswamy S, Gupta SK, Regunath H, Smith LP, Sengupta S. 2018. A Comprehensive Review of the Present and Future Antibiotic Susceptibility Testing (AST) Systems. Arch Clin Microbiol. Vol No: 9 Iss No: 3:83.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P22

Anti-microbiens & résistance

Purification de peptides antimicrobiens naturels à partir des barbes et des branchies de *Pecten maximus*

Meg Rouxel¹ (meg.rouxel@univ-rennes1.fr), Laetitia Guillot^{2,3}, Blandine Guével^{2,3}, Emmanuelle Com^{2,3}, Christine Pissavin¹

¹ Département génie biologique, IUT de Saint-Brieuc (Université de Rennes 1), Saint-Brieuc, France

² UMR-S 1085, Univ Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé, environnement, Rennes, France

³ UMS 3480, Protim, Univ Rennes, Biosit, Rennes, France

Face à l'augmentation des souches multi-résistantes aux antibiotiques dans le monde, la recherche de nouveaux composés antimicrobiens naturels est essentielle dans la lutte contre les infections sévères. Dans ce contexte, les mollusques bivalves apparaissent comme une source de nombreux composés antimicrobiens en raison de leur système immunitaire primitif mais tout aussi efficace. Des études antérieures réalisées sur les palourdes, les moules, les huîtres ou encore les pétoncles montrent une production de peptides antimicrobiens (AMPs) par les hémocytes bivalves. *Pecten maximus*, plus communément appelé la coquille Saint-Jacques, est une espèce économiquement importante puisque cette pêche représentant près de 80 % des pétoncles sauvages récoltés en Europe. Seule la noix et la gonade sont commercialisées. Les co-produits telles que les coquilles, la barbe ou les branchies ne sont que très peu valorisés et représentent une masse très importante de déchets. Dans cette étude, nous avons donc étudié le potentiel des AMPs produits dans la barbe et les branchies de *P. maximus*. Une extraction des peptides à l'acide a été réalisée suivi d'une précipitation des protéines au sulfate d'ammonium. Un fractionnement bio-guidée a été ensuite réalisé par SPE et par RP-HPLC. Une activité anti-microbienne a été observée contre *Staphylococcus aureus*. Elle semble être due à un peptide d'une taille comprise entre 6-8 kDa visualisé sur gel de polyacrylamide, et qui est en cours de caractérisation par LC-MS-MS.

Mots clés : Peptides Antimicrobiens - *Pecten maximus* - *Staphylococcus aureus*.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P23

Évaluation phénotypique et génomique de l'efficacité de microcines vis-à-vis de bactéries multirésistantes aux antibiotiques

Soufiane Telhig (soufiane.telhig.1@ulaval.ca)

UMR7245/MCAM, MNHN, Paris, France

Introduction et objectifs :

L'émergence et la dissémination de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (MDR) représentent un risque sanitaire majeur. Les entérobactéries constituent un danger émergent, dû à leur capacité de résistance aux antibiotiques conventionnels, notamment grâce à leur double membrane. Les microcines, peptides antimicrobiens des entérobactéries produits par voie ribosomale et modifiés ou non post-traductionnellement constituent une alternative prometteuse aux antibiotiques conventionnels. Elles montrent une grande diversité de structures et de mécanismes d'action et ont un spectre d'activité étroit dirigé contre des entérobactéries phylogénétiquement proches de la souche productrice. Cette propriété pourrait mieux préserver le microbiote de l'hôte et réduire la dissémination de résistance. Notre but était d'évaluer le potentiel de microcines en tant qu'alternative aux antibiotiques, en mesurant leur capacité à inhiber des souches MDR et en analysant les mécanismes de résistance aux microcines de ces souches. L'activité de quatre microcines a été examinée contre une collection d'isolats naturels, dont plusieurs MDR entéropathogènes : MccJ25 (peptide lasso), McC (peptide nucléotide), MccB17 (TOMM) et MccE492 (peptide sidérophore).

Matériels et méthodes :

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides (CMB) ont été évaluées pour les quatre microcines vis-à-vis d'une collection de 55 isolats cliniques sélectionnés pour leur profil de résistance aux antibiotiques. Ces isolats couvrent une variété de sérotypes distribués sur trois espèces : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella enterica*. En parallèle, une analyse génomique ciblée et non ciblée a été conduite sur la collection de souches, pour corrélérer le profil génomique à la susceptibilité aux microcines.

Résultats, discussion et conclusions :

Sur 55 souches testées, 21 sont sensibles à une seule microcine, 14 à deux microcines et 20 à trois microcines ou plus. Aucun isolat n'est capable de résister à toutes les microcines, dans une gamme de concentrations allant jusqu'à 50 µg/mL. Nous n'avons pas détecté de corrélation entre profils de résistance aux antibiotiques, gènes de virulence et résistance aux microcines. La résistance à chaque microcine a été corrélée à la présence de mutations au niveau de gènes impliquées soit dans l'import de la microcine, soit dans le métabolisme ou la réponse au stress.

Mots clés : Résistance aux antibiotiques - Peptides antimicrobiens - Bactériocines - Microcines.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P24

ABSCOPE : indicateur de résistance antibiotique en élevage

Michael Treilles¹ (michael.treilles@qualyse.fr), Léo Charvieux², Marisa Haenni³, Pascal Robichon⁴, Yves Horion⁵

¹ Qualyse, Champdeniers-Saint-Denis, France

² VetAgroSup, Marcy-l'Étoile, France

³ Antibiorésistance et virulence bactérienne, ANSES, Lyon, France

⁴ FRGDS Nouvelle Aquitaine, Lathus Saint-Remy, France

⁵ GTV Nouvelle Aquitaine, Secondigny, France

Introduction :

La résistance des bactéries aux antibiotiques est un phénomène qui s'accélère depuis quelques années, amenant à une prise de conscience globale, dans le monde humain et vétérinaire.

Dès 2011, la France s'est dotée d'un plan national de lutte dans le secteur animal (plan EcoAntibio), ayant pour objectif une réduction quantitative et qualitative des usages d'antibiotiques dans les filières animales.

Objectifs :

Valider un indicateur permettant la mise en évidence d'antibiorésistance en élevage bovin et caprin afin de cibler les cheptels prioritaires et favoriser le dialogue vétérinaire -éleveur pour améliorer la prise de conscience du terrain.

Matériel et méthode :

190 cheptels (bovins et caprins) ont été échantillonnés par 12 cabinets vétérinaires de la zone Poitou-Charentes. Une feuille de commémoratifs permettait de calculer un taux de traitement pour chaque cheptel.

Pour chaque prélèvement, une recherche d'*Escherichia coli* résistants aux céphalosporines de 3ème génération a été réalisée par culture directe sur milieu sélectif chromogène. Les souches résistantes isolées ont ensuite été caractérisées génétiquement.

Une catégorisation semi quantitative a été effectuée, afin de distinguer des catégories d'élevages positifs (faible, moyenne, élevée, très élevée).

Résultats :

2859 prélèvements ont été effectués au cours de 209 visites. Les résultats montrent une prévalence autour de 20% de cheptels positifs, en filière bovine comme en filière caprine. Les prélèvements effectués sur les jeunes animaux sont plus souvent positifs que ceux effectués sur les adultes.

L'analyse génétique des souches isolées montre que l'immense majorité est productrice de BLSE de type CTXM-1 (majoritaire) et CTXM-9. Par ailleurs, on observe une grande clonalité dans les souches isolées au sein d'un même cheptel.

Discussion :

Par sa conception, et au vu de l'objectif considéré, l'indicateur développé ne permet de détecter que les cheptels présentant une résistance suffisamment importante pour être détectée par culture directe de la flore aérobie minoritaire ou majoritaire afin de n'identifier que les cheptels les plus intéressants à cibler en termes de lutte contre l'antibiorésistance.

Conclusion :

Cet indicateur, facile à réaliser en à la fois en termes de prélèvements et d'analyses de laboratoire, pourrait être intégré aux outils de diagnostic et de suivi des cheptels.

Mots clés : Antibiorésistance - Indicateur - Élevage - BLSE.

Références :

1. Charvieux, L. 2020. Développement d'indicateurs d'antibiorésistance utilisables en pratique : intérêt de la détection dans les matières fécales de *Escherichia coli* résistant aux céphalosporines de 3ème génération et comparaison avec la détection d'intégrons en élevages bovins et caprins en région Poitou Charentes. Thèse d'Etat de doctorat vétérinaire.
2. Mlala, S. 2016. Usages et pratiques en antibiothérapie en élevage bovin laitier et allaitant : étude descriptive dans la Loire et le Puy-de-Dôme. Thèse d'exercice vétérinaire.
3. Haenni, M. 2014. Comparative prevalence and characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae in dominant versus subdominant enteric flora in veal calves at slaughterhouse, France. *Vet Microbiology*. Volume 171, Issues 3-4, 16 July 2014, Pages 321-327.

AR-P Anti-microbiens & résistance**AR-P25****Design and synthesis of new Thomamine antibiotic enhancers to fight resistant Gram-negative bacteria**Thomas Troia¹ (troia.thomas@gmail.com), Jacques Siad¹, Carole Di Giorgio², Jean Michel Brunel¹¹ Membranes et Cibles thérapeutiques, Aix Marseille Université, INSERM, SSA, UMR MD1, Marseille, France² Laboratoire de Mutagénèse Environnementale, Aix Marseille Université, CNRS, IRD, IMBE UMR 7263, Marseille, France

The lack of novel drugs in development and the combination of increased incidence of drug-resistant strains of bacteria has created the need for the search for new antimicrobials as well as new original strategies to fight bacterial resistance. In this context, a series of polyamine quinoline derivatives (namely Thomamines) were prepared and biologically evaluated, identifying compounds able to restore doxycycline activity towards the Gram-negative bacteria *P. aeruginosa*. Of note was the identification of antibiotic enhancing analogues which also exhibited important to no cytotoxicity properties. The mechanism of action of two of the best compounds was studied against *P. aeruginosa* and *S. aureus* establishing a different behaviour towards integrity or depolarization of bacterial membranes depending on the structure of the considered Thomamines.

Le manque de nouveaux médicaments en développement et la combinaison d'une incidence accrue de souches bactériennes résistantes aux médicaments ont créé le besoin de rechercher de nouveaux antimicrobiens ainsi que de nouvelles stratégies originales pour lutter contre la résistance bactérienne. Dans ce contexte, une série de dérivés polyaminoquinoléine (à savoir les Thomamines) a été préparée et évaluée biologiquement afin d'identifier des composés capables de restaurer l'activité de la doxycycline vis-à-vis de la bactérie à Gram négatif *P. aeruginosa*. Le mécanisme d'action de deux des meilleurs composés a été étudié vis à vis de *P. aeruginosa* et *S. aureus* établissant un comportement différent envers l'intégrité ou la dépolarisation des membranes bactériennes en fonction de la structure des Thomamines considérées.

Mots clés : Drug-resistant - Antimicrobials - Polyamine quinoline derivatives.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P26

High frequency and diversity of Vancomycin-Resistant Enterococci in Algerian healthcare settings

Hanane Zerrouki^{1,2} (zerrouki_hanane@hotmail.com), Sid-Ahmed Rebiahi², Linda Hadjadj¹, Jean-Marc Rolain^{1,3}, Seydina Diene^{1,3}

¹ IHU-Méditerranée Infection,, Marseille, France

² Université de Tlemcen, LAMAABE, Tlemcen, Algérie

³ Aix-Marseille Univ., MEPHI, IRD, APHM,, Marseille, France

Introduction and aims:

The spread of vancomycin-resistant Enterococci (VRE) in Algerian hospital settings are poorly reported. Since the first report in 2006, few data are available on molecular mechanism of this resistance across the country. Here, we investigate the frequencies and antibiotic resistance mechanisms in *Enterococci* strains isolated from hospitalized patients in Tlemcen university hospital.

Materials and methods:

From October 2016 to June 2017, a total of 191 *Enterococcus* spp. strains were isolated from various clinical samples collected from patients hospitalized in intensive care unit (ICU) and surgical wards (SW) in Tlemcen university hospital. All *Enterococcus* spp. strains were identified using MALDI-TOF/MS. Antibiotic susceptibility testing was determined by disk diffusion and E-test methods. The presence of *van* genes was investigated by standard PCR and sequencing.

Results, discussion and conclusion:

E. faecium and *E. faecalis* strains are the main pathogens identified in the study. Antibiotics susceptibility testing revealed that resistance rate was high for the majority of antibiotic classes including glycopeptides and that linezolid was the only effective on all strains. Molecular analysis revealed that 52.2 % of strains from ICU were positive for *vanA* gene including (44.44% *E. faecium*, 5.55% *E. faecalis* and 2.22% *E. avium*) and 25.5% (17.77% *E. gallinarum* and 6.66% *E. faecium*) co-harbored both *vanA* and *vanC* genes. In SW 29.70% of strains carried out the *van* genes including 4.9% of *E. faecalis* harbored *vanB* gene and the rest of strains 24.8% harbored *vanC* genes distribute as follows 9.9% *E. gallinarum* and 4.9% *E. faecalis* were positive for *vanC1* and 9.9% of *E. casseliflavus* was positive for *vanC2/C3* gene. Glycopeptides resistance rate was higher among strains from ICU and was mainly composed by *E. faecium* strains compared with surgical wards SW where, resistant *E. faecalis* strains were predominant.

A high incidence of VREs in the intensive care unit was revealed in this study. A diversity of resistance mechanisms is currently emerging in our hospitals. The massive testing of high-risk patients with the isolation of positive cases and appropriate disinfections have always proven their effectiveness in preventing and managing outbreaks.

Mots clés : Algeria - Tlemcen university hospital - *vanA* - *vanB* - Vancomycin-Resistant Enterococci.

AR-P Anti-microbiens & résistance

AR-P27

High prevalence of *Paeniclostridium sordellii* strains in hospital settings: First report in Algeria

Hanane Zerrouki^{1,2} (zerrouki_hanane@hotmail.com), Sid-Ahmed Rebiahi², Yamina Elhabiri², Ahlam Fatmi³, Jean Marc Rolain^{1,4}, Seydina Diene^{1,4}

¹ IHU-Méditerranée Infection, Marseille, France, Marseille, France

² LAMAABE, Université de Tlemcen, Tlemcen, Algérie

³ Laboratory of Applied Molecular Biology and Immunology, Université de Tlemcen, Tlemcen, Algérie

⁴ Aix-Marseille Univ., MEPHI, IRD, APHM, Marseille, France

Introduction and aims:

Except for *Clostridium difficile*, clostridia are not considered as usual nosocomial agents. In Algeria, the prevalence of these pathogens remains obscure. Here, we aim to establish the presence and epidemiological spread of *Clostridium* spp. in different wards in university hospital of Tlemcen and to investigate their pathogenicity.

Materials and methods:

A total of 500 surface samples and 100 rectal swabs in patients with antibiotic-associated diarrhea were collected from the university hospital of Tlemcen. Bacterial identification was carried out using MALDI-TOF-MS and confirmed by electron microscopy and 16s rRNA sequencing. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) for antibiotics was determined by E-test method. *P. sordellii* toxins were searched for by enzymatic and PCR assays. Whole genome sequencing was performed on two rectal *P. sordellii* isolates, the clonality study of the two genomes was based on the calculation of mean nucleotide identity (ANI), and comparison with the Mauve software.

Results, discussion and conclusion:

Among 111 isolates, 92 *Paeniclostridium sordellii* were identified and were all devoid of lethal toxin gene. The remaining isolates were shared on 7 species, without any detection of *C. difficile* strains. All isolates were susceptible to various antibiotics. The tetracycline genes resistance (*tetA-P*, and *tetB-P*), and virulence genes factor (*pfoA* and *nanH*) were identified in both genomes. The comparative genomic analysis showed that our isolates were closely related, so that the ANI between two strains was 98.79%. We report here the first epidemic dissemination of *P. sordellii* strains in an Algerian hospital. Corrective and preventive measures must be rapidly implemented to control this critical situation and protecting patients.

Mots clés : Paeniclostridium sordellii - Genome sequencing - Epidemic clone - Hospital infections.

BM-P Biotechnologies microbiennes

BM-P01

Caractérisation de *Lactobacillaceae* et fermentation de macro-algues marinesCaroline Autréau^{1,2} (caroline.autreau@unicaen.fr), Pi Nyvall Collén², Jean-Michel Panoff¹, Marina Cretenet¹¹ E.A. 4651 ABTE, Normandie Univ, UNICAEN, UNIROUEN, Caen, France² OLMIX SA, Brehan, France**Introduction et objectifs :**

Les *Lactobacillaceae* constituent une famille bactérienne ubiquitaire aux métabolismes très diversifiés. En effet, ces bactéries peuvent être homofermentaires strictes, hétérofermentaires facultatives ou obligatoires. Elles font communément partie de la flore épiphyte des végétaux terrestres. Toutefois, à ce jour, peu d'études mettent en lien les *Lactobacillaceae* et les végétaux marins. Les objectifs de cette étude ont été d'isoler des *Lactobacillaceae* à partir d'algues fraîches, de les caractériser et de les comparer à d'autres issus d'environnements terrestres afin de sélectionner les meilleurs candidats pour la fermentation d'un substrat d'algues.

Matériels et méthodes :

Deux stratégies d'isolement ont été mises en place, avec et sans enrichissement. Les bactéries d'algues fraîches ont été isolées directement après récolte ou mises en culture dans un bouillon MRS pendant 48h avant isolement en faisant varier les conditions de température et d'atmosphère. Les isolats bactériens ont été testés par PCR pour leur appartenance aux *Lactobacillaceae* [1], puis identifiés par séquençage. Les séquences d'ADNr 16S ont été analysées avec les logiciels SeqTrace et BioEdit, puis comparées et identifiées par alignement sur EZBioCloud. L'activité protéolytique a été testée par la méthode de diffusion sur une gélose au lait écrémé. La croissance bactérienne et la tolérance au NaCl ont été évaluées par un suivi de la densité optique à 600 nm en plaque 96 puits. Le métabolisme des hydrates de carbone a été étudié à l'aide de microplaques Gen III.

Résultats, discussion et conclusion :

17 isolats de *Lactobacillaceae* ont été identifiés à partir d'algues fraîches. Des isolats de collection issus d'environnements terrestres ont été ajoutés pour le criblage. La majorité des bactéries étudiées s'est avérée être faiblement protéolytique. Les isolats provenant d'algues présentent des taux de croissance plus élevés et tolèrent davantage une teneur en NaCl de 3,5% en comparaison à ceux provenant d'autres substrats. Selon l'origine des isolats bactériens, le métabolisme des hydrates de carbone est plus ou moins diversifié. Les travaux seront poursuivis par le développement de mini-modèles de fermentation en phase solide et par une approche de métagénétique pour évaluer le potentiel de fermentation d'un substrat d'algues par les isolats les plus prometteurs.

Mots clés : Lactobacillaceae - Macro-algues - Fermentation - Criblage.

Références :

1. Cousin F, Le Guellec R, Chuat V, Dalmaso M, Laplace JM, Cretenet M. 2019. Multiplex PCR for rapid identification of major lactic acid bacteria genera in cider and other fermented foods. *Int J Food Microbiol.* 291:17-24.

BM-P Biotechnologies microbiennes

BM-P02

Deep mutational scanning of essential genes in bacteria using Cas9-mediated recombineeringAlaksh Choudhury (alaksh.choudhury@colorado.edu)

IAME, U1137, INSERM, Paris, France

Mutations in bacterial essential genes are crucial in bacterial adaptation and in the evolution of resistance. Deep mutational scanning (DMS) of essential genes, to compare fitness of several mutations in parallel, can help us understand the molecular basis of adaptation. Libraries with high mutation efficiency and diversity are required for accurate fitness estimates using DMS. It is also important to study essential genes in their native genomic context to preserve epigenetic regulation and prevent discrepancies due to copy number variation on plasmids. We developed a technology, CRISPR/Cas9 mediated genomic error-prone editing or CREPE, for deep mutational scanning of targeted *E. coli* genomic loci. We optimized Cas9-mediated recombineering to integrate a library of mutations made using error-prone PCR at a target locus on the genome using a single gRNA pre-validated for high editing efficiency. Using CREPE, we developed libraries with ~85% mutation efficiency for non-essential genes and 40-60% mutation efficiency for essential genes in bacteria. We used CREPE for several important applications. Firstly, we used CREPE to identify potential functional residues in essential genes. Secondly, we used CREPE to target the beta subunit of RNA polymerase, *rpoB*, to understand the resistance to rifampicin, an essential tuberculosis chemotherapy drug. In addition to identifying 40 rifampicin-resistance conferring mutations, we built upon important biochemical and epidemiological findings for rifampicin resistance. Our precise fitness estimates correlated with biochemical importance and clinical success of mutations. We also determined the effect of antibiotic (rifampicin) concentration on fitness and selection, which helped us understand the potential impact of antibiotic dosage on the emergence and transmission of resistance. Using CREPE, we also estimated the fitness of double mutants to study epistasis and understand the density of compensatory mutations within the target. Finally, we used CREPE to understand pleiotropy. Mutations in essential genes are highly pleiotropic i.e., they impact fitness of bacteria in several environments. Therefore, pleiotropy is important for controlling evolutionary dynamics and emergence of complex phenotypes such as multi-drug resistance. We compared the fitness of a pleiotropic hotspot on the genome in several environments to understand the molecular basis of pleiotropy.

Mots clés : CRISPR-Cas9 - Genome Editing - Antibiotic resistance - Pleiotropy - Evolution.

BM-P Biotechnologies microbiennes

BM-P03

Mélanger les génomes : une méthode de conjugaison bactérienne assistée par CRISPR cas-9

Thibault Corneloup (thibault.corneloup@inserm.fr), Alaksh Choudhury, Zoya Dixit, Olivier Tenaillon

IAME, UMR 1137, INSERM, Paris, France

Introduction et objectifs :

En biologie moléculaire, les dernières décennies ont connu de grands progrès dans l'ingénierie génétique. Entre les systèmes classiques de transformation par recombinaison homologue, les ciseaux moléculaires de CRISPR-cas9 par son coût réduit et sa facilité d'utilisation ont dernièrement ouvert le champ des applications possibles dans les domaines industriels et également dans la recherche fondamentale. Cependant, en biologie synthétique si des conceptions synthétiques de génome chez les levures ont été avancées (Craig Venter), peu de modifications génomiques basiques sont allées au-delà de l'insertion génomique de 10 kb. Le rendement de ces techniques est également faible et diminue en fonction de la taille des fragments insérés ce qui complique la production de bibliothèques de recombinants, surtout chez *E. coli*, utiles pour étudier les bases moléculaires de l'évolution. La méthode de recombinaison à haute fréquence (HFR) permettant le transfert de gènes par conjugaison bactérienne remise au goût du jour par CRISPR-cas9 semble intéressante.

Matériels et méthodes :

La conjugaison bactérienne met en contact une souche donneuse possédant un plasmide de conjugaison F (facteur de fertilité) avec une souche receveuse qui intègre le plasmide après transfert du plasmide au travers du pilus. Cette technique utilise une souche donneuse PNMT3 DAP- contenant un plasmide F modifié et qui intègre une partie du système CRISPR-cas9. La souche receveuse contient le plasmide de l'endonucléase CRISPR et le système lambda-red. L'intégration se fait via la recombinaison homologue en dirigeant l'insertion de la résistance kanamycine vers son homologie présente dans le génome. L'ARN guide devant se diriger uniquement vers l'homologie Kan du génome, nous proposons une modification de la PAM de la cassette kanamycine du plasmide F afin d'empêcher son ciblage.

Résultats, discussion et conclusion :

Après avoir démontré que le système CRISPR-cas9 et lambda-red sont indispensables pour assurer un rendement élevé de l'insertion du plasmide F dans le génome, les résultats de la production de HFR et de recombinaison sur différentes souches et bibliothèques de *E. coli*, en laboratoire ou isolées naturellement sont présentés. Ce mélange des génomes permis à grande échelle permettra d'étudier l'impact du fond génétique sur la sélection de mutations avantageuses.

Mots clés : Recombinaison - Ingénierie Génétique - CRISPR cas 9 - Conjugaison bactérienne.

Références :

1. Nathalie J Ma, Daniel W Moonan, Farren J Isaacs, 2014, Precise manipulation of bacterial chromosomes by conjugative assembly genome engineering, Nature Protocols volume 9, pages 2285–2300.

BM-P Biotechnologies microbiennes

BM-P04

Modélisation de la croissance microbienne de *Carnobacterium maltaromaticum* avec l'approche thermodynamique MTS

Cédric Dussaut¹ (cedric.dussaut@centralesupelec.fr), Cristian Puentes¹, Théodore Bouchez²

¹ Laboratoire Génie des Procédés et Matériaux, CentraleSupélec, Gif-sur-Yvette, France

² Procédés biotechnologiques au Service de l'Environnement, INRAE, Antony, France

Introduction et objectifs :

Carnobacterium maltaromaticum est une bactérie lactique à la croissance anaérobie aérotoleérante. Par fermentation du sucre, elle produit de l'acide lactique mais également des acides formique et acétique et de l'éthanol. La modélisation de la croissance avec l'approche thermodynamique Microbial Transition State [1] est une alternative avantageuse par rapport aux modèles classiques car elle demande un faible nombre de paramètres. Ainsi son utilisation permettrait d'optimiser la production de *C. maltaromaticum* pour des applications en biotechnologie industrielle.

Matériels et méthodes :

En se basant sur un formalisme de description du métabolisme proposé par Kleerebezem et Van Loosdrecht [2], le modèle MTS propose une approche couplant thermodynamique et probabilités. Il décrit la cellule comme un convertisseur d'énergie consommant des substrats auxquels elle a accès dans un volume de récolte donné, et produisant de la biomasse et des métabolites. Cependant ce formalisme décrit le métabolisme comme une succession de réactions d'oxydoréduction et ne tient pas compte des réactions sans transfert d'électrons qui consomment les mêmes substrats. Il semblerait pourtant que la production de certains métabolites chez *C. maltaromaticum* résulte de telles réactions. Nous proposons ici une adaptation de ce formalisme pour de ces réactions, en pondérant les différentes équations pour traduire la distribution de conversion d'un même substrat. De plus, les paramètres du modèle pour la culture de *C. maltaromaticum* restent encore à estimer. Des corrélations existent mais leur champ d'application est restreint. L'estimation de ces paramètres par le biais de données expérimentales se présente donc comme une voie d'adaptation du modèle MTS. Nous disposons d'une base de données de suivis de cultures pour de larges plages de températures (20°C à 37°C) et de pH (6 à 9,5) [3].

Résultats et discussions (travaux en cours) :

Des résultats sur l'impact de la prise en compte de la source d'azote dans les bilans stœchiométriques sont présentés, suivi d'un ajustement des paramètres stœchiométriques du modèle. Ce travail est complété par une estimation puis un ajustement des paramètres cinétiques du modèle MTS pour chaque condition de fermentation. Les résultats de modélisation sont comparés aux données expérimentales.

Mots clés : Bactéries lactiques - Croissance microbienne - Modélisation - Thermodynamique.

Références :

1. Desmond-Le Quéméner ED, Bouchez T, 2014. A thermodynamic theory of microbial growth. ISME J. 8:1747-1751.
2. Kleerebezem R, Van Loosdrecht MCM, 2010. A Generalized Method for Thermodynamic State Analysis of Environmental Systems. Crit Rev Environ Sci Technol. 40.1:1-54.
3. Girardeau A, Puentes C, Keravec S, Peteuil P, Trelea IC, Fonseca F, 2019. Influence of culture conditions on the technological properties of *Carnobacterium maltaromaticum* CNCM I-3298 starters. J Appl Microbiol. 126:1468-1479.

BM-P Biotechnologies microbiennes

BM-P05

Suivi en ligne de cultures de micro-organismes par cytométrie en flux

Agnès Hocquellet (agnes.hocquellet@bordeaux-inp.fr), Abdelmajid Noubhani, Julien Berlureau

CBMN UMR 5248 / CNRS-Université Bordeaux-Bordeaux INP, Bordeaux, France

Dans le cadre du suivi de cultures de micro-organismes, le contrôle physiologique des cellules est envisagé par analyse en ligne par cytométrie en flux. Cette technique est une alternative aux méthodes quantitatives hors ligne telles que la spectrométrie et la numération sur milieux solides mais également à des méthodes en ligne telle que la turbidimétrie *via* un capteur.

L'objectif est d'utiliser les analyses cellulaires quantitatives et qualitatives des micro-organismes générées par le cytomètre au cours de leur croissance afin de caractériser un ralentissement de la croissance (cinétique) concomitant d'un changement morphologique (*Saccharomyces cerevisiae*) ou la phase idéale de production de biomolécules ainsi que le temps de culture d'arrêt de production avant altération des cellules et/ou des produits.

Dans cette étude, des cultures de micro-organismes (*S. cerevisiae*, *E. coli*) en Erlenmeyer et/ou en bioréacteur de laboratoire (2 L) sont suivies à partir de prélèvements manuels par des méthodes conventionnelles (densité optique, numération sur milieu solide) et par cytométrie en flux. En complément de quantification de métabolites et des paramètres de cultures mesurés en continu dans le cas du bioréacteur (pH, gaz...), les phases de croissance cellulaire sont caractérisées en lien avec la consommation du substrat carboné majoritaire (glucose). Dans le cas de la production d'une protéine recombinante chez *E. coli*, le moment idéal d'ajout d'inducteur peut être estimé par visualisation de la phase exponentielle de croissance grâce aux analyses en continu du cytomètre. Un prototype de prélèvements automatisés connecté au bioréacteur et au cytomètre a été conçu par la société Sysmex afin de réaliser des mesures en ligne à différents temps de culture. La quantification absolue et les modifications morphologiques peuvent ainsi être analysées au fur et à mesure du procédé de culture.

Un comparatif rapide des analyses hors ligne sur les échantillons de cultures sera présenté afin de montrer que la cytométrie en flux peut être un outil de quantification et de suivi de modifications morphologiques de micro-organismes au cours d'une culture.

Les résultats préliminaires de suivi en ligne des cultures *via* le cytomètre par automatisation des analyses sont encourageants et permettent d'envisager le contrôle d'un procédé de production microbienne.

Mots clés : Micro-organismes - Biotechnologie - Bioproduction - Cytométrie en flux.

BM-P Biotechnologies microbiennes

BM-P06

What is the link between T, μ_{\max} and dissipation as heat during microbial growth?

Tugce Katipoglu-Yazan¹ (tugce.katipoglu@inrae.fr), Subrata Dev¹, Elie Le Quémener², Théodore Bouchez¹

¹ PROSE, Université Paris-Saclay, INRAE, Antony, France

² LBE, INRAE, Université Montpellier, Narbonne, France

Introduction:

The flux-force relationship between free energy dissipated during growth (ΔG_{met}) and microbial growth rate (μ) is often postulated. Temperature has also a strong influence on growth rate, which exhibits a non-monotonic behavior with a temperature at which the growth rate is maximum. We therefore questioned if changes in microbial growth rate associated to different temperature is sustained by a change in free energy dissipation. For that, we grew aerobically *Escherichia coli* K12 NCM3722 strain (ΔmotA), in minimal medium (Modified MOPS culture with 6 amino acids) containing glucose as the sole energy source in an isothermal calorimeter. Indeed, for aerobic metabolism, ΔG_{met} mainly results from heat (ΔH_{met}) and isothermal calorimetry is a useful tool to monitor jointly microbial growth rate and total heat evolution.

Materials and methods:

Calorimetric experiments were performed with isothermal titration calorimeter connected to a specific software for controlling, acquiring, and processing data. The setup enabled real-time monitoring of sample temperature and heat flow with thermograms. Overnight grown precultures of *E. coli* were mixed with growth media. The initial quantity of inoculum to be transferred into calorimetric cells was precisely determined to allow a sufficiently long lag phase to allow stable thermal equilibrium before the onset of the growth process. The temperature range of calorimetric experiments varied between 28-44°C with a 1°C step and at least three replicated cultures for each temperature. Thermal profiles were normalized to calculate power vs time curves at each temperature. Heat profiles were integrated to determine heat evolution at each temperature. The exponential parts of heat evolution curves were used to estimate corresponding μ_{\max} values.

Results and discussion:

Evaluation of power curves showed that the μ_{\max} vs T curve exhibits the characteristic hump shaped behavior with a temperature optimum of 42°C. The heat exchanged during microbial growth ranged between 420 to 568 mJ with standard deviations from 10 to 23%. Statistical analysis of variance indicated that there was no significant difference between heat measurements at different temperatures. Therefore, our results open the debate on the precise thermodynamic driving force for microbial growth and call for further detailed investigations.

Mots clés : Calorimetry - Microbial thermodynamics - Heat - Growth - Kinetics.

BM-P Biotechnologies microbiennes

BM-P07

Étude de la bioluminescence de *Photobacterium phosphoreum* - Application pour la biopréservation des produits de la mer

Delphine Passerini (delphine.passerini@ifremer.fr), Clémence Daspet, Sabrina Macé, Françoise Leroi

Laboratoire EM3B, IFREMER-Centre Atlantique, Nantes, France

Introduction et objectifs :

Les produits de la mer sont des aliments fragiles dont la dégradation organoleptique est en partie due au développement de bactéries altérantes. L'espèce *Photobacterium phosphoreum* est responsable de la production de triméthylamine et d'odeurs aigres et aminées dans le cabillaud, le saumon. Cette espèce peut également entraîner la synthèse de composés allergènes tels que les amines biogènes (putrescine, cadavérine, tyramine, histamine). Dans l'objectif de lutter contre le développement de *P. phosphoreum* dans les produits de la mer, cette étude décrit la mise au point d'une stratégie rapide et efficace, permettant de sélectionner des souches antagonistes et potentiellement utilisables en biopréservation. Cette stratégie repose sur le suivi de la bioluminescence, naturellement émise par *P. phosphoreum*, proportionnelle à la croissance et indépendante du quorum sensing, d'après une étude menée récemment sur la souche ANT-2200 [1].

Matériels et méthodes :

La croissance et l'émission de lumière de 42 souches de *P. phosphoreum* isolées de produits de la mer (souchothèque du laboratoire EM3B) ont été mesurées dans différentes conditions de culture afin de sélectionner une souche cible de référence. La diminution de lumière émise par cette souche, en co-culture avec différentes bactéries dans des conditions miniaturisées, a permis de mettre en évidence leurs propriétés anti-*Photobacterium*.

Résultats, discussion et conclusion :

Les 42 souches de *P. phosphoreum* ont produit de la lumière dans des quantités variables au cours du temps. La souche MIP2473 capable de se développer à 23°C dans différents milieux et d'émettre une importante quantité de lumière a été sélectionnée comme souche cible de référence pour le criblage d'activités antagonistes *in vitro*. Cette stratégie a permis de sélectionner des bactéries lactiques capables d'inhiber la croissance de *P. phosphoreum*, notamment une souche appartenant à l'espèce *Vagococcus fluvialis*. L'effet bioprotecteur de cette souche doit maintenant être validé sur matrice contaminée dans des conditions réelles de stockage, en vue d'une application en biopréservation. Au-delà de cette application, la souche *P. phosphoreum* MIP2473 constitue un outil intéressant pour l'étude des mécanismes impliqués dans les interactions bactériennes dans les produits de la mer.

Mots clés : Photobacterium phosphoreum - Bioluminescence - Bactérie lactique - Biopréservation.

Références :

1. Tanet L, Tamburini C, Baumas C, Garel M, Simon G, Casalot L. Bacterial Bioluminescence: Light Emission in *Photobacterium phosphoreum* Is Not Under Quorum-Sensing Control. *Front Microbiol.* 2019 Mar 4;10:365. doi: 10.3389/fmicb.2019.00365.

BM-P Biotechnologies microbiennes

BM-P08

Suivi en Ligne du Bioprocédé des Microalgues par Spectroscopie Raman

Wiviane Wieser^{1,2} (wiviane.wieser@univ-nantes.fr), Ali Assaf¹, Marine Bittel², Dominik Metten², Gerald Thouand¹

¹ UMR-CNRS GEPEA 6144, Université de Nantes, La Roche-sur-Yon, France

² Société Tronico, Saint-Philbert-De-Bouaine, France

Introduction et objectifs :

Les microalgues sont une source prometteuse de matières premières pour divers secteurs industriels vu leur production de lipides, de pigments et d'autres métabolites d'intérêt. Le monitoring de bioprocédés algaux fait appel à des méthodes analytiques très performantes, mais destructrices et nécessitent la préparation de l'échantillon avant son analyse. Notre étude propose de compléter ces méthodes classiques par une approche de spectroscopie Raman non-invasive qui permettrait de suivre l'état physiologique des cellules algales sur site.

Matériels et méthodes :

Les explorations réalisées sur la micro-algue *Parachlorella Kessleri* ont permis de définir des paramètres optimaux ($\lambda = 532$ nm, $P = 50$ mW). Ces paramètres tiennent compte de l'état physiologique des microalgues surtout le temps d'acquisition qui est adapté à la densité optique. La production a été suivie pendant 40 jours avec/sans conditions de stress biologique (carence en azote pour favoriser la production lipidique). L'exploitation de cette banque spectrale a été réalisée par des analyses chimiométriques comme par exemple l'Analyse en Composantes Principales (ACP) et l'Analyse Factorielle Discriminante (AFD).

Résultats, discussions et conclusion :

Les empreintes spectrales reflètent la composition moléculaire de la cellule algale analysée telle que les caroténoïdes ($\nu(\text{C}=\text{C})$) à 1523 cm^{-1} et les lipides ($\nu(\text{C}-\text{H})$) entre $2800 - 3000 \text{ cm}^{-1}$. L'analyse des 2050 spectres obtenus sur différents états de production a permis de définir des zones spectrales spécifiques pour prédire l'état physiologique à 85% (correspondant à la phase de latence et la phase stationnaire). Ces résultats démontrent la capacité de la spectroscopie Raman à suivre online la production algale.

Actuellement, les travaux se poursuivent pour valider l'approche dans une plateforme de production industrielle des micro-algues et de proposer une approche conviviale, autonome et simple d'utilisation.

Cette recherche a été effectuée au laboratoire GEPEA dans le cadre d'une thèse CIFRE financée par l'ANRT (Agence Nationale pour la Recherche Technologique) et par la société Tronico.

Mots clés : Spectroscopie Raman - Monitoring - Microalgues - Physiologie - Bioprocédés.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P01

Etude de l'exposition professionnelle aux bioaérosols dans une fromagerie

Lise Alonso (lise.alonso@inrs.fr), Pauline Loison, Cécile Dziurla, Catherine Coulais, Patricia Dirrenberger, Philippe Duquenne, Xavier Simon

INRS, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

Introduction et objectifs :

Dans le cadre d'une démarche de prévention globale de l'exposition des salariés, des mesures de bioaérosols ont été réalisées au sein d'une entreprise fromagère produisant une dizaine de fromages différents. La fromagerie est équipée de plusieurs hâloirs d'affinage, dans lesquels sont entreposés les fromages dans des conditions (durée, température, humidité relative de l'air) liées au type de fromage. Afin de caractériser les atmosphères de travail de cette entreprise, les bactéries et les moisissures aéroportées ont été quantifiées par dénombrement sur milieux de culture et par PCR quantitative (qPCR) et identifiées par séquençage haut débit, dans six zones de travail.

Matériels et méthodes :

Les prélèvements de bioaérosols ont été réalisés en ambiance et sur opérateur afin d'évaluer au mieux l'exposition professionnelle. Les prélèvements ont été effectués par filtration à l'aide de cassettes 3 pièces fermées en polypropylène (Millipore®, France) connectés à une pompe individuelle de débit connu. Pour extraire les microorganismes collectés, une solution d'extraction (Tween 80 0,01%, peptone 0,1%) a été introduite directement dans la cassette. Après agitation, cette suspension est utilisée soit pour étalement sur boîtes de Petri, soit comme matrice pour extraire l'ADN. La quantité de bactéries et de moisissures a été évaluée par dénombrement sur milieu de culture et par qPCR en ciblant l'ARNr16S et l'ARNr18S, respectivement. Les marqueurs taxonomiques ARNr16S et ITS1 ont été amplifiés et séquencés à haut débit en utilisant la chimie Illumina MiSeq afin d'identifier la communauté microbienne. L'analyse des séquences a été réalisée sur la plateforme Galaxy Migale (1) à l'aide du pipeline de traitement de données FROGS (2).

Résultats, discussion et conclusion :

Les résultats montrent que les activités de la fromagerie présentent des niveaux d'exposition aux bioaérosols différents. De plus, les concentrations présentes sur une tâche de brossage d'une catégorie de fromages provoque une émission massive de particules dans l'air. Cette émission s'accompagne d'expositions individuelles en moisissures cultivables (~10E07 UFC/m³) et totales (~10E10 copies ARNr18S/m³) élevées. La communauté microbienne est caractérisée par la prédominance du genre fongique *Penicillium*. Ces travaux ont permis d'apporter un éclairage nouveau sur ces situations de travail encore peu documentées.

Mots clés : Bioaérosols - Biodiversité - Quantification - Fromagerie.

Références :

1. Afgan E, Baker D, Batut B, van den Beek M, Bouvier D, Čech M, et al. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update. *Nucleic Acids Research*. 2018;46(W1):W537-W44.
2. Escudié F, Auer L, Bernard M, Mariadassou M, Cauquil L, Vidal K, et al. FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution. *Bioinformatics*. 2017;34(8):1287-94.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P02

Comparaison de 3 techniques de mise en culture pour la recherche ciblée de bactéries dans le lait humain

Clément Andonian¹ (clement.andonian@ch-metropole-savoie.fr), Margaux Ayeul^{1,2}, Alicia Pellicier¹, Souad Silhadi³, Franck-olivier Mallaval⁴, Marion Levast⁵

¹ Laboratoire de biologie médicale, CH Métropole Savoie, Aix-les-Bains, France

² Etudiante stagiaire technicienne de laboratoire, IUT Génie biologique de Toulon, Toulon, France

³ Laboratoire de biologie médicale, CH Métropole Savoie, Chambéry, France

⁴ Equipe Opérationnelle d'Hygiène, CH Metropole Savoie, Chambéry, France

⁵ Laboratoire de biologie médicale, CH Metropole Savoie, Chambéry, France

Introduction et objectifs :

Lorsqu'une épidémie bactérienne est suspectée dans un service de néonatalogie (NN) ou de réa-néonatalogie (RNN), la recherche d'une source environnementale est très souvent réalisée. Celle-ci comprend notamment la recherche ciblée de bactéries dans le lait maternel ou le lait féminin, tels que les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération (EbR). En l'absence de recommandations techniques de mise en culture du lait pour effectuer une recherche ciblée qualitative, nous avons voulu comparer plusieurs techniques de mise en culture pour la mise en évidence d'EbR dans le lait maternel ou féminin.

Matériels et méthodes :

Etape 1: Comparaison de la sensibilité de 2 techniques, sur 98 échantillons de lait tiré dans les services de NN et de RNN de l'hôpital. Chaque échantillon a été ensemencé et analysé selon 2 techniques différentes A1 et A2.

Technique A1 : Ensemencement de 5 gouttes de lait sur milieu CHROMID® BLSE (bioMérieux) dès réception au laboratoire, incubation 48h à 36°C, identification Maldi ToF (Bruker Microflex) de chaque morphotype puis confirmation des EbR par antibiogramme en milieu liquide (Vitek, bioMérieux).

Technique B1 : Pré-incubation du lait 24h à 36°C, centrifugation, ensemencement du culot de centrifugation sur CHROMID® BLSE (bioMérieux), incubation, identification et antibiogramme idem à A1.

Etape 2 : Etude de la flore totale bactérienne (FTB) de 3 techniques, sur 28 échantillons de lait.

Technique A2 : pas de pré-traitement

Technique B2 : pré-incubation 24h à 36°C

Technique C2 : idem B2 puis centrifugation

Pour les 3 techniques: ensemencement sur milieu chromID® CPS Elite (bioMérieux) à l'oese calibrée de 10 µL avec technique similaire aux urines. Incubation 24h à 36 °C, dénombrement des flores totales selon abaque, identification et estimation semi-quantitative de chaque morphotype.

Résultats, discussion et conclusion :

B1 (8 échantillons positifs/98 dont *K.pneumoniae* BLSE et *K.aerogenes* avec cephalosporinase de haut niveau) **est plus sensible que A1** (0/98) pour détecter les EbR.

FTB(C2)>FTB(B2)>FTB(A2) de manière significative sur les moyennes calculées.

Les proportions relatives des bactéries dénombrées sont stables et conservées entre A2, B2 et C2 pour les entérobactéries, *S.aureus* et *Enterococcus sp.*

L'ensemencement du lait sans pré-traitement est à éviter lors des investigations pour recherche ciblée de bactéries. Les étapes de pré-incubation et de centrifugation permettent d'augmenter significativement la sensibilité de cette analyse pour les entérobactéries, *S.aureus* et *Enterococcus sp*

Mots clés : Lait - Investigation - Hygiène - BLSE - *K.pneumoniae*.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P03

Hydrological factors and metal contamination shape groundwater microbial communities in an industrial area

Margot Bärenstrauch¹ (margot.barenstrauch@gmail.com), Audrey Vanhove¹, Séverine Allegra¹, Steve Peuble², Frédéric Gallice², Frédéric Paran², Véronique Lavastre³, Françoise Girardot¹

¹ UMR5600, EVS-ISTHME, Université Jean Monnet, Saint-Etienne, France

² Centre SPIN, EVS-EMSE, Ecole des Mines, Saint-Etienne, France

³ Laboratoire Magmas et volcans UMR6524, Université Jean Monnet, Saint-Etienne, France

Introduction and objectives:

Water resources management has led to a growing interest in groundwater microorganisms. However, few studies have uncovered the environmental factors affecting microbial dynamics in shallow aquifers. For instance, we can question the resilience of groundwater microbial communities in industrial areas.

The Gier alluvial groundwater at Châteauneuf (Loire, France) is a relevant study area to explore this question because of its location under a 100 000 m³ slag heap accumulated since the 50s and exhibiting high levels of chromium and molybdenum. Regular flood events and heavy rains are responsible for the leaching of metal trace elements in the groundwater.

Our main objective was to analyse the groundwater chemistry and microbial communities to determine which factors (metal trace elements from the steel slag or local hydrology) are the main drivers of the communities structure.

Material and methods:

4 campaigns were performed from May 2019 to April 2021. The industrial site displays 6 piezometers affected by the heap ("polluted group"), and 2 piezometers located upstream the heap ("control group"). Samples were also collected in the nearby river (Gier) and one of its tributary. For each sampling point we analyzed: (i) the concentrations of dissolved chemical species (ICP-MS), (ii) pH, conductivity, dissolved oxygen, (iii) total nitrogen and carbon. To follow changes in microbial community, DNA samples were analysed with an Illumina Miseq instrument, after amplification of the V3-V4 region of 16s rRNA gene.

Results:

Chemical composition perfectly reflected the different origins of water masses in the groundwater. However, all groundwater samples exhibited a very high similarity and shared abundant taxa with river samples. River-derived taxa were the most abundant in samples in close proximity to the river. Comparing the polluted and control groups, our findings revealed that variability was largely attributed to one genus, *Candidatus Omnitrophus*, representing up to 50 % of amplicons found in the polluted group. Interestingly, this genus was reported to host magnetotactic representatives.

This suggests that groundwater microbial communities could adapt to local changes in environmental conditions caused here by the presence of a metal-rich soil, whereas influx of river-derived taxa would define a core microbiota.

Mots clés : Microbial community - NGS - Metal trace elements - Groundwater.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P04

Qualité des eaux destinées à la consommation humaine, dynamique des légionelles dans le contexte particulier stéphanois

Audrey Vanhove¹ (audrey.vanhove@univ-st-etienne.fr), Margot Bärenstrauch¹, Françoise Girardot¹, Jérémie Riquier¹, Steve Peuble², Séverine Allegra¹

¹ EVS-ISTHME, UMR 5600, Université Jean Monnet, Saint-Etienne, France

² EVS-EMSE, Centre SPIN, Ecole des Mines, Saint-Etienne, France

Introduction et objectifs :

Les légionelles sont des bacilles gram négatifs ubiquitaires des eaux naturelles et artificielles. L'espèce *Legionella pneumophila* peut être responsable d'une pneumonie mortelle après son inhalation sous forme d'aérosols. Avec les changements climatiques et les activités anthropiques, la problématique *Legionella* est en augmentation constante depuis 2017 en Europe et est devenue la première cause d'épidémie hydrique aux USA.

L'étude présentée ici vise à caractériser, le plus exhaustivement possible, dans le contexte particulier Stéphanois (ancien bassin minier et métallurgique), la ressource en eau potable et l'impact du traitement de potabilisation sur les légionelles et les contaminants métalliques.

Matériels et méthodes :

4 campagnes par an sont prévues (février-avril-juin et août) pendant au moins 5 ans. Les prélèvements d'eau sont réalisés au milieu du barrage, à 4 hauteurs dans la colonne d'eau côté prise d'eau vers la station de potabilisation, et directement en entrée et sortie de station. Pour chaque prélèvement sont analysés : (i) les légionelles (LégioAlert, qPCR), (ii) la flore bactérienne totale (culture, CMF, qPCR et séquençage haut débit ARN 16S), (iii) les éléments traces métalliques (ICP-MS).

Résultats et discussion :

Sur ce poster sont présentés les résultats de 2 campagnes de faisabilité (août 2020 et février 2021) et 3 campagnes (avril, juin et août 2021). Il semble que les éléments métalliques soient à des concentrations stables dans le temps. La flore bactérienne totale varie logiquement en fonction des températures et/ou de la hauteur de prélèvement. Concernant les légionelles, elles sont bien présentes à la ressource (LégioAlert et qPCR) entre 104 et 105 CFU/L. En sortie de station, elles sont détectées entre 102 et 103 CFU/L (qPCR) mais jamais par LégioAlert.

Des prélèvements de sédiments sont aussi réalisés et nous souhaitons ajouter des mesures en bathymétrie pour repérer d'éventuels courants chauds qui pourraient être propices à la circulation des légionelles. Le traitement de toutes ces données par les outils géomatiques permettra de mieux cerner les interactions entre le fond géochimique du bassin versant et les facteurs environnementaux en liens avec la répartition et l'abondance de la flore microbiologique et du pathogène *Legionella* dans le réseau de distribution stéphanois.

Mots clés : Qualité de l'eau - Legionella.

Oxygen spatio-temporal distribution in a 4-species adherent community of bacteria

Wafa Ben Youssef (benyoussef.wafa.insat@gmail.com), Amaury Monmeyran, Franck Sureau, Thomas Panier, Nelly Henry

Laboratoire Jean-Perrin, Sorbonne Université, Paris, France

The biological functions of the bacterial cells living in biofilms, i.e., embedded in a complex, self-produced polymeric extracellular matrix, differ radically from the ones of the planktonic cells.¹ Mostly, the characterization of this bacterial specific phenotype has been carried out using mono-species lab models. Yet, these systems are in marked contrast to the biofilms found in the environment. Those are usually complex and contain multiple bacterial species.² To take this into account, researches have recently turned to multispecies communities, in order to decipher the mechanisms underlying the properties of these complex consortia. However, the increased complexity of these experimental models requires new methodological approaches to investigate the mechanisms underlying their formation and development.

We present here the real-time monitoring of the spatio-temporal distribution of oxygen in a 4-species biofilm composed of *Bacillus thuringiensis*, *Kocuria salsicia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhodocyclus sp.*. Grown under flow in a millimetric channel made of PDMS, this community exhibits a deterministic development which follows defined kinetics and spatial distribution, suggesting that the formation of this adherent community is dominated by the variation of the environmental parameters, in particular, the evolution of the oxygen level within the biofilm.³

To clarify this hypothesis, we devised an original experiment to map oxygen *in situ* and in real-time. We use an O₂ fluorescent probe made of a Ruthenium complex encapsulated in lipidic micelles and we derive local oxygen concentration in the biofilm from fluorescent-lifetime imaging microscopy (FLIM) measurements of the probe *in situ*. The setup was equipped with a light sheet to ensure the optical sectioning for a 3D mapping. We will show here the main assets of the method and the first O₂ map obtained on a growing biofilm.

To conclude, we will discuss how oxygen spatio-temporal distribution could drive the basic interspecies interactions in complex natural systems.

Mots clés : Biofilm - Oxygen - Lifetime measurement - 3D mapping - Millifluidics.

Références :

1. Costerton, J. W., Stewart, P. S. & Greenberg, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284, 1318–1322 (1999).
2. Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W. & Stoodley, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2, 95–108 (2004).
3. Monmeyran, A. et al. Four species of bacteria deterministically assemble to form a stable biofilm in a millifluidic channel. *NPJ Biofilms Microbiomes* 7, 64 (2021).

Regulatory environmental risk assessment related to the use of microorganisms as plant protection products

Arnaud Conrad (arnaud.conrad@anses.fr), Sophie Duchard-Yamada, Pierre-François Chaton, Emilie Farama, Vanessa Mazerolles

ANSES – French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety, Ecotoxicology and E-fate Risk Assessment Unit for pesticides and fertilisers, Maisons-alfort, France

Microorganisms (*i.e.* bacteria, fungi, viruses) used in the composition of plant protection products (PPPs) are subject to a risk assessment conducted according to Regulation (EC) No 1107/2009 (Part B [1]) concerning the placing of plant protection products on the market. The risk assessment is performed at European level for microorganisms as active substances, and at national/zonal level for PPPs. It is mandatory before any possible placing on the market. For “microorganism” active substances and PPP containing microorganisms, the risk assessment for environment and non-target species is partly based on the current risk assessment methods for PPPs containing chemical active substances. However, given the specificities relative to this kind of active substance, information/data have to be adapted for regulatory risk assessment purpose. In this purpose, some work is ongoing at European level to propose revised uniform principles and data requirements.

Knowledge on the identity of the microorganism, its biology, its mode of action (known or suspected), its conditions of growth in the environment as well as a precise definition of the conditions of use should be available to evaluate potential risks to the environment and non-target species. The characterisation of the microorganism should provide knowledge about its fate and dissemination in the environment (*i.e.* soil, water and air). It should allow estimating its capacity to produce potential metabolites of concern, and short-term and long-term risks for non-target species. A guidance on the risk assessment of metabolites produced by microorganisms has been published recently [2].

Risks related to pathogenicity and infectivity should also be assessed. A synthesis of the knowledge available in the scientific literature [3] at the level of the genus or species, and more rarely of the strain, can make it possible to inform these requirements and to define, if necessary, the additional data to be provided for the strain under assessment.

The risk assessment approach for microorganisms used in plant protection products, its main steps including recent updates and the related conclusions will be presented in terms of protection of the environment and non-target species.

Mots clés : Microorganisms - Metabolites of concern - Regulatory risk assessment - Environment - Ecotoxicology.

Références :

1. Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC, <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1107/oj>
2. European Commission. 2020. Guidance on the risk assessment of metabolites produced by microorganisms used as plant protection active substances in accordance article 77 of Regulation (EC) No 1107/2009, 23 October 2020, SANCO/2020/12258, https://ec.europa.eu/food/system/files/2020-11/pesticides_ppp_app-proc_guide_180653_microorganism-metabolites-concern_202011.pdf
3. EFSA (European Food Safety Authority). 2011. Submission of scientific peer-reviewed open literature for the approval of pesticide active substances under Regulation (EC) No 1107/2009 (OJ L 309, 24.11.2009, p. 1-50). EFSA Journal 2011;9(2):2092. [49 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2011. 2092.

EE-P Environnement et Écologie**EE-P07****Occurrence des *E. Coli* pathogènes pour l'homme dans les eaux de surface de deux rivières situés dans le nord est de la France (Moselle et Orne)**

Stéphanie Etienne (stephanie.etienne@anses.fr), Benoit Gassilloud

Laboratoire d'Hydrologie de Nancy, ANSES, Nancy, France

Escherichia coli (*E.coli*) est un bacille thermotolérants gram négative faisant partie du microbiome de la plupart des mammifères. Une fois excrétées via les fèces humaines ou animales, ces bactéries se retrouvent dans l'environnement où elles pourront persister en fonction des conditions locales (pH, prédation, salinité, décantation etc.). Dans le domaine de l'hydrologie, cette bactérie est employée comme un indicateur de pollutions fécales pouvant être vecteur de micro-organismes pathogènes pour l'homme. La plupart des souches *E.coli* sont inoffensives, mais certaines peuvent être responsables d'infection à symptômes diarrhéiques. Parmi ces bactéries pathogènes, les *Escherichia coli* entéro-hémorragiques (EHEC/STEC ou VTEC) caractérisées par la présence de gènes *eae* et *stx* codant respectivement pour une protéine membranaire (intimine) et des Shiga-toxines responsables de complications pathologiques, constitue un groupe pouvant provoquer de graves épidémies. Si l'occurrence des STEC dans des matrices alimentaires est relativement bien documentée, il existe moins d'informations concernant la circulation de ces souches dans le milieu environnemental. La transmission via l'eau de consommation est une voie suspectée mais encore peu démontrée. Un état des lieux de l'occurrence des STEC a été réalisé mensuellement sur 2 ans, dans des échantillons d'eaux provenant de la Moselle prélevés au niveau d'un site de pompage d'une usine de production d'eau potable et de l'Orne prélevés au niveau d'un site urbanisé, anciennement industriel. Le but de cette étude a consisté à réaliser un état des lieux de la circulation des « STEC du top 5 » (O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 et O157:H7) considérées comme « hautement pathogènes ». La recherche des STEC a été réalisée en utilisant des outils moléculaire permettant un screening direct de gènes d'intérêt (*eae*, *stx1* et *stx2*) et également de déterminer la viabilité de ces bactéries. Une caractérisation génomique a été menée en parallèle pour déterminer la présence des « STEC du top 5 » en circulation. Conjointement, il a été mesuré la présence d'indicateur de contamination fécale par le biais de méthode normalisée ainsi que celle de marqueurs génétiques spécifiques des bactéroïdales d'origine humaine et provenant de ruminant. Tous les résultats sont corrélés aux mesures physico-chimiques réalisés à chaque prélèvement.

Mots clés : Microorganisme - *E. coli* - STEC - PCR - Eau de surface.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P08

Entérobactéries productrices de carbapénémases dans les eaux-urbaines et péri-urbaines en Côte d'Ivoire : une approche environnementale de l'épidémiologie de la résistance

Iman Bouazizi¹ (iman.bouazizi@etu.umontpellier.fr), Diaby Aboubakar², Florence Hammer-Dedet¹, Agnès Masnou¹, Nicolas Bernaud¹, Julien Kalpy Coulibaly², Mylène Toubiana¹, Luc Seguis¹, Jean-Louis Perrin¹, Estelle Jumas-Bilak^{1,3}, Patricia Licznar-Fajardo^{1,3}

¹ HydroSciences Montpellier, Univ Montpellier CNRS IRD, Montpellier, France

² Unité de chimie et microbiologie environnementale, Institut Pasteur de Cote d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire

³ Département d'hygiène hospitalière, CHU Montpellier, Montpellier, France

Introduction :

La lutte contre l'antibiorésistance représente un enjeu majeur de santé publique. L'OMS alerte plus particulièrement sur les entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) exposant à des impasses thérapeutiques [1]. La surconsommation et le mésusage des antibiotiques favorisent la dissémination de l'antibiorésistance chez l'Homme et dans l'Environnement. Ceci est particulièrement vrai pour les pays en voie de développement où les conditions sanitaires sont précaires et l'utilisation des antibiotiques anarchique [2]. Dans une stratégie globale de lutte «One Health», l'étude de l'antibiorésistance dans l'environnement pourrait contribuer à une meilleure connaissance de l'épidémiologie humaine à l'échelle d'un territoire et identifier des réservoirs environnementaux d'antibiorésistance.

Matériel et méthodes :

Cette étude évalue et cartographie l'antibiorésistance dans des eaux résiduaires urbaines collectées dans des canaux à ciel ouvert dédiés normalement au drainage des eaux pluviales de 3 agglomérations de Côte d'Ivoire, Abidjan, Bouaké et Yamoussoukro (14 sites de prélèvements) et dans des eaux d'un bassin versant (Djibi) occupé partiellement par une commune d'Abidjan sans réseau d'assainissement (4 sites de prélèvements). Les gènes *blaKPC*, *blaNDM*, *blaOXA-48*, *blaIMP* et *blaVIM* codant des carbapénémases (GCC) ont été recherchés (PCR) dans l'eau de 94 prélèvements. Des EPC ont été recherchés par approche culturale.

Résultats, discussion et conclusion :

L'étude a mis en évidence la co-présence des GCC *blaKPC*, *blaNDM* et *blaOXA-48* au niveau de 4 sites de prélèvement et la présence d'au moins l'un de ces gènes au niveau de 11 autres sites.

L'étude culturale a permis d'isoler 14 *Escherichia coli* et 1 *Klebsiella pneumoniae* producteurs de carbapénémase de type NDM. La présence d'EPC dans des eaux urbaines rapportée dans d'autres pays est attribuée à des contaminations anthropiques liées à un défaut d'assainissement [3,4].

En l'absence de données d'épidémiologie clinique sur les EPC en Côte d'Ivoire, nous décrivons la présence significative de GCC dans des eaux anthropisées. La présence d'EPC dans des eaux urbaines est préoccupante, puisqu'elle constitue un réservoir environnemental d'antibiorésistance, exposant les habitants à des bactéries résistantes et pouvant jouer un rôle dans la dissémination des GCC [5]. Pour contrôler le cycle écologique de l'antibiorésistance, des études de caractérisation de ces réservoirs environnementaux apparaissent donc nécessaires.

Mots clés : Entérobactéries productrices de carbapénémases - Gènes de résistances aux carbapénèmes - Bassin péri-urbain - Activités anthropiques - Côte d'Ivoire.

Références :

1. Organisation Mondiale de la Santé. (2015). Résistance aux antimicrobiens : rapport récapitulatif des progrès accomplis dans l'application de la résolution WHA67.
2. Ouedraogo, A. S., Pierre, H. J., Bañuls, A. L., Ouédraogo, R., & Godreuil, S. (2017). Emergence and spread of antibiotic resistance in West Africa: contributing factors and threat assessment. *Medecine et sante tropicales*, 27(2), 147-154.
3. Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L & Zorzet, A. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318-327.
4. Montezzi, Campana, Corrêa, Justo, Paschoal, Vieira Dias da Silva, Souza, Drolshagen, et Picão. (2015). « Oc-currence of carbapenemase-producing bacteria in coastal recreational waters ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 45 (2): 17477.
5. Hammer-Dedet, Florence, Estelle Jumas-Bilak, et Patricia Licznar-Fajardo. 2020. The Hydric Environment: A Hub for Clinically Relevant Carbapenemase Encoding Genes ». *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 9 (10). <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100699>.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P09

Détection de *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* par qPCR nichée à partir d'amibes isolées de l'environnement

Amélie Jessu¹ (amelie.jessu@univ-poitiers.fr), Thierry Cochard², Franck Biet², Ascel Samba³, Jean-Louis Moyen⁴, Yann Héchard³

¹ Université de Poitiers/ LDAR24, Poitiers, France

² INRAE, ISP, Nouzilly, France

³ Université de Poitiers/ UMR CNRS 7267, Poitiers, France

⁴ Laboratoire Départemental d'Analyse et de Recherche de Dordogne, Coulounieix-Chamiers, France

Introduction et objectifs :

La tuberculose et la paratuberculose bovine sont deux maladies de haute importance dans le domaine de la santé animale provoquées par des mycobactéries, *Mycobacterium bovis* (Mbo) et *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, (Map) respectivement. La survie de ces bactéries dans l'environnement est mal connue et le rôle potentiel de l'environnement comme réservoir de ces bactéries pourrait favoriser la transmission de ces maladies. Dans l'environnement (eau et sol), il est possible de trouver des amibes pour lesquelles des interactions avec différentes espèces de mycobactéries ont été démontrées, principalement *in vitro*. En fonction des espèces, les mycobactéries peuvent être digérées par l'amibe, ou bien survivre et voir même se développer au sein des amibes. La croissance intra-amibes peut même augmenter la virulence des bactéries. Une étude préliminaire menée par notre équipe a permis d'isoler une amibe en interaction avec Map¹. Notre hypothèse est donc que les amibes pourraient jouer un rôle de réservoir environnemental pour les mycobactéries responsables de la tuberculose et la paratuberculose bovine.

Matériels et méthodes :

Pour répondre à cette question, nous allons rechercher des amibes dans l'environnement des bovins de cheptels infectés et des mycobactéries en association avec ces amibes. Dans un premier temps, nous développons une méthode de qPCR nichée suffisamment sensible pour détecter des événements que nous anticipons comme rares dans l'environnement. Plusieurs couples d'amorces ont été testées *in silico*, puis sur un ADN contrôle positif, afin de développer cet outil.

Résultats, discussion et conclusion :

Nous avons ainsi mis au point une méthode de qPCR nichée, disponible pour les deux espèces de mycobactéries, et qui permet d'augmenter la sensibilité de la qPCR classique. Cette méthode va maintenant être utilisée pour rechercher ces mycobactéries dans les échantillons d'amibes isolées de l'environnement des bovins. Les résultats concernant cette partie sont en cours d'analyse et seront également présentés.

En conclusion, nos travaux doivent permettre de mieux décrire la présence de Map et Mbo dans l'environnement et de mieux comprendre à terme l'écologie de ces bactéries et le rôle éventuel des amibes comme vecteur de transmission.

Mots clés : *Mycobacterium bovis* - *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* - qPCR - Amibes - Environnement.

Références :

1. Samba et al., 2018, Front Cell Infect Microbiol.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P10

Antibiorésistance dans l'eau destinée à la consommation humaine : étude sur le site atelier RABLEz

Lara Guillerez¹ (lara.guillerez@etu.umontpellier.fr), Christelle Guilhe-Batiot¹, Marion Mimbielle², Isabelle Zoragniotti¹, Fabien Aujoulat¹, Bastien Monnier¹, Corinne Dubois³, Estelle Jumas-Bilak^{1,4}, Patricia Licznar-Fajardo^{1,4}

¹ HydroSciences Montpellier, Univ Montpellier CNRS IRD, Montpellier, France

² Biofaq, Manguio, France

³ ARS Occitanie, Montpellier, France

⁴ Département d'Hygiène Hospitalière, CHU Montpellier, Montpellier, France

Introduction :

A l'horizon 2050, les infections bactériennes pourraient devenir la première cause de mortalité [1] du fait de l'émergence et de la diffusion de bactéries résistantes aux antibiotiques (BRA). Face à cette menace globale, une approche intégrative (homme animal environnement) est prônée par l'OMS. L'antibiorésistance environnementale reste toutefois peu représentée dans la bibliographie scientifique avec des publications souvent centrées sur les eaux usées, réservoirs connus de BRA et de gènes de résistance (GRA).

Les BRA et les GRA peuvent aussi se retrouver dans l'eau destinée à la consommation humaine (EDCH). Bien que la qualité microbiologique de l'EDCH soit surveillée sur notre territoire, le niveau de résistance des communautés hydriques présentes ne l'est pas.

Matériel et méthodes :

2024 échantillons du contrôle sanitaire (départements Aude et Hérault), dont certains appartenant à la zone atelier RABLEz [2] et à l'observatoire MEDYCYSS (OSU OREME [3], SNO KARST [4]) sont étudiés. Les bactéries sont isolées selon le protocole réglementaire. Un antibiogramme est réalisé sur chaque *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* identifié. Les gènes codant les bêta-lactamases les plus fréquentes en clinique (*blaTEM*, *blaSHV* et *blaCTX-M*) sont recherchés chez les *E. coli*. Ces gènes ainsi que l'intégron de type 1 (*Int11*) sont également recherchés dans les communautés cultivables présentant des coliformes (TTC+). Le contexte hydrogéologique des points de prélèvement positifs est exploré.

Résultats, discussion et conclusion :

blaTEM a été retrouvé chez 14 % des *E. coli* (n=85) provenant de 3 échantillons, alors qu'aucun *E. coli* ne portait *blaSHV* ou *blaCTX-M* ou ne produisait une bêta-lactamase à spectre étendu. Aucun Entérocoque (n=50, 8 échantillons) n'était résistant à la vancomycine. *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX-M* et *Int11* ont été mis en évidence respectivement dans 43%, 3%, 0% et 3% des communautés TTC+ (n=37). Les *E. coli* porteurs du gène *blaTEM* et les communautés positives pour *Int11* et *blaSHV* provenaient exclusivement d'aquifères karstiques, environnements connus pour leur vulnérabilité.

L'antibiorésistance dans les EDCH en France n'avait encore jamais été explorée à cette échelle. Ce protocole d'analyse pourrait être déployé au niveau national grâce au maillage des analyses réglementaires et permettrait la surveillance d'un compartiment environnemental en contact avec les populations.

Mots clés : Antibiorésistance - Eaux destinées à la consommation humaine - Hydrogéologie.

Références :

1. O'Neill J. (2016). Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. Government of the United Kingdom, AMR review.
2. <http://rablez.msem.univ-montp2.fr/>
3. <https://oreme.org/observation/medycyss/>
4. <https://sokarst.org/sites/medycyss/>

EE-P Environnement et Écologie

EE-P11

Insight into molecular interaction between *Cryptosporidium parvum* and the lamb's lettuce

Sophie Kubina^{1,2} (sophie.kubina@etu.univ-rouen.fr), Damien Costa^{2,3}, Isabelle Villena⁴, Loïc Favennec^{2,3}, Romy Razakandrainibe^{2,3}, Stéphanie La Carbona¹

¹ Sécurité des aliments, ACTALIA, Saint-Lô, France

² Laboratoire de Parasitologie, EA7510 ESCAPE, Université de Rouen Normandie, Rouen, France

³ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CNR Laboratoire expert Cryptosporidioses, Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, Rouen, France

⁴ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, EA 7510, SFR CAP-Santé, Université Reims-Champagne Ardenne, Centre Hospitalier Universitaire de Reims, Reims, France

Background:

Cryptosporidiosis is an emerging protozoan disease of public health significance. The etiological agent *Cryptosporidium* spp. may be found in soil, food, water, or surfaces that have been contaminated with the faeces of infected humans or animals. Several community-wide outbreaks of water and foodborne cryptosporidiosis have been reported. In Europe, of 279 parasitic protozoan outbreaks in humans (representing 40,289 cases) reported since 2010 to the European Food Safety Authority (EFSA) and the European Centre for Disease Prevention and Control, 58 were due to *Cryptosporidium* spp., representing 33,486 cases. Healthier lifestyles attract consumers to eat, notably, fresh food like fruits and vegetables. The consumption of raw or undercooked food increases the risk of foodborne transmission of cryptosporidiosis. Among foodborne *Cryptosporidium* outbreaks described around the world, salad consumption was incriminated in 35% of cases. It is crucial to increase knowledge of *Cryptosporidium* behavior on this food matrix. Lamb's lettuce has been selected because it grows low to the ground and is entirely consumed (no leaves are thrown out), increasing the likelihood of surface contamination and transmitting the protozoa's infective stage to humans. The transmission of the parasite to man via food is closely linked to oocysts ability to maintain on food. However, there is a lack of information about the molecular interaction between *Cryptosporidium parvum* oocysts with lamb's lettuce leaves. This study aims to document this specific interaction and evaluate the effect of environmental parameters on this adherence.

Materials and methods:

Oocysts were incubated in different conditions (acidic and alkaline solutions ; supplementation with mono- and divalent ions, or carbohydrates), then inoculated onto lamb's lettuce leaves. After incubation, the adherence of parasite was evaluated by enumeration of recovered oocysts of leaves by fluorescence microscopy.

Results and conclusion:

Results show that pH and the presence of some monovalent and divalent ions can impact the adherence of *Cryptosporidium* on lamb's lettuce leaves. Galactose, mannose, N-acetyl-glucosamine, and neuraminic acid are involved in parasite's adherence to lamb's lettuce leaves.

Mots clés : *Cryptosporidium* - Lamb's lettuce - Interactions - Carbohydrates.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P12

Évaluation de l'impact de la présence de Calbénium dans les eaux de fauteuils dentaires sur la recherche de légionnelles

Killian Le Neindre¹ (killian.le-neindre@parisdescartes.fr), Christelle Lazare¹, Laurence Tribouillois¹, Cyril Gouot², Frédéric Barbut^{1,2}

¹ Service de microbiologie de l'environnement, Hôpital Saint Antoine, Paris, France

² Unité de prévention du risque infectieux, Hôpital Saint Antoine, Paris, France

Introduction et objectifs :

Depuis Décembre 2020, la recherche de légionnelles est effectuée dans les eaux des fauteuils de stomatologie à l'hôpital Saint-Antoine. Néanmoins, la présence de Calbénium dans le réseau d'eau des fauteuils peut avoir un impact sur le seuil de détection des légionnelles. Nous présentons ici une évaluation de cet impact.

Matériels et méthodes :

Les prélèvements ont été réalisés sur le réseau d'eau du fauteuil dentaire avec et sans Calbénium. Les échantillons avec Calbénium ont été recueillis sur flacon stérile et flacon contenant 20mg/L de thiosulfate. Une pastille calibrée de *Legionella pneumophila* a été ajoutée dans chacun des échantillons et dans de l'eau stérile en tant que contrôle positif.

L'analyse a été effectuée sur géloses GVPC par un ensemencement direct de 200µL et une filtration sur membrane de 100mL après un traitement de 5 minutes à l'acide pH2. Les numérations de chacune des boîtes ont alors été comparées.

Résultats, discussion et conclusion :

Tous les échantillons testés sont limpides à l'œil nu, excepté l'échantillon « Calbénium et thiosulfate ». La densité optique de cet échantillon par rapport à l'eau stérile a été déterminée à **0,34** (respectivement 0,08 et 0,02 pour « thiosulfate seul » et « Calbénium seul »). Le Calbénium et le thiosulfate semblent interagir entre eux.

Aucune colonie de légionnelles n'a été retrouvée sur les géloses avec filtre provenant de l'échantillon « Calbénium et thiosulfate ». La numération des autres géloses avec filtre est indénombrable, soit **>100** UFC de *Legionella pneumophila*. L'interaction entre le Calbénium et le thiosulfate empêche la croissance des légionnelles sur membrane. Le dénombrement de légionnelles sur les géloses ensemencées directement est de **57** UFC pour le contrôle positif, **58** UFC pour l'échantillon « thiosulfate seul », **18** UFC pour l'échantillon « Calbénium et thiosulfate » et **12** UFC pour l'échantillon « Calbénium seul ».

Une interaction entre le thiosulfate et le Calbénium semble exister, rendant ininterprétable les résultats obtenus par filtration sur membrane. La présence de Calbénium dans l'eau des fauteuils dentaires diminue le seuil de détection de la recherche de légionnelles.

Mots clés : Légionnelles - Eaux - Calbénium - Fauteuils dentaires.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P13

Détermination du rôle biologique d'une nouvelle famille de peptides modifiés chez *Caulobacter crescentus*Laura Leprevost (laura.leprevost@ibl.cnrs.fr)

Recherche sur les Mycobactéries et les Bordetelles, Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Lille, France

Introduction et objectifs :

Les RiPPs (Ribosomally synthesized and Posttranslationally modified Peptides) sont un groupe de peptides modifiés présentant une grande diversité de structures et de fonctions. Leurs opérons codent des grands peptides et leurs enzymes de modification [1]. Une nouvelle famille de RiPPs, en lien avec les métaux de transition, a été découverte chez la bactérie environnementale *Caulobacter crescentus*. Des opérons homologues retrouvés chez des bactéries environnementales [2] et pathogènes [3] sont surexprimés en présence de cuivre. L'objectif est donc de déterminer le rôle biologique de cette famille de RiPPs chez *C. crescentus*.

Matériels et méthodes :

C. crescentus présente deux opérons de cette famille. Des mutants de délétion ont été construits afin d'obtenir des souches portant l'un, l'autre ou aucun des deux opérons, ainsi que des mutants ne conservant que l'un ou l'autre gène des précurseurs de RiPPs, mais pas ceux des enzymes de modification.

Des fusions transcriptionnelles plaçant un gène rapporteur sous le contrôle de chacun des promoteurs des 2 opérons ont été générées pour tester leur induction par certains métaux de transition et des conditions de stress oxydant (H₂O₂, HOCl) [4].

La croissance des souches sauvages et mutantes a été suivie en milieu standard ou en présence de cuivre. La survie de ces souches après un choc cuivrique ou un choc oxydant a été déterminée.

Résultats, discussion et conclusion :

Les fusions transcriptionnelles ont permis de montrer que les opérons sont induits par le cuivre mais pas par les autres métaux de transition, et par HOCl mais pas H₂O₂.

Les suivis de croissance des différents mutants ont montré un rôle de ces RiPPs dans la protection contre le cuivre, avec une apparente redondance des fonctions des deux opérons. En revanche, les précurseurs non modifiés ne permettent pas de restaurer le phénotype sauvage, indiquant que les modifications de ces peptides sont nécessaires à leur fonction.

Cependant, aucune différence de survie n'a été observée après des chocs en cuivre ou H₂O₂, ce qui suggère qu'ils ont un rôle dans l'adaptation à un environnement riche en cuivre plutôt que dans la résistance à un choc.

Mots clés : RiPPs - *Caulobacter crescentus* - Cuivre - Fonction.

Références :

1. Li Y, Rebuffat S. The manifold roles of microbial ribosomal peptide-based natural products in physiology and ecology. *J Biol Chem.* 2020;295(1):34–54.
2. Wiesemann N, Mohr J, Grosse C, Herzberg M, Hause G, Reith F, et al. Influence of copper resistance determinants on gold transformation by *Cupriavidus metallidurans* strain CH34. *J Bacteriol.* 2013;195(10):2298–308.
3. Jwanoswki K, Wells C, Bruce T, Rutt J, Banks T, McNealy TL. The *Legionella pneumophila* GIG operon responds to gold and copper in planktonic and biofilm cultures. *PLoS One.* 2017;12(5):1–17.
4. Dalecki AG, Crawford CL, Wolschendorf F. Copper and Antibiotics: Discovery, Modes of Action, and Opportunities for Medicinal Applications [Internet]. 1st ed. Vol. 70, *Advances in Microbial Physiology*. Elsevier Ltd.; 2017. 193–260 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.ampbs.2017.01.007>

EE-P Environnement et Écologie

EE-P14

Impact du changement climatique sur les tapis microbiens de l'île de Ré (France)

Camille Mazière^{1,2} (camille.maziere@univ-pau.fr), Alice Baldy¹, Martine Bréret², Philippe Pineau², Cyril Noël³, Thomas Lacoue-Labarthe², Cédric Hubas⁴, Hélène Agogué², Cristiana Cravo-Laureau¹, Christine Cagnon¹, Robert Duran¹, Christine Dupuy²

¹ IPREM, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau, France

² LIENSs, La Rochelle Université, La Rochelle, France

³ SeBiMER, IFREMER - PDG-IRSI, Plouzané, France

⁴ BOREA, Muséum National d'Histoire Naturelle, Concarneau, France

Introduction et objectifs :

Les effets du changement climatique représentent un défi pour notre société dans les prochaines décennies. Le groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC, 2014) prévoit que les systèmes marins seront parmi les zones les plus affectées. Elles feront face à de nombreuses pressions environnementales dues au changement climatique, en particulier l'augmentation de la température et l'acidification des océans. Les sédiments marins jouent un rôle important dans la transformation de la matière organique et dans la dynamique des cycles du carbone, de l'azote et de l'oxygène. Dans les zones côtières, les tapis microbiens assurent ces rôles clefs. Les impacts du changement climatique sur les écosystèmes marins sont beaucoup étudiés au niveau mondial mais très peu au niveau local. Ils sont notamment méconnus en région Nouvelle-Aquitaine. Il est primordial de connaître les modifications, structurales et fonctionnelles, et la dynamique des communautés microbiennes en réponse au changement climatique. Notre étude vise à définir l'impact de l'augmentation de température et de l'acidification du milieu marin sur les tapis microbiens de l'île de Ré. Les résultats attendus devraient permettre le développement de bio-indicateurs estimant la santé de l'environnement.

Matériel et méthodes :

Des tapis microbiens prélevés dans des marais salants non exploités de l'île de Ré ont été placés dans des mésocosmes en laboratoire. Une augmentation de la température de l'eau et une diminution de son pH ont été simulés durant 8 semaines d'après les prévisions RCP8.5 pour 2100 du GIEC (2014). Un suivi quotidien des paramètres physico-chimiques et des prélèvements hebdomadaires du tapis ont été réalisés afin de suivre sa dynamique fonctionnelle et de caractériser la modification de sa diversité.

Résultats, discussion et conclusion :

Malgré son acidification, un maintien du pH de l'eau des mésocosmes est observé. Une augmentation de la température est bien réalisée. Des premiers résultats ont montré que l'acidification impactait la concentration de pigments inconnus, vraisemblablement de la bactériochlorophylle *c*, qui augmente alors que la concentration en chlorophylle *a* diminue. En effet, le traitement acidification modifie la communauté phototrophe microbienne. Cela pourrait potentiellement impacter d'autres communautés au sein du tapis microbien et donc son fonctionnement entier.

Mots clés : Tapis microbiens - Changement climatique - Mésocosmes - Bactéries vertes phototrophes anoxygéniques - Marais salants.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P15

Isolation and identification of xylophagous fungi hosted by bark beetles

Lyès Moumeni^{1,2} (lyes.moumeni@etud.univ-angers.fr), Mustapha Bounechada², Farida Benia², Louiza Gillmann¹, Wilfried Poirier¹, Sandrine Giraud³, Jean-Philippe Bouchara¹

¹ Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène, GEIHP, EA3142, Université d'Angers, Angers, France

² Laboratoire d'amélioration et de développement de la production végétale et anim, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie

³ Université d'Angers, Angers, France

Introduction:

Forest dieback is now becoming a global problem. A striking example is the decline of Aleppo pine forests (*Pinus halepensis* Mill.) in eastern Algeria, given the major economic importance of this species. In addition to the increased droughtiness, bark beetles (xylophagous insects) could be, at least in part, responsible for this decline.

Moreover, since the early 2000s, new fungal species have emerged in France and throughout Europe as causing respiratory infections in patients with cystic fibrosis, and several arguments suggest that they are xylophagous species introduced into Europe together with their insect hosts as a result of climate change.

Bark beetles live in association with filamentous fungi or yeasts that degrade for them the components of the plant cell wall. The study aims to clarify the biodiversity of fungal species associated with bark beetles from the Aleppo pine forests in eastern Algeria, with a particular focus on the search for species that are pathogenic to humans.

Materials and methods:

Insects were collected from decaying trees in Eastern Algeria. Three culture media were used to isolate fungi; YPDA, DRBC and Malt-Agar. The Internal Transcribed Spacer (ITS) was amplified using ITS4/ITS5 primers; the sequences were compared with the Genbank database to determine the fungal species.

Growth tests on different media containing wood or its purified components were carried out in order to highlight the degradation capacity of these compounds by fungi.

Results, discussion and conclusion:

Several species of bark beetles belonging to the Scolytinae family have been identified, as well as several fungi and yeasts associated with them, 10 xylophagous species were found, while 26 of the species identified are usually considered as saprophytes.

One of these saprophytic species and 3 out of the 10 xylophagous species, selected based on the availability of their whole genome sequence, were shown to grow on different culture media, including the bark of Aleppo pine, sometimes even more than on glucose- or cellulose-containing media, thus confirming the xylophagous properties.

Mots clés : Xylophagous fungi - Cystic fibrosis - Bark beetles - Forest decline - Aleppo pine.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P16

Study of the Physico-Chemical and Microbiological Parameters of Household Wastewater in Brazzaville

Rachel Moyen¹ (rmoyen@yahoo.fr), Tarcisse Baloki Ngoulou², Etienne Nguimbi^{1,3}, Gabriel Ahombo¹, Laurent Matini⁴

¹ *Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques Université Marien NGOUABI, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

² *Faculté des Sciences et Techniques Université Marien NGOUABI, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

³ *IRSN (Institut de Recherche en Sciences Naturelles), Ministère de la Recherche Scientifique, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

⁴ *Laboratoire de Chimie minérale, Ecole Normale Supérieure, Université Marien NGOUABI, Brazzaville, Congo-Brazzaville*

In order to contribute to the improvement of sanitation conditions in order to prevent health and environmental risks related to the discharge of household wastewater, household wastewater samples from four districts of Brazzaville were analysed in their physico-chemical and microbiological quality. The physicochemical parameters were determined according to the methods defined by the AFNOR standards and the Rodier technique. Microbiological quality has been determined by conventional microbiological methods consisting of isolation, identification and enumeration. The isolation of the germ was done using specific and/or selective media. The identification was done by determining the cultural and biochemical parameters. The count was done using the liquid method by dilution and then sowing using the Rodier technique. The results of the physicochemical analyses showed pH values ranging from 8.12 to 9.34; water temperatures ranged from 22.35 to 23.40 °C ; turbidity from 288.75 to 440.87 NTU, electrical conductivity from 1062.54 to 2370.93 $\mu\text{S}/\text{cm}$, TSS from 264.75 to 1483.25 mg/l, total hydrometric titre from 30.52 to 33 mg/lCaCO₃, the complete alkalimetric titre from 114.03 to 156.39 mg/lCaCO₃, the alkalimetric titre from 36.57 to 70.49 mg/lCaCO₃, bicarbonate ions from 21.16 to 86.79mg/l and oxidability at KMnO₄/H⁺ from 0.065 to 0.14 mg/lO₂. Microbiological analyses allowed us to isolate one hundred and two (102) microorganisms, including ninety-nine (99) (97.05%) bacteria and 3 (2.95%) yeast. The isolated bacteria consisted of : 51 Enterobacteria (51.51%), 16 Staphylococcus (16.16%), 16 Bacillus (16.16%), 8 Clostridium (8.08%), 8 Pseudomonas (8.08%). The presence of pathogenic germs in household wastewater constitutes a health risk; from where this water must be treated before being evacuated and discharged in the street.

Mots clés : Physico-chemical - Microbiologica - Parameters - Wastewater - Household.

Références :

1. Abdelmalek Bengherbia, Fella Hamaidi, Rabia Zahraoui, Mohand Said Hamaidi and Smain Megateli. (2014). Impact of wastewater discharges on the physico-chemical and bacteriological quality of oued beniaza (Blida, Algeria). *Lebanese Science*. Vol. 15, No. 2. 3951.
2. Abouelouafa Mounia, El Halouani Hassan, Kharboua Mohammed & Berrichi Abdel bass. (2002). Physical, chemical and bacteriological characterization of raw wastewater in the city of Oujda: main canal and Oued Bounaïm. *Inst. Acts Agron. Vet. (Morocco)*. Vol. 22 ,(3).143150.
3. Aboulkacem A., A. Chahlaoui, A. Soulaymani, F. Rhazi-Filaliet D. Benali. (2007). Bacteriological comparative study of the waters of the Boufekrane and Ouislanewadis crossing the city of Meknes (Morocco). *Discount*, Vol. 1, No. 1.10-22.
4. Attab Sarah. (2011). Improvement of the microbiological quality of the water treated with activated sludge from the Haoud Berkaoui wastewater treatment plant by using a local sand filter. *Magister in Algeria*. 1-152p.
5. Brousseau Nicholas, M.D. (2009). Study of microbiological contamination of public spas in Quebec, biological risks department. Department of Medicine, 1-107. Available at: http://www.inspq.qc.ca/pdf/.../960_Contaminati onMicroSpasQc.pdf. Accessed [January 20, 2016]. Tarcisse.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P17

Spectrométrie de masse MALDI-TOF pour caractériser l'origine des indicateurs de contamination fécale dans un écosystème côtier

Mery Ndione¹ (mery.ndione1@univ-lr.fr), Tony Agion², Michaël Treilles³, Luc Vacher¹, Hélène Agogué¹

¹ UMR 7266/ Institut du Littoral Environnement et Sociétés, La Rochelle Université, La Rochelle, France

² Qualyse, La Rochelle, France

³ Qualyse, Champdeniers, France

Introduction et objectifs :

La baie d'Aytré située sur la façade atlantique en Charente Maritime (France) est interdite à la baignade depuis l'été 2018 à la suite d'une contamination fécale récurrente très marquée en entérocoques et en *Escherichia coli*. En effet, comme dans toutes les zones de baignade, les suivis sanitaires effectués dans cette baie ont classé la plage en qualité insuffisante depuis une vingtaine d'années. Ces analyses et les travaux d'aménagement réalisés dans la baie et dans son bassin versant n'ont pas permis d'améliorer la qualité microbiologique de ces eaux de baignade ni de déterminer la(s) source(s) de cette contamination fécale.

Les enjeux sanitaires de cet écosystème côtier et la persistance de cette contamination ont conduit à développer de nouvelles méthodes d'analyse pour déterminer son origine et ainsi mettre en place des stratégies de lutte efficace contre cette pollution.

Matériels et méthodes :

Notre étude met en place une approche innovante multi-indicateurs pour identifier l'origine humaine et/ou non humaine de la contamination fécale dans la baie d'Aytré. Des échantillons d'eau ont été prélevés durant une année. Les indicateurs de contamination fécale ont été quantifiés pour déterminer le niveau de contamination de cette baie. Ensuite, des modèles de discrimination de spectres protéiques des indicateurs de contamination fécale *E. coli* et entérocoques fécaux (*E. faecium* et *E. faecalis*) ont été développés par spectrométrie de masse MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization/Time Of Flight*) (Christ et al., 2017) pour une caractérisation de leur origine humaine ou non humaine (animale). En plus, des marqueurs génétiques d'origine humaine (*Bacteroides* HF183, crAssphage), équine (HoF597), aviaire (GFD) et canine (BacCan) ont été recherchés (Zhang et al., 2020).

Résultats et conclusion :

Notre étude a montré que la contamination fécale de la baie d'Aytré est due principalement au dépassement des seuils réglementaires des entérocoques. L'identification des espèces bactériennes de ce groupe d'indicateur a mis en évidence que ces bactéries sont d'origine environnementale, humaine et animale (non humaine). Les modèles développés au cours de notre étude permettront d'améliorer les méthodes de caractérisation de l'origine des contaminants fécaux dans les écosystèmes aquatiques vulnérables.

Mots clés : Écosystème côtier - Contamination fécale - *Escherichia coli* - Entérocoques - MALDI-TOF.

Références :

1. Christ, A.P.G., Ramos, S.R., Cayô, R., Gales, A.C., Hachich, E.M., Sato, M.I.Z., 2017. Characterization of Enterococcus species isolated from marine recreational waters by MALDI-TOF MS and Rapid ID API® 20 Strep system. Mar. Pollut. Bull. 6. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.03.025>
2. Zhang, Y., Wu, R., Lin, K., Wang, Y., Lu, J., 2020. Performance of host-associated genetic markers for microbial source tracking in China. Water Res. 175, 115670. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115670>

EE-P Environnement et Écologie

EE-P18

Insights into bacterial resource allocation in dynamically changing environments using a combination of experimental and mathematical approaches

Antrea Pavlou^{1,2} (antrea.pavlou@inria.fr), Hidde de Jong¹, Hans Geiselmann²

¹ *Inria Grenoble Alpes, Montbonnot-Saint-Martin, France*

² *Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LiPhy), Université Grenoble Alpes, Saint-Martin-d'Hères, France*

The relationship between bacterial growth and the environment has been well characterized over the last 50 years. In most studies, however, bacteria are maintained at steady-state growth even though in reality they are rarely in a constant environment. To investigate bacterial adaptation in changing environments, we track growth and gene expression of single-cell *E. coli* bacteria growing in a microfluidic device in changing environments. We examine the behavior of specific ribosomal and metabolic genes in this context using fluorescent protein tags. The experimental results provide a detailed view of resource allocation strategies of bacteria in dynamically changing environments and are helpful in testing the predictions made by resource allocation models of bacterial growth.

Mots clés : Resource allocation - Bacterial growth - Adaptation - Microfluidics - E coli.

EE-P Environnement et Écologie

EE-P19

Updated taxonomy of *Pectobacterium* genus in the CIRM-CFBP bacterial collection: when newly described species reveal “old” endemic population

Perrine Portier¹ (perrine.portier@inrae.fr), Jacques Pédrón², Géraldine Taghouti¹, Cécile Dutrieux¹, Marie-Anne Barny²

¹ IRHS, INRAE, Beaucauzé, France

² IEES, INRAE, Paris, France

Bacterial collections are invaluable tools for microbiologists. However, their practical use is compromised by imprecise taxonomical assignation of bacterial strains. This is particularly true for soft rotting plant pathogens of the *Pectobacterium* genus. To solve this difficulty, we analyzed the taxonomic status of 265 *Pectobacterium* strains deposited at CIRM-CFBP collection from 1944 to 2020. This collection gathered *Pectobacterium* strains isolated in 27 countries from 32 plant species representing 17 botanical families or from non-host environments. MLSA approach completed by genomic analysis of 15 strains was performed to update the taxonomic status of these 265 strains. Results showed that the CIRM-CFBP *Pectobacterium* collection harboured at least one strain of each species to the exception of *P. polonicum*. Yet, 6 strains could not be assigned to any of the described species and may represent at least two new species. Surprisingly, the *P. versatile* species, recently described in 2019, is the most prevalent species among CIRM-CFBP strains. Analysis of *P. versatile* strains revealed that this species is endemic all over the world on various host plants and environments. At the opposite, other species gathered strains isolated from only one botanical family or exclusively from fresh water environment. Our work also revealed new host plants for several *Pectobacterium* spp.

Mots clés : *Pectobacterium* - Biological resources center - Taxonomy - Host plant.

Références :

1. Portier P. et al., 2020, *Microorganisms*, 8(9): 1441.
2. Portier P. et al., 2019, *Int J Syst Evol Microbiol*, 69(10): 3207-3216.

Lower funneling pathway in *Scedosporium* species

Kévin Ravenel (kevin.ravenel@univ-angers.fr)

Groupe d'étude des interactions Hôte-pathogène, Université d'Angers, Angers, France

Lignolytic fungi have received a particular attention during the last decades. Recent studies evidence that similar enzymatic arsenal is required to degrade lignin, lignocellulose components and organic pollutants. Various fungi characterized as opportunistic pathogens are found in human-made environments and exhibit degrading abilities toward aliphatic and aromatic hydrocarbons. Moreover, for several pathogenic microorganisms, a link between capacity to degrade aromatic pollutants and virulence has been established.

Scedosporium are filamentous fungi usually soil saprophytes with a common occurrence in polluted areas, that have been regularly reported as causing human infections, particularly in patients with cystic fibrosis. Because of their limited susceptibility to current antifungals, a better understanding of their adaptative mechanisms to these environments is required.

Lignin degradation by microorganisms is initiated by extracellular oxidative steps and followed by intracellular metabolic degradation through the microbial funneling pathway. In fungi, four main aromatic intermediate compounds (protocatechuate, catechol, hydroxyquinol, gentisic acid) serve as substrates in the lower funneling pathway, where dioxygenases are key enzymes catabolizing the ring-opening step. This work was aimed to study these lower funneling pathway in *Scedosporium* species.

Orthologues dioxygenases from the literature were used to screen *Scedosporium* genomic data by tBLASTn searches. A comprehensive *in silico* analysis was performed to characterize these enzymes, and their genomic environment. Then, a focus on the gentisic acid pathway was done in order to experimentally validate the bioinformatic results. Sixteen putative genes encoding ring-cleavage dioxygenase were identified on *S. apiospermum*. The bioinformatic analysis suggests that *Scedosporium* species exhibit the enzymatic arsenal to catabolize the main aromatic intermediates derived from lignin degradation. Except for protocatechuate catabolism, the genes of the corresponding pathways are organized in cluster.

Then, the experimental part confirm the ability of *Scedosporium* to grow on synthetic media containing lignin or the gentisic acid as the sole carbon source. Moreover, in these culture conditions, real-time PCR experiments demonstrated that the genes of the cluster were overexpressed.

Therefore, these results may explain *Scedosporium* presence in polluted environments. Considering the low susceptibility to current antifungal drugs of the fungi, these metabolic pathways may constitute targets for the development of more potent antifungal.

Mots clés : *Scedosporium* - Funneling pathway - Ring-cleavage dioxygenase - Adaptation.

M-P Mycologie

M-P01

Mycologie

Diagnostic de la fusariose invasive par détection d'ADN circulant : analyse rétrospective de 9 cas prouvés

Sarah Dellièvre¹ (sarah.delliere@gmail.com), Marcela Sabou², Cécile Angebault³, Marjorie Cornu⁴, Samia Hamane¹, Marie-Elisabeth Bougnoux⁵, Juliette Guitard⁶, Françoise Botterel³, Stéphane Bretagne¹, Alexandre Alanio¹

¹ Hôpital Saint-Louis, Paris, France

² CHU Strasbourg, Strasbourg, France

³ Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France

⁴ CHU Lille, Lille, France

⁵ Hôpital Necker, Paris, France

⁶ Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

Introduction :

Fusarium spp. est un agent fongique phytopathogène et émergent en pathologie humaine chez les patients sévèrement immunodéprimés et grands brûlés. Les fusarioses invasives restent associées à une importante morbi-mortalité en lien avec un diagnostic difficile en l'absence de culture positive. L'objectif de notre étude est d'évaluer la détection d'ADN circulant de *Fusarium* spp. pour le diagnostic précoce des fusarioses invasives.

Méthodes :

Cette étude rétrospective multicentrique (6 centres) évalue une PCR développée et optimisée pour identifier toutes les espèces de *Fusarium* spp. Un total de 9 patients diagnostiqués avec une fusariose prouvée selon les critères EORTC/MSG entre 2015 et 2021 ont été inclus. Des patients présentant d'autres infections fongiques n'en présentant pas (n=10) ont été inclus comme témoins négatifs.

Résultats :

Aucune réaction croisée n'a été détectée par l'étude de 81 ADN d'espèces de champignons opportunistes. Toutes les souches (n=19) provenant de 5 complexes d'espèces de *Fusarium* spp. impliqués en pathologie humaine (complexe *dimerum*, *solani*, *oxysporum*, *fujikuroi* et *incarnatum*) ont été détectés. La limite de détection est évaluée à 3.2-32 femtogram/μL en fonction des espèces. L'ADN circulant était détecté dans le sang de 8 patients sur 9 jusqu'à 10 jours (médiane=-1 [-10 ; 3]) avant le diagnostic confirmé par une hémoculture ou biopsie positive. Les biopsies disponibles (n=2) de nodules sous-cutanées dans le cas de fusarioses disséminées ont également permis de détecter l'ADN de *Fusarium* spp. Des prélèvements itératifs chez un patient ont mis en évidence une persistance de la détection d'ADN jusqu'à 8 jours après la mise sous traitement (voriconazole). L'ADN de *Fusarium* spp. n'a pas été détecté chez un patient présentant une hémoculture positive à *Fusarium verticilloides* mais nous n'avons pas pu analyser de sérum prélevé le jour de la première hémoculture positive et après. Aucun prélèvement des patients témoins n'a été amplifié.

Discussion :

Nous avons développé une PCR spécifique *Fusarium* spp. dont les caractéristiques montrent une sensibilité et spécificité de 88,9 et 100%, respectivement.

La détection d'ADN circulant spécifique de *Fusarium* spp. semble être une technique non-invasive, sensible et spécifique et pourrait permettre un diagnostic précoce et un suivi des fusarioses invasives.

Mots clés : Fusarium - Diagnostic moléculaire - qPCR.

M-P Mycologie

M-P02

Mycologie

Genomic signatures for fungal adaptations to wood decay

Marie-Noëlle Rosso¹ (marie-noelle.rosso@inrae.fr), Elodie Drula^{1,2}, Hayat Hage³, Shingo Miyauchi¹

¹ Biodiversité et Biotechnologie Fongiques, INRAe, Marseille, France

² USC1408, Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques, Marseille, France

³ Biodiversité et Biotechnologie Fongiques, INRAe - Aix Marseille Université, Marseille, France

Due to their unique ability to degrade all constituents of wood, including lignin, wood decay fungi are the ultimate decomposers of dead organic matter in forest ecosystems. As such, they play a role in the dynamics of carbon cycling. Using phylogenomics on 50 Polyporales genomes, among which 26 were newly generated from strains maintained at the CIRM-CF collection, we highlight a functional diversity in wood decay mechanisms among the Polyporales clades, which is supported by different gene family expansion/contraction trajectories for plant cell wall degrading enzymes and for genes involved in signaling and regulation. Using cross-species comparative transcriptomics, we identified yet overlooked conserved genes that code for enzymes active at the fungal cell wall-plant cell wall interface and could contribute to the degradation of recalcitrant plant cell wall polymers. These findings highlight the functional diversity within Polyporales which could help in improving the design of biocatalysts aimed at the use of recalcitrant plant materials as a renewable carbon source.

Mots clés : Biodiversity - CAZyme - Phylogenomics - Lignocellulose - Plant cell wall.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P01

Development of a cheese model in laboratory conditions to study the limitation of *Pseudomonas fluorescens* spoilage in cheese

Abirami Baleswaran (abirami.baleswaran@purpan.fr), Christel Couderc, Loubnah Belahcen, Jean Dayde, Hélène Tormo, Gwenaëlle Jard

Ecole d'Ingénieurs de Purpan, Toulouse, France

Introduction and objective:

The spoilage caused by *Pseudomonas fluorescens* on cheese are often reported by cheese makers. Responsible for defects in appearance, texture, taste, and smell in cheeses, it can lead until destruction of the products. Despite preventive actions establishment, problems linked to *P. fluorescens* are difficult to control by the lack of knowledge and control of these contaminants. The study of spoilage requires first to establish a laboratory model. The objective of our work is to develop a cheese model in controlled conditions to better characterized symptoms linked to *P. fluorescens* spoilage in cheeses and to understand the impact of technological parameters on this spoilage.

Materials and methods:

First, a goat cheese micromodel was developed in laboratory conditions, based on Rocamadour manufacturing process. The model was validated by comparing the descriptors of three productions cheeses (microbiological, physicochemical, and aromatic analyses) made in laboratory and those made in a factory, on four key stages of the process.

A collection of 13 *P. fluorescens* isolated from damaged cheeses was identified at a taxonomic level by 16S sequencing. Then strains were evaluated based on phenotypic traits including growth and expression of defects on curds and their enzymatic activities. The best spoiler strains will be selected to characterize the defects in the laboratory micromodel during cheese processing.

Results and conclusion:

The model developed in laboratory conditions seems to be a representative model of traditional Rocamadour cheese by their physicochemical and microbiological compositions similar. Also, the same results have been got in the three model production assays. Even if it was difficult to reproduce the same atmosphere in the refining mini cellar, ripening of cheese model in those conditions seems to be sufficient to make similar cheese to traditional ones. This model could be a good tool to study cheese spoilage linked to *P. fluorescens*. Moreover, extrapolation of the same approach to the manufacture of other cheeses for application purposes could be considered.

From *P. fluorescens* collection, activities and defects on curds are currently studying. One strain seems to be interesting to inoculate in milk and follow its development during cheese process.

Mots clés : Cheese - Model - *P. fluorescens* - Spoilage.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P02

Detection of enterotoxigenic potential of *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis cases in Oran, Algeria

Nadjia Benhamed^{1,2} (nadjia.benhamed@gmail.com), Ismahene Mezouar¹, Philippe Gautier³, Pierre Yves Donio³, Mebrouk Kihal²

¹ Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, Oran, Algérie

² Laboratoire de Microbiologie Appliquée, Université Ahmed BenBella Oran1, Oran, Algérie

³ University of Rennes 1, Rennes, France

Mastitis *S. aureus* is considered one of the major diseases in dairy cattle. The presence of *S. aureus* causes damage to the mammary gland tissue that will impact milk production in both volume and quality. The many virulence factors such as toxins and proteins or surface polysaccharides are involved in the pathology. This study determines the phylogenetic profile of *S. aureus* strains isolated from raw milk samples from bovine mastitis diagnosed in dairy farms in Oran. After identification by MALDI-TOF, spa typing and MLST have identified the phylogenetic position of the strains. The molecular profile toxin was demonstrated by real-time PCR.

Toxins research shows that only a few strains have proven carriers of different virulence genes including the gene encoding the *pvl* Panton-Valentine leukocidin. Other strains were positive for the presence of *tst* gene encoding the toxin of toxic shock syndrome (TSST-1), 100% of the *Staphylococcus aureus* isolates identified were sensitive to methicillin. In conclusion, the results obtained in this work have determined the phylogenetic profile, toxic and sensitivity profile of the methicillin strains studied. Strains found producing as the Panton-Valentine leukocidin are sensitive to methicillin. This study is the first molecular characterization study of animal strains of *S. aureus* isolated in the region of Oran.

Mots clés : Mastitis - *Staphylococcus aureus* - Milk - Enterotoxin - PCR.

Références :

1. A. B. Author, "Title of chapter in the book," in Title of His Published Book, xth ed. City of Publisher, Country if not
2. First Author and Second Author. 2002. International Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology. (Nov 2002), ISSN NO:XXXX-XXXX DOI:10.251XXXXX
3. Eicher, R., Sutter-Lutz, B. et Berger, L. 2003. Contrôler les mammites à *Staphylococcus aureus*. le Point Vétérinaire. 33 (228) :50-54.
4. Jacquinet, S.A.2009. Evaluation du dépistage des mammites par la conductivité électrique du lait. Thèse.Doc. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
5. 65. Pfizer. Réseau bactériologie PFIZER. Mis à jour en 2004. [www.pfizer.fr/vet/lait/index.php]. Consulté le 15 juillet 2009.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P03

Study of genetics characteristics of *Staphylococcus aureus* (t267) isolated from bovines mastitis clinicals cases, AlgeriaIsmahene Mezouar^{1,2} (nadjia.benhamed@gmail.com), Nadjia Benhamed¹, Abdelkader Bekki², PierreYves Donnio³¹ *Université des Sciences et de la Technologie d'Oran MB, Oran, Algérie*² *Laboratoire de recherche de biotechnologie des Rhizobiums et amelioration des pl, Université Ahmed Benbella Oran1, Oran, Algérie*³ *Université de Rennes 1, Rennes, France*

S. aureus mastitis are considered one of the major diseases in dairy cattle. This study determines phylogenetic profile of *S. aureus* isolated from Bovines mastitis in Oran. MALDI-TOF, spa, MLST have identified. The molecular profile toxin was demonstrated by PCR. Antibiotic resistance of *S. aureus* and confirmed by amplification of the *mecA* gene. Results of spa typing, variety (T267, T021 and t007). MLST; reveals different (ST39, ST2598 and ST97). Toxin research shows that only some strains proved carriers of different virulence genes; *pvl* gene. Other strains were positive for *tst* gene (TSST-1), 100% of the *S aureus* isolates identified were SASM. this work have determined the phylogenetic profile, toxic and sensitivity profile to métilicine strains. Strains found produisantes as PVL are sensitive to methicillin, don't belong to ST30 commonly found in humans in Algeria, relation to the type of stem ST97 are of bovine origin. study is the first molecular study of animal strains in Oran.

Mots clés : T267 - Staphylocoques - Mastitis - Milk - Mlst.

Références :

1. Yannick, A., Belliard, E., 2009. Relations entre épidémiologie, clinique et Bactériologie des infections mammaires ; Application a la prédiction de la nature Des germes responsables de mammites cliniques de la vache laitière Dans les cotes d'Armor. Thèse. Doct.Vét, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse.
2. Dastmalchi, H. S. 2012. Coa types and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolates from cases of bovine mastitis. *Comp. Clin. Pathol*, 21 :301–307.
3. Durel, L., Hugues, G. et Léonard, T., 2011. Mammites bovine, *Vade. Mecum*. Edition Med'com. 270: 18,218.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P04

Le microbiote de filets de truite arc-en-ciel : quels profils de communautés et d'antibiorésistance d'une flore dominante, les *Pseudomonas* ?

Agnès Bouju¹ (agnes.bouju@oniris-nantes.fr), Nicolas Helsens¹, Kenny Oberlé², Hervé Prevost¹, Ségolène Calvez², Catherine Magras¹

¹ UMR SECALIM, Oniris, Nantes, France

² UMR BIOEPAR, Oniris, Nantes, France

L'acquisition de résistances aux antibiotiques par les bactéries pose la question de la place de la denrée alimentaire comme une potentielle source de transmission de déterminants de l'antibiorésistance. Ces déterminants sont liés à la flore bactérienne naturelle de la denrée dont la composition est impactée par son environnement de production. La filière aquacole, considérée comme une interface entre l'environnement et le filet de poisson, est un modèle intéressant. Le genre *Pseudomonas* en raison de sa capacité à persister dans les environnements de transformation, est trouvé dans des communautés bactériennes de denrées. Possédant des éléments génétiques mobiles, ces bactéries peuvent transférer les déterminants de la résistance à diverses espèces bactériennes (*Pseudomonas*, *E. coli*). Peu d'études décrivent la diversité des communautés bactériennes de filets frais, depuis l'environnement de la ferme jusqu'à l'environnement de l'usine et le profil de résistance de souches non pathogènes de *Pseudomonas*. Le microbiote bactérien de 56 filets avec peau, de truites issues de deux fermes, en amont et en aval d'une même rivière, ont été décrits à l'aide de méthodes d'extraction adaptées à cette matrice dont le niveau de flore naturelle est faible, et par séquençage par amplicon du gène de l'ARNr 16S. Le profil de résistance de 51 souches du genre *Pseudomonas*, identifiées par Maldi-Tof, a été testé pour 10 antibiotiques.

Le microbiote des filets est dominé par les genres bactériens *Pseudomonas*, *Escherichia-Shigella*, *Chryseobacterium* et *Carnobacterium*. Des variations ont été observées pour les communautés bactériennes les moins abondantes en fonction de la localisation de la ferme ou des conditions de filetage. En revanche, le profil de résistance des souches de *Pseudomonas*, appartenant pour 94,1% d'entre elles au groupe *P. fluorescens* n'est pas significativement différent entre l'origine des filets. Mais 7 souches montrent un profil de résistance avec des valeurs de CMI variant de 64 µg.mL⁻¹ à 256 µg.mL⁻¹ pour l'oxytétracycline, de 512 µg.mL⁻¹ à 1024 µg.mL⁻¹ pour le florfenicol et la colistine, de 128/2432 µg.mL⁻¹ à 512/9728 µg.mL⁻¹ pour l'association triméthoprim/sulfaméthoxazole. Dans cette étude, les filets de poissons apparaissent peu porteurs d'éléments pouvant participer à l'antibiorésistance. Néanmoins il serait intéressant de caractériser le contenu génétique de ces isolats.

Mots clés : Filets de poisson - Microbiote - Antibiorésistance - *Pseudomonas* - Élevage.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P05

Impact of disinfectant stress on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in biofilm and on their transfer from surfaces to food

Thomas Brauge^{1,2} (thomas.brauge@anses.fr), Guylaine Leleu¹, Aurélie Hanin^{2,3}, Catherine Denis^{2,3}, Graziella Midelet^{1,2}

¹ Food Safety Laboratory, Anses, Boulogne-sur-Mer, France

² Members of the RMT ACTIA CHLEAN, Paris, France

³ Food Safety, Actalia, Saint-Lô, France

L. monocytogenes is a food pathogen frequently isolated in the food industry. This bacterium is able to adhere to surfaces and form biofilms that are composed of an extracellular matrix. This extracellular matrix has the function of protecting bacterial cells from environmental aggressions such as cleaning and disinfection procedures. It is therefore essential for industrials to have effective disinfectants to remove these biofilms and limit the transfer of *L. monocytogenes* cells from inert surfaces to food.

The objectives of our work were to i) evaluate the impact of two disinfectants frequently used in food industries on the cellular viability state of *L. monocytogenes* in biofilm, ii) evaluate the transfer of these stressed bacteria from inert surfaces to food, iii) and track changes in viability state of the bacteria transferred into the food.

Single-specie and mixed biofilms of *L. monocytogenes* associated or not with *Carnobacterium maltaromaticum* and *Carnobacterium divergens* were grown for 24 hours at 8°C on stainless steel. Static treatments with disinfectants (hydrogen peroxide or quaternary ammonium) or water (control) were applied to these biofilms. The populations of treated biofilms were quantified by enumeration of the viable cultivable population with agar media and, by qPCR and PMA-qPCR, respectively to quantify the total and viable populations of *L. monocytogenes*. At the same time, the transfers were carried out to the treated contaminated surfaces from calibrated slices of ionized smoked herring. Cultivable, total and viable *L. monocytogenes* populations were quantified in these slices promptly and at use-by date.

The application of water treatment (control) did not alter the cellular viability state of *L. monocytogenes* in biofilm. In contrast, treatment with the two disinfectants tested did not remove *L. monocytogenes* cells on the surfaces but changed the cell viability state with the emergence of a majority of viable but non-cultivable cells (VBNC). These VBNC cells were transferred to the herring slices and returned in the viable cultivable state on agar media during the commercial shelf life of the herring.

Mots clés : Listeria - Biofilm - Disinfectant - Transfert - Seafood.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P06

Profil microbiologique de trois espèces d'insectes comestibles : *Tenebrio molitor* (TM), *Acheta domesticus* (AD) et *Hermetia illucens* (HI)

Lenaïg Brulé¹ (lenaig.brule@inrae.fr), Camille Foltyn¹, Valérie Anthoine¹, Véronique Cariou², Pauline Kooh³, Michel Federighi¹, Géraldine Boué¹

¹ SECALIM, INRAE, ONIRIS, Nantes, France

² StatSC, ONIRIS, INRAE, Nantes, France

³ ANSES, Direction Evaluation des Risques, Maisons-Alfort, France

Introduction :

Les insectes sont une alternative prometteuse pour répondre à la demande croissante en nourriture tout en préservant l'environnement. Cependant, ces aliments considérés comme Novel foods dans l'UE [1] présentent un risque microbiologique encore peu étudié [2]. L'objectif de cette étude est d'établir le profil microbiologique de trois espèces d'insectes (TM, AD et HI), au regard des pathogènes majeurs et d'indicateurs bactériens utilisés en microbiologie des aliments. En complément, la variabilité des mesures en pathogènes et des indicateurs bactériens sera analysée sur la base de facteurs externes tels que le mode d'élevage ou le fournisseur.

Matériels et méthodes :

Pour chacune des trois espèces d'insectes, trois lots de production différents issus de trois fournisseurs ont été étudiés. Les échantillons analysés sont constitués de larves pour TM et HI et d'adultes pour AD. Les pathogènes majeurs en alimentation humaine ont été recherchés et les teneurs en flore mésophile totale, psychrotrophes, spores, entérobactéries, bactéries lactiques, levures/moisissures ont été quantifiées, selon les normes en vigueur. Afin d'évaluer la significativité des effets des différents facteurs de l'étude (espèce, éleveur, lot), un modèle mixte combinant effets fixes et aléatoires a été réalisé pour chacune des mesures à l'aide du logiciel StatGraphics.

Résultats et conclusions :

Bien que les trois espèces d'insectes montrent un niveau élevé de flore mésophile totale allant de 8,1 à 8,5 log CFU/g, aucun des pathogènes suivants n'a été détecté : *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Bacillus cereus*, *Cronobacter spp.* Les analyses statistiques mettent en évidence un profil similaire pour TM et AD contrairement à HI qui diffère avec un niveau plus élevé de bactéries formant des spores (7.19 log CFU/g contre 3,49 log CFU/g (TM) et 3,33 log CFU/g (AD)). De plus, l'espèce HI présente moins de psychrotrophes (4,85 log CFU/g) par rapport à TM (7.31 log CFU/g). Pour chaque espèce, des différences significatives entre fournisseurs sont observées pour la plupart des mesures en pathogènes et bactéries alors que les lots intra-fournisseur s'avèrent très homogènes.

Les résultats obtenus visent à renforcer les connaissances sur la qualité microbiologique de trois espèces d'insectes, afin de progresser sur leur évaluation des risques dans le cadre d'une introduction en alimentation humaine.

Mots clés : Risques microbiologiques - Insectes comestibles - Larves de vers de farine - Grillons domestiques - Larves de mouches noires du soldat.

Références :

1. EFSA 2015 Règlement (UE) 2015/2283 (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:32015R2283>)
2. Kooh P, Ververis E, Tesson V, Boué G, Federighi M. 2019. Entomophagy and Public Health: A Review of Microbiological Hazards. *Health*, 11, 1272-1290.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P07

Positive interactions between lactic acid bacteria promoted by nitrogen-based nutritional dependencies

Fanny Canon (fanny.canon@inrae.fr), Marie-Bernadette Maillard, Gwénaële Henry, Anne Thierry, Valérie Gagnaire

UMR STLO, INRAE, Institut Agro, Rennes, France

Lactic acid bacteria (LAB) interactions are often studied in association with yeasts or propionibacteria in various fermented food products and the mechanisms underlying their interactions are being quite well characterized. Concerning interactions between LAB, which are responsible for the sanitary, organoleptic, and health properties of most fermented products, they have mainly been investigated to test antagonistic interactions. Understanding how LAB can positively interact could be useful in multiple food-related fields, e. g. production of fermented food products with enhanced functional properties, or fermentation of new food matrices. Nutritional dependencies, especially those regarding nitrogen sources, govern numerous microbial positive interactions. As for LAB, such positive interactions have mainly been studied between yogurt bacteria. However, they have never been exploited to create artificial co-cultures of LAB that would not necessarily coexist naturally, *i.e* from different biotopes. The objective of this study was to promote LAB positive interactions based on nitrogen dependencies in co-cultures to increase acidification rates, carbohydrate consumption, and volatile compound production. The strategy was to exploit both proteolytic activities and amino acid auxotrophies of LAB.

A chemically defined medium was thus developed to specifically allow the growth of the six LAB strains chosen, three proteolytic and three non-proteolytic. Each of the proteolytic strains, *Enterococcus faecalis* CIRM-BIA2412, *Lactococcus lactis* NCDO2125, and CIRM-BIA244, was co-cultured with each one of the non-proteolytic LAB strains: *L. lactis* NCDO2111, *Lactiplantibacillus plantarum* CIRM-BIA465 and CIRM-BIA1524. Bacterial growth was monitored using compartmented chambers and compared in mono- and co-cultures. Acidification, carbohydrate consumption and volatile compound production were also investigated.

Each proteolytic strain induced different types of interactions: either strongly positive, weakly positive, or no interactions, with *E. faecalis* CIRM-BIA2412, *L. lactis* NCDO2125 and *L. lactis* CIRM-BIA244, respectively, regardless the non-proteolytic strain associated. Strong interactions were associated with higher concentrations in tryptophan, valine, phenylalanine, leucine, isoleucine, and peptides. They led to faster acidification rates, lower final pH, higher raffinose utilization, and higher concentrations in some volatile compounds.

Mots clés : Lactic acid bacteria - Positive interactions - Nutritional dependency - Functional outputs.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P08

Evaluation de la contamination des mollusques bivalves vivants et des produits de la pêche prélevés au stade de la distribution en France par des *Vibrio* potentiellement entéro-pathogènes

Stéphanie Copin¹ (stephanie.copin@anses.fr), Virginie Ragueneau¹, Graziella Midelet¹, Mélanie Gay¹, Antoine Véron², Candice Wacrenier², Dominique Hervio Heath³, Pascal Garry²

¹ LSAI, ANSES, Boulogne-sur-Mer, France

² Laboratoire de Microbiologie, LSEM/SG2M, Ifremer, Nantes, France

³ Laboratoire Adaptation, Reproduction et Nutrition des poissons, LARN/PFOM, Ifremer, Plouzané, France

Introduction et objectifs :

Les vibriens, bactéries de la famille des *Vibrionaceae*, sont présents naturellement dans les eaux côtières et estuariennes du monde entier et chez de nombreuses espèces de coquillages et de crustacés fréquemment consommés en France. Certaines espèces (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* et *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139) peuvent induire des phénomènes pathologiques chez l'Homme suite à la consommation de produits de la mer crus, insuffisamment cuits ou contaminés après cuisson. Le plan exploratoire mis en œuvre en 2019 par la Direction Générale de l'Alimentation du ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation avait pour objectif d'estimer la contamination de produits de la mer prélevés au stade de la distribution en France par ces trois espèces de *Vibrio* potentiellement entéro-pathogènes et par conséquent l'exposition potentielle des consommateurs.

Matériels et méthodes :

Des prélèvements de mollusques bivalves vivants (moules, huîtres) et de produits de la pêche (crustacés crus ou cuits) ont été réalisés au stade de la distribution. La répartition des échantillons dans les treize régions métropolitaines a été définie proportionnellement à la densité de population humaine présente dans chaque région. La contamination des échantillons par les trois *Vibrio* spp. potentiellement entéro-pathogènes a été déterminée selon la méthode décrite dans la norme ISO 21872-1:2017.

Résultats, discussion et conclusion :

Parmi les 92 échantillons de coquillages vivants et les 95 échantillons de produits de la pêche crus ou cuits analysés, seuls des produits crus (moules, huîtres (n=59) et crevettes (n=6)) étaient contaminés par *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et/ou *V. cholerae*. Des souches *V. parahaemolyticus* potentiellement entéro-pathogènes (présence de *tdh* et/ou *trh*) ont été isolées de moules (n=5) et d'huîtres (n=10). L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude exploratoire montre que l'état du produit (cru ou cuit) pourrait avoir un impact important sur la présence des *Vibrio* spp. potentiellement entéro-pathogènes. Dans le futur, il sera essentiel d'évaluer les niveaux de contamination de tels produits afin de mieux estimer le risque pour le consommateur.

Mots clés : *Vibrio* spp. entéro-pathogènes - Coquillages - Crustacés - Contamination - Distribution.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P09

Microbiologie des aliments

Performance de trois systèmes de PCR quantitative pour la recherche de *Vibrio parahaemolyticus*

Stéphanie Copin (stephanie.copin@anses.fr), Virginie Raguinet, Thomas Brauge, Graziella Midelet

LSAI, ANSES, Boulogne-sur-Mer, France

Introduction et objectifs :

Les bactéries du genre *Vibrio* sont présentes naturellement dans l'environnement aquatique. Certaines espèces (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* et *Vibrio cholerae*) sont potentiellement pathogènes pour l'homme. Lorsque les conditions de l'environnement sont défavorables, les *Vibrio* survivent en formant des biofilms. La mise au point d'une méthode de qPCR pour quantifier *V. parahaemolyticus* a été réalisée en tenant compte de l'état physiologique des cellules (mortes, viables non cultivables, viables cultivables). Pour ce faire, nous avons sélectionné 3 systèmes de qPCR dans la littérature scientifique ciblant 3 gènes spécifiques à *V. parahaemolyticus* : *toxR* codant pour un régulateur, R72h de fonction inconnue, et *t1h* codant pour l'hémolysine. Nous avons comparé les performances de chacune de ces trois qPCR.

Matériel et méthodes :

Les trois systèmes de qPCR Taqman issus de la littérature ont été optimisés pour la quantification de l'espèce *V. parahaemolyticus* avec pour cible : *toxR*, R72h et *t1h*. Les extractions d'ADN ont été réalisées à l'aide du kit DNeasy® Blood and Tissue (Qiagen). La mise au point des conditions optimales des qPCR pour quantifier *V. parahaemolyticus* a porté sur l'influence du mélange réactionnel (ou MasterMix) utilisé pour la réaction en utilisant l'appareil de qPCR LC480 (Roche). Une sélection de souches cibles et non cibles a été testée pour évaluer la spécificité et la sensibilité de chaque réaction de qPCR.

Résultats, discussion et conclusion :

L'analyse des résultats des différents essais de qPCR a permis d'obtenir une bonne efficacité et des courbes d'amplification ont été observées. Plus la concentration en ADN de *V. parahaemolyticus* était élevée, plus le signal de fluorescence est apparu précocement pour l'amplification des séquences des 3 gènes *toxR*, R72H et *t1h* étudiés. Une relation linéaire a été obtenue entre les valeurs de Cq et la quantité d'ADN présente. Des résultats similaires ont été obtenus pour les trois systèmes de qPCR testés en terme de spécificité et de sensibilité. La mise en œuvre de PCR quantitative permettra de quantifier *Vibrio parahaemolyticus* pour une meilleure évaluation de l'exposition potentielle des consommateurs.

Mots clés : *Vibrio parahaemolyticus* - qPCR - Quantification.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P10

L'utilisation de la digital droplet PCR comme outil de suivi des populations de lactocoques lors de procédés fermentaires

Marie-Line Daveran-Mingot¹ (daveran@insa-toulouse.fr), Marie-Aurore Caillaud¹, Martine Abeilhou¹, Ignacio Gonzalez¹, Marjorie Audonnet¹, Frédéric Gaucheron², Hélène Tormo³, Muriel Coccagn-Bousquet¹

¹ Toulouse Biotechnology Institute, Toulouse, France

² CNIEL, Paris, France

³ Ecole d'Ingénieurs de Purpan, Toulouse, France

Introduction et objectifs :

Le groupe « *Lactococcus lactis* » composé des espèces *lactis*, *cremoris* et du biovar diacetylactis, joue un rôle majeur dans les fermentations laitières. Ces populations rentrent dans la composition de starters puisqu'elles contribuent à l'acidification et à la signature aromatique grâce à la production de diacétyl. Leur suivi est particulièrement important lors de divers procédés fermentaires mais difficile car ces populations sont phylogénétiquement proches. La digital droplet PCR a été proposée comme outil particulièrement pertinent pour ce suivi.

Matériels et méthodes :

Les SNP spécifiques associés au gène *gadB*, codant la glutamate décarboxylase (1) et au gène *citD* codant la citrate lyase (2) ont été utilisés pour développer un test quantitatif permettant de tracer ces 3 populations dans un mélange. Un test en duplex a été réalisé permettant de connaître les proportions de chaque espèce et du biovar au sein du groupe « *lactis* ». La spécificité des sondes fluorescentes (Plac, Pcit, Pcre, Ptot) a été vérifiée et les limites de détection et quantification ont été calculées (3).

Résultats, discussion et conclusion :

Après avoir effectué les différentes étapes de validation, ce test a été utilisé dans un premier temps pour suivre ces 3 populations présentes dans un starter industriel lors de la production d'un lait fermenté à 22° ou 37°C. L'effet de la température sur les proportions de chaque population a pu être mis en évidence. Dans un deuxième temps, ce test a été utilisé pour suivre la dynamique de 3 souches de *lactis* au sein d'un consortium lors d'une évolution expérimentale en lait. Pour cela, des sondes spécifiques de souches ont été réalisées. Ces 2 exemples de suivi seront présentés. Ils permettent de proposer cette technique pour le suivi de sous populations ou même des souches dans des écosystèmes alimentaires

Mots clés : L. lactis - L. cremoris - Biovar diacetylactis - ddPCR.

Références :

1. Nomura M, Kobayashi M, Okamoto T. Rapid PCR-Based Method Which Can Determine Both Phenotype and Genotype of *Lactococcus lactis* Subspecies. *Appl Environ Microbiol.* 1 mai 2002;68(5):220913.
2. Torres Manno M, Zuljan F, Alarcón S, Esteban L, Blancato V, Espariz M, et al. Genetic and phenotypic features defining industrial relevant *Lactococcus lactis*, *L. cremoris* and *L. lactis* biovar. *diacetylactis* strains. *J Biotechnol.* 20 sept 2018;282:2531.
3. Caillaud M-A, Abeilhou M, Gonzalez I, Audonnet M, Gaucheron F, Coccagn-Bousquet M, et al. Precise Populations' Description in Dairy Ecosystems Using Digital Droplet PCR: The Case of *L. lactis* Group in Starters. *Front Microbiol.* 2020;11:1906.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P11

Adaptation de la mesure de vitalité des levures à la routine de production œnologique

Lina Dawod¹ (recherche@amarokbiotech.com), Charles Waffelaert², Vincent Genty³

¹ Amarok Biotechnologies, Saint-Malo, France

² Q-wine Bureau, Barcelone, Espagne

³ Amarok Biotechnologies, Saint-Malo, France

Introduction et objectifs :

Les techniques d'analyses de routines utilisées dans les chais se doivent d'être simples, peu coûteuses et rapides. Aujourd'hui, le suivi de la fermentation alcoolique est réalisé par un simple relevé de la densité.

L'utilisation d'une méthode prédictive permettant la caractérisation directe de l'état physiologique des levures en temps réel permettrait d'avoir un maximum d'informations extemporanées sur le déroulement de la fermentation permettant aux vinificateurs de l'optimiser et réagir au mieux.

Matériel et méthodes :

Le suivi des fermentations a été réalisé dans les chais sur plusieurs cuves présentant différentes conditions de fermentation. Un relevé classique de la densité a été quotidiennement réalisé et comparé à un suivi de la vitalité et de la viabilité par cytométrie en flux en utilisant la méthode Levia Test d'Amarok Biotechnologies. La méthode utilisée a été développée en tenant compte du phénomène d'auto-fluorescence induit par les levures dans certaines conditions de stress et par diverses molécules aromatiques du vin.

Résultats, discussion et conclusion :

La viabilité indique le potentiel d'une population à réaliser la fermentation. Elle permet de suivre précisément la concentration et l'adaptation des levures dans le milieu et de réagir rapidement si celle-ci n'est pas bonne. La vitalité, quant à elle, est un indicateur pertinent de l'état des levures. En effet, la vitalité permet de prédire directement l'adaptation métabolique et l'activité fermentaire des levures étudiées et donc la présence d'un retard ou un arrêt de la fermentation. Son suivi indique également lorsque la fin de la fermentation alcoolique est atteinte.

A l'inverse, la mesure de la densité permet seulement de suivre la dégradation des sucres et d'en déduire l'état des levures, à elle seule elle ne suffit pas à déterminer quel est le(s) problème(s) présent(s) dans la cuve. La cytométrie pourrait permettre aux vinificateurs de suivre et piloter au mieux cette étape afin de réagir préventivement en cas de problème. L'analyse par cytométrie de la viabilité couplée à la vitalité offre une compréhension et une évaluation de l'état physiologique des levures et donc de la fermentation en moins d'une heure.

Mots clés : Fermentation alcoolique - Oenologie - Cytométrie en flux - Vitalité - Levures.

Références :

1. Bouix M, Leveau J-Y. 2001. Rapid Assessment of Yeast Viability and Yeast Vitality During Alcoholic Fermentation. *Journal of the Institute of Brewing* 107: 217–225.
2. Petitgonnet C. 2019. Etude des interactions levure-levure en milieu fermentaire. [Thèse de doctorat _ Université de Bourgogne France Comté].

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P12

La cytométrie pour l'évaluation d'une nouvelle méthode de nettoyage des barriques par micro-ondes

Lina Dawod¹ (recherche@amarokbiotech.com), Charles Waffelaert², Bernardo Ausejo³, Vincent Genty¹

¹ Amarok Biotechnologies, Saint-Malo, France

² Q-wine Bureau, Barcelone, Espagne

³ Cleanwood Technology, Lanciego, Espagne

Introduction et objectifs :

L'élevage en barrique est régulièrement pratiqué pour le vieillissement et le développement des arômes du vin. Ces barriques évoluent avec leur contenu et sont utilisées sur plusieurs années pour des cuvées différentes. A ce moment elles peuvent devenir vectrice de contaminations notamment microbiologiques et doivent donc subir un nettoyage et une désinfection. L'usage de produits désinfectants n'étant pas souhaitable et très limité, certains germes ayant la capacité de s'enfoncer profondément dans le bois, il est fréquent de voir se développer des altérations dans les vieilles barriques.

Ici nous avons évalué l'utilisation d'une toute nouvelle méthode de décontamination par micro-ondes couplée à une analyse par cytométrie en flux pour mesurer l'efficacité du traitement pour éliminer les contaminants

Matériel et méthodes :

Deux protocoles de nettoyages ont été appliqués sur des séries de barriques :

Nettoyage classique : Lavage long à l'eau froide / Lavage long à l'eau chaude / Etuvage à la vapeur d'eau.

Nettoyage micro-ondes : Lavage court à l'eau froide / lavage court à l'eau chaude / traitement 3 minutes au micro-ondes sur barrique humide / rinçage

Dû à l'impossibilité d'obtenir des échantillons du bois de manière non destructive, 1 L d'eau distillée stérile a été introduit dans une barrique avant et après le passage aux microondes Cette eau a ensuite été récupérée et analysée par cytométrie en utilisant les méthodes Levia Test et TVO d'Amarok Biotechnologies.

Résultats, discussion et conclusion :

Après le passage de la barrique aux micro-ondes, une forte extraction de matière colorante a été constatée qui s'accompagne d'une forte extraction de particules contenant des levures. La quantité de micro-organismes libérés dans le milieu de rinçage est supérieure à celle du lavage classique et ils ont par ailleurs été tués par le traitement de façon plus efficace.

Le traitement aux micro-ondes est donc un traitement de régénération des barriques qui extrait tous les dépôts se logeant dans le bois, ainsi que les petites levures, notamment du type *Brettanomyces* qui sont si difficiles à éliminer par d'autres traitements.

Mots clés : Micro-ondes - Décontamination - Cytométrie en flux - Oenologie.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P13

Modélisation de l'impact d'un consortium microbien de fromages à pâte molle sur la croissance de *L. monocytogenes* et *E. coli* O157:H7

Catherine Denis¹ (c.denis@actalia.eu), Aurélie Hanin¹, Malvina Lefèvre¹, Laurent Guillier², Mickaël Desvaux³

¹ sécurité des aliments, ACTALIA, Saint-Lô, France

² laboratoire de sécurité sanitaire des aliments, Anses, Maisons-Alfort, France

³ UMR454 MEDIS (Microbiologie, Environnement Digestif, Santé), INRAe, Saint-Genès-Champagnelle, France

Introduction et objectifs :

Dans une matrice alimentaire, différents microenvironnements coexistent et se distinguent par leurs propriétés physico-chimiques et biochimiques et leurs communautés microbiennes endogènes. Cet environnement complexe impacte fortement le développement des bactéries pathogènes. Le projet ANR PathoFood cible la caractérisation de la croissance de *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* O157:H7 en présence d'un consortium microbien représentatif des fromages à pâte molle (bactéries lactique, d'affinage et levures) en vue d'en modéliser les effets.

Matériels et méthodes :

La croissance d'une souche de *L. monocytogenes* (EGDe) et d'*E. coli* O157:H7 (CM454) a été étudiée en culture pure et en co-culture avec un consortium microbien complexe représentatif des ferments utilisés en fabrication de fromages à pâte molle à croûte lavée ou fleurie, et en tenant compte de différents *ratio* de concentration initiale entre la bactérie pathogène et le consortium. La croissance a été étudiée dans des conditions de début d'affinage des fromages en milieu semi-gélosé à pH 5,5, avec 1% d'acide lactique et à 12°C.

Résultats, discussion et perspective :

Les paramètres de croissance, taux de croissance, temps de latence et taux maximal atteint N_{max} ont été déterminés. Les résultats montrent que la présence du consortium fromager module le N_{max} pour les deux pathogènes étudiés traduisant une compétition microbienne liée à un effet Jameson. Le modèle développé sera validé sur fromage.

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 INRA MEDIS

Mots clés : Microbiologie prévisionnelle - *Listeria* - *E. coli* - Fromage - Consortium microbien.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P14

Sève de bouleau fermentée : caractérisation de la dynamique microbienne en lien avec les changements physico-chimiques au cours de la fermentation

Marie-Hélène Desmonts (mh.desmonts@aerial-crt.com), Laura Febvay, Rodéric Gohier, Bernard Hezard, Lysiane Omhover-Fougy, Dalal Werner

Aerial, Illkirch, France

Introduction et objectifs :

La consommation de sève de bouleau naturellement lactofermentée est de plus en plus répandue. Cependant, il existe peu d'informations sur les écosystèmes bactériens impliqués dans la fermentation de la sève de bouleau. Afin de mieux maîtriser cette production, il est nécessaire de décrire le processus microbiologique en lien avec les modifications physico-chimiques inhérentes de fermentation naturelle de ce produit.

Matériel et méthodes, résultats et discussion :

Une campagne d'échantillonnage a été réalisée à partir de la récolte de sève de bouleau de mars 2021. A partir du même lot de sève récolté, deux fermentations ont été menées en parallèle pendant 4 mois selon deux profils thermiques différents (à 4°C et à température ambiante 20°C).

Les évolutions des grandes familles bactériennes (flore lactique, entérobactéries, levures et moisissures) ont été suivies tout au long de la fermentation par microbiologie culturale. Au cours de la fermentation à 4°C, la flore lactique est majoritaire, tandis qu'à température ambiante, les levures deviennent majoritaires après 2 mois de fermentation. Ces développements microbiens, en lien avec la baisse de pH, se font au détriment des Entérobactéries. La diversité microbienne, au cours des deux fermentations, sera plus précisément décrite par métagénomique 16S. Les outils analytiques mis en œuvre, en particulier la résonance magnétique nucléaire du proton (RMN 1H) et la chromatographie liquide couplée à un détecteur d'indice de réfraction (HPLC-RI) ont permis de suivre l'évolution des teneurs en sucres solubles et en acides organiques (lactique, acétique, succinique et formique) au cours de la fermentation. Une corrélation a pu être établie entre la diminution des teneurs en sucres solubles et l'augmentation de celles de divers acides organiques ainsi que d'éthanol. Enfin, les dégustations ont permis d'évaluer l'impact de la température de fermentation sur la qualité organoleptique de la sève de bouleau en particulier sur l'apparition de défauts sensoriels.

Conclusion :

Les trois approches mises en œuvre (microbiologie, physico-chimique et sensorielle) s'avèrent complémentaires pour mieux appréhender la fermentation naturelle de la sève de bouleau et optimiser le procédé de fabrication en fonction des paramètres environnementaux et par voie de conséquence maîtriser/améliorer la qualité organoleptique du produit.

Mots clés : Fermentation naturelle - Diversité microbienne - Boisson - Produit végétal.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P15

Altération des saucisses de porc et de volaille : corrélations entre sensoriel et volatilome

Marie-Hélène Desmonts¹ (mh.desmonts@aerial-crt.com), Ngoc-Du Martin Luong², Roderick Gohier¹, Sophie Gavignet¹, Adeline Rapin¹, Carole Feurer³, Bastien Frémaux³, Emeline Robieue³, Monique Zagorec², Sandrine Guillou², Dalal Werner¹

¹ Aerial, Illkirch, France

² SECALIM, INRAE Oniris, Nantes, France

³ IFIP, Le Rheu, France

Introduction et objectifs :

Caractériser l'altération de produits alimentaires hautement périssables comme les produits carnés est nécessaire dans un contexte de réduction voire de suppression de conservateurs. Il s'agit en effet à terme de connaître la dynamique des communautés bactériennes associées à l'altération afin d'en assurer son contrôle. Cette altération se définit par la qualité organoleptique (odeurs et couleurs) mais aussi par l'identification des métabolites volatiles, aromatiques ou non, produits par les microorganismes.

Matériels et méthodes :

Dans le cadre du projet ANR16-CE21-0006 REDLOSSES, l'altération de saucisses de volaille et de porc avec et sans lactate a été caractérisée tout au long du stockage sous trois atmosphères différentes (air, enrichie ou appauvrie en O₂) par suivi : i) de la couleur par chromamétrie ; ii) de l'odeur par un panel de 14 experts entraînés ayant défini 7 descripteurs olfactifs à noter et l'intensité globale de l'odeur d'altération ; et iii) des composés volatiles organiques (COV) par SPME-GC-MS. Toutes ces analyses ont été réalisées sur 10 lots de saucisses par type de viande en parallèle aux analyses microbiologiques classiques et séquençages d'amplicons 16S et gyrB non exposées ici.

Résultats, discussion et conclusion :

Les saucisses de volailles sont déclarées sensoriellement altérées plus précocement que les saucisses de porc tant au niveau couleur qu'odeur. L'impact du type d'atmosphère est prépondérant tant dans le déroulé que dans l'intensité de l'altération, de façon plus prégnante que la présence de lactate. Cet impact est retrouvé au niveau des COV tant dans leur diversité que leur intensité. Certains COV ont pu être corrélés aux descripteurs « rance », « éthérée », « fromage », ou « soufrée », d'autres étant plutôt liés à une évolution différente et indépendante de « fermenté ». Certains COV très présents dans les saucisses altérées présentent des spécificités selon la matrice (porc ou volaille) mais beaucoup sont de nature commune. Les altérations de couleur et odeurs et plus généralement les COV quantifiés pourront être expliquées par le métabolisme des microorganismes détectés.

Mots clés : Altération microbienne - Viande - COV - Analyse sensorielle.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P16

Chemometrics Tools for the non-Targeted Research of Microorganisms in Food Samples by Raman Spectroscopy

Omar Dib^{1,2} (omar.dib@univ-nantes.fr), Ali Assaf¹, Emilie Grange¹, Christophe Cordella², Gérald Thouand¹

¹ UMR CNRS GEPEA 6144, Université de Nantes, La Roche-sur-Yon, France

² UMR 914 PNCA, INRAE/AgroParisTech, Paris, France

Introduction and objectives:

Food safety is the foundation of trust for food stakeholders. Contamination, or in particular biological contamination, at food processing plants threatens this foundation, affecting consumer health and causing economic losses. Thus, a rapid, effective and non-invasive method for detecting bacteria is a necessity in the realm of the food industry. Our project aims to propose a new analytical approach to detect and identify microbial risks rapidly.

Materials and methods:

Herein, we propose using Raman micro-spectroscopy in combination with advanced statistical tools to detect and differentiate several types of bacteria, thus avoiding the complexity of traditional culture-based detection methods. In this study, more than 70 bacterial strains of 42 different genera were analyzed using Raman spectroscopy. As a result, about 12,000 Raman spectra were generated and integrated into the database. This massive load of spectra was analyzed using several chemometric tools such as principal component analysis (PCA), and k-nearest neighbors' algorithm (KNN).

Results, discussion and conclusion:

Multivariate data analysis proved the swiftness of the developed method and its ability to distinguish several strains. KNN models allowed a good bacterial classification on the species and genus level for most of the analyzed strains (average of correct classification 95%). Also, a graphical user interface (GUI) based on the latter model was developed. This GUI will handle all complex data analysis and will allow the user or the microbiologist to identify the bacteria from the spectra. The developed approach would make Raman spectroscopy a robust bacterial assessor that is simple, rapid, and efficient. Currently, work is fixated on improving the bacteria identification at the species level and evaluating the developed method on actual samples from the food industry.

Mots clés : Bacteria - Chemometric tools - Classification - Raman spectroscopy - Food industry.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P17

Positive interactions between lactic acid bacteria: from simplified medium to novel yoghurt-like productsCanon Fanny (fanny.canon@inrae.fr), Anne Thierry, Valérie Gagnaire

UMR STLO, INRAE, Institut Agro, Rennes, France

The adage « strength in numbers » also applies in food fermentations. The association of multiple lactic acid bacteria (LAB) strains are known to have beneficial outputs when it comes to taste, texture or even health benefits, and these enhanced outputs are likely subject to LAB interacting positively with one another. Finding ways to create new functional associations of LAB strains is challenging, especially in the context of food diversification. The objective was to evaluate if pairs of LAB strains, known to interact positively in a simplified medium, also exhibited different outputs compared to their monocultures in a yogurt-like product.

Yogurt-like media were prepared, mixing bovine milk and lupin proteins at two different ratio (50:50 and 67:33) and fermented with the strains *Lactococcus lactis* NCDO2125, *Enterococcus faecalis* CIRM-BIA2412 and *Lactiplantibacillus plantarum* CIRM-BIA1524 in monocultures, and the co-cultures of *L. plantarum* with *L. lactis* and *L. plantarum* with *E. faecalis*. Firmness, cohesiveness and adhesiveness were measured by penetrometry, and apparent viscosity was extracted from flow curves. Syneresis and water-holding capacity were measured using spillage and centrifugation methods. Volatile compounds were quantified using head space GC-MS and organic acids by HPLC. In addition, the yogurts made using the strains *L. lactis* and/or *L. plantarum* were sensorially evaluated using a sorting task.

Firmness, cohesiveness, viscosity, water-holding capacity, and organic acid concentrations increased when *L. plantarum* was co-cultured with *E. faecalis*, but they remained unchanged in co-culture with *L. lactis* for which the values were close to the *L. lactis* monoculture. Some volatile compounds increased in both co-cultures compared to the corresponding monocultures. However, the yoghurt-like products made were not sensorially distinguished based on the strain combinations, but on the protein ratio used. Protein ratio also had an impact on the instrumental texture. The results showed that intermediate outputs were obtained with co-cultures compared to the corresponding monocultures when each criterion was singled out. However, co-cultures exhibited more diverse functional outputs (texturing, production of additional flavour compounds) when the associated strains have distinct capacities.

Promoting positive interactions between LAB and protein composition offer interesting solutions to create new yoghurt-like products that include plant proteins.

Mots clés : Lactic acid bacteria - Fermented products - Food diversification - Yogurt-type - Interaction.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P18

Diversity of carbohydrate utilization and regulation in *Streptococcus thermophilus*

Cécile Gasser^{1,2} (cecile.gasser@inrae.fr), Jean-Michel Faurie², Françoise Rul¹

¹ Micalis Institute UMR 1319, Inrae, Jouy-en-Josas, France

² Danone Nutricia Research, Palaiseau, France

Lactic acid bacterium *Streptococcus thermophilus*, widely used in dairy industry, has evolved and adapted to the dairy environment through a very efficient utilization of lactose. This bacterium is also used in new fermented products, such as dairy matrices supplemented with sugar or in plant-based food, containing a variety of carbohydrates in mixes (including sucrose, glucose, fructose). The better characterization of *S. thermophilus* carbon metabolism (CM) and regulations involved in should allow to better control its metabolism in dairy or plant matrices.

We analyzed the genome of 39 strains and showed that the potential genes related to CM (30 identified) are highly conserved between strains, regarding organizations and sequences. The presence of a high number of pseudogenes indicated that this bacterium is probably able to ferment a restricted number of sugars (6). Dosages of carbohydrates (HPLC) during growth revealed that all strains consumed lactose (preferentially) and sucrose, in the presence of other carbohydrates or not, except for one strain which preferred sucrose. Glucose utilization varied between strains, being either a poor substrate for growth or a very efficient one (as lactose or sucrose). Few strains were able to utilize fructose and galactose as their sole carbon source. Overall, this study showed that *S. thermophilus* utilizes carbohydrates, alone or in mixtures, with different efficiency depending on the strains. Because of the absence of genetic diversity, the latter result indicates that a diversity of CM regulation could exist in *S. thermophilus*.

Regulation was thus studied by measuring the promoter activities of all the 10 CM operons - in presence of various sugars with different concentrations. Sucrose concentration did not influence promoter activities, whereas only low lactose concentrations (0,5% and 0,1%) led to their increase. On the contrary, in glucose, the activity of 5 promoters (*ccpA*, *fruRKA*, *lacSZ*, *scrA*, *yxfA*) was repressed in proportion to the importance of sugar concentration, suggesting an involvement of catabolic repression. Overall, these results showed that different schemes of regulation take place in *S. thermophilus* regarding the nature of sugar and possibly in a different way compared to other lactic acid bacteria.

Mots clés : Lactic acid bacteria - Carbon metabolism - Diversity - Regulation.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P19

Evaluation de l'impact des conditions de stockage sur la qualité de la viande de poulet par Spectroscopie RamanÉmilie Grangé (emilie.faury@univ-nantes.fr), Ali Assaf, Sullivan Jouanneau, Abdeljalil Lahmar, Gérald Thouand

GEPEA, UMR CNRS 6144, Université de Nantes, La Roche-sur-Yon, France

Introduction et objectifs :

On estime à 1,3 milliard de tonnes de nourriture perdue au cours de la chaîne de production. Par conséquent, l'UE s'est engagée à réduire de moitié le gaspillage alimentaire d'ici 2030 en se concentrant sur toutes les étapes de la chaîne d'approvisionnement. Notre étude propose l'intégration de la spectroscopie Raman, permettant d'obtenir une empreinte spectrale révélatrice de la composition moléculaire de l'échantillon analysé, et de l'intégrer dans un transport réfrigéré afin d'alerter sur d'éventuels problèmes de qualité et envisager une redistribution aux clients de proximité.

Matériels et méthodes :

Des tests préliminaires ont permis de déterminer les paramètres techniques d'analyse spectrale (λ : 785nm, P : 55mW, et temps d'acquisition : 1 s). En parallèle, une étude de la dispersion des spectres en fonction des zones analysées a été évaluée (3 morceaux de poulet x 50 spectres par jour). Afin de valider la méthode, des analyses physiques ont été réalisées en parallèle (pH, Température) et analyses microbiologiques (Flore totale et lactique). Une cinétique de 30 jours simulant la vie d'un échantillon, de la fabrication à la consommation a été réalisée. Le protocole inclut des variations de température avec simulation de la rupture de la chaîne du froid, et stockage dégradé à 8°C. Les 4500 spectres réalisés ont été explorés par des modèles statistiques comme l'analyse factorielle discriminante ou les analyses en composante principale.

Résultats, discussion et conclusion :

La comparaison entre les spectres Raman obtenus met en évidence la présence de nombreuses différences dans les bandes Raman et leurs intensités relatives (régions spectrales : 600-900cm⁻¹, 1300-1400cm⁻¹ et 1650cm⁻¹). L'analyse statistique des spectres met donc en évidence des marqueurs, témoins de l'évolution de l'échantillon et ainsi démontre la capacité de la spectroscopie Raman à identifier avec succès le jour de stockage avec une fiabilité supérieure à 95%.

D'autres matrices sensibles seront étudiées afin d'évaluer la robustesse de la technique. L'ultime étape étant l'intégration d'un capteur Raman directement dans un camion frigorifique et de le tester en conditions réelles.

Ce travail est financé par Interreg North-West Europe (2019-2022), projet REAMIT : www.reamit.eu

Mots clés : Spectroscopie Raman - Méthodes chimométriques - Poulet - Stockage.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P21

Salmonella en élevage de porcs : évaluation quantitative de la variabilité d'excrétion et état des lieux des sérovars présents et de leur résistance aux antibiotiques

Annaëlle Kerouanton¹ (annaëlle.kerouanton@anses.fr), Christelle Fablet², Arnaud Bridier³, Nicolas Rose², Martine Denis¹, Christophe Soumet³

¹ Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité HQPAP, Ploufragan, France

² Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité EPISABE, Ploufragan, France

³ Anses, Laboratoire de Fougères, Unité AB2R, Fougères, France

Salmonella occupe le 2ème rang des agents bactériens responsables de gastro-entérites dans l'Union Européenne et la viande de porc est incriminée dans 10-20% des salmonelloses humaines. Pour avoir une meilleure appréciation quantitative et une meilleure maîtrise de ce risque, il est nécessaire d'obtenir des données quantitatives sur *Salmonella* aux différents maillons de la filière porcine. L'Anses a mis en place un projet pour : 1) connaître le niveau d'excrétion de *Salmonella* par des porcs et sa variabilité inter-individuelle en conditions réelles; 2) d'identifier les sérovars en circulation, et obtenir leurs profils génotypiques et d'antibiorésistance.

Pour ce faire des prélèvements de fèces ont été réalisés dans 4 élevages, sur 3 bandes différentes de truies en lactation et 3 bandes distinctes de porcs en engraissement par élevage. A chaque visite, des fèces de 10 truies en maternité et de 20 porcs en fin d'engraissement ont été collectées pour la recherche et le dénombrement de *Salmonella*. Les souches de *Salmonella* isolées ont été sérotypées et caractérisées (génotype, résistance aux antibiotiques).

Sur 90 prélèvements de fèces de truies, aucun n'était positif à *Salmonella*. Pour les porcs charcutiers, 52 sur 240 étaient positifs (21,6%), avec une variation de 0 à 75% de porcs positifs selon les bandes. Sur les 52 prélèvements positifs, 44 étaient dénombrables, dont 63,5% avec des niveaux faibles, inférieurs à 10 NPP/g. Sept prélèvements contenaient plus de 100 NPP/g. Les 97 souches de *Salmonella* isolées étaient des sérovars S. Derby (8 souches) et variant monophasique de S. Typhimurium (VmST) (89 souches). Les S. Derby avaient toutes le même profil PFGE et la même double résistance aux antibiotiques (TSu). Les VmST se sont répartis en 6 profils PFGE, 2 en lien avec des souches pentarésistantes (ACTTmSu) et 4 avec des souches résistantes à 3 antibiotiques (ATSu).

Cette étude exploratoire a permis de recueillir pour la première fois en France des données de dénombrement de *Salmonella* chez le porc. Les données acquises sont importantes pour alimenter des modèles d'évaluation du risque et permettre *in fine* une meilleure maîtrise du risque associé à la contamination des aliments par *Salmonella*.

Mots clés : Salmonella - Elevage de porc - Niveau d'excretion - Sérovars - Antibiorésistance.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P22

Le cidre est une matrice délicate pour l'étude des bactériophages et des phageomes

Pierre Ledormand¹ (pierre.ledormand@unicaen.fr), Nathalie Desmasures¹, Céline Caillard¹, Erwan Renard¹, Didier Goux², Cédric Midoux^{3, 4, 5}, Olivier Rué^{3, 4}, Marion Dalmasso¹

¹ Normandie Univ, UNICAEN, UNIROUEN, ABTE, Caen, France

² Normandie Univ, UNICAEN, SF ICORE 4206, CMABio3, Caen, France

³ Université Paris-Saclay, INRAE, MaIAGE, Jouy-en-Josas, France

⁴ Université Paris-Saclay, INRAE, BioinfOmics, MIGALE Bioinformatics Facility, Jouy-en-Josas, France

⁵ Université Paris-Saclay, INRAE, PROSE, Antony, France

Introduction et objectifs :

Les données sur la diversité et le rôle des communautés de phages (phageomes) dans les aliments et boissons fermentés sont rares. Ceci est particulièrement vrai pour le cidre, une boisson alcoolisée obtenue à partir de la fermentation de jus de pomme par des levures et des bactéries lactiques, et présentant des conditions physico-chimiques difficiles (faible pH, éthanol, sulfites, polyphénols). Ce travail avait pour objectif de décrire la diversité des phageomes dans le cidre.

Matériels et méthodes :

La diversité du phageome lytique a été étudiée en recherchant dans 120 échantillons de cidre des phages ciblant 150 souches de bactéries lactiques du cidre. Ceci a été couplé à une approche métagénomique du phageome lytique d'échantillons de cidre. Plusieurs méthodes de concentration des phages lytiques et d'extraction de l'ADN viral ont été testées (filtration tangentielle, floculation, etc.). La diversité du phageome tempéré (prophages) a également été explorée avec une étude métagénomique par séquençage shotgun dans les communautés bactériennes des échantillons de cidre de deux producteurs au cours du procédé de fermentation.

Résultats, discussion et conclusion :

Malgré les différentes méthodes testées, la diversité et la présence d'un phageome lytique dans le cidre semblent très faibles, car seul le phage lytique UCMA 21115 (*Siphoviridae*) a été isolé des 120 échantillons de cidre. Il ciblait la souche *Liquorilactobacillus mali* UCMA 16447 et a été caractérisé. Les différentes méthodes utilisées pour extraire l'ADN du phageome lytique ont échoué, confirmant vraisemblablement la faible présence de phages lytiques dans ce type de fermentées. Le phageome tempéré semblait également pauvre dans cette matrice comme l'a révélé la recherche de prophages par métagénomique. L'acquisition de connaissances sur les phageomes lytiques et tempérés dans les aliments et boissons fermentées est néanmoins cruciale en terme d'écologie microbienne ainsi que pour une meilleure compréhension des processus de fermentation.

Mots clés : Communautés de phages - Boissons fermentées - Cidre.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P23

Microflora variability among grape must in Languedoc: the case of two grape varieties during two years

Jean-Luc Legras^{1, 2, 3} (jean-luc.legras@inrae.fr), Florence Valence^{4, 5}, Victoria Chuat⁴, Marie Noëlle Madec⁴, Cécile Grondin^{1, 2, 3}, Coralie Maris^{6, 7, 8}, Serge Casaregola^{10, 11, 9}, Cécile Neuvéglise^{12, 13, 14}, Olivier Rué^{15, 16}

¹ SPO, CIRM-Levures, Univ Montpellier, Montpellier, France

² SPO, CIRM-Levures, INRAe, Montpellier, France

³ SPO, CIRM-Levures, Institut Agro, Montpellier, France

⁴ UMR1253 STLO, CIRM-BIA, INRAe, Rennes, France

⁵ UMR1253 STLO, CIRM-BIA, Institut Agro, Rennes, France

⁶ IRHS, Univ Angers, Angers, France

⁷ IRHS, INRAe, Angers, France

⁸ IRHS, Institut Agro, Angers, France

⁹ Micalis Institute, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, France

¹⁰ Micalis Institute, INRAe, Jouy-en-Josas, France

¹¹ Micalis Institute, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

¹² SPO, ADEL, Univ Montpellier, Montpellier, France

¹³ SPO, ADEL, INRAe, Montpellier, France

¹⁴ SPO, ADEL, Institut Agro, Montpellier, France

¹⁵ MaIAGE BioinfOmics MIGALE bioinformatics facility, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, France

¹⁶ MaIAGE BioinfOmics MIGALE bioinformatics facility, INRAe, Jouy-en-Josas, France

Introduction and objective:

The wine fermentation ecosystem is very likely one of the most explored microbial ecosystem since the pioneer work of Pasteur. Microbiology has considerably evolved since these ancient, and recent metabarcoding based studies have renewed the knowledge on this microbiote. However, very few studies combine metabarcoding analyses to culture-based making as well these microbial genetic resources available. In addition, many recent works suggested that the non-Saccharomyces component of grape must microflora impacts wine quality. In this context, we undertook the characterization of two grape must varieties by combining metabarcoding analyses and cultural approach on two subsequent years.

Material and methods:

We analysed by metabarcoding analysis (amplification and sequencing of the V4 region for bacteria, and of the ITS1 regions for fungi) microbial fraction of grape must microbiote. A total of 20 samples of two grape varieties, Sauvignon Blanc and Viognier were collected in South of France located close to Montpellier and Narbonne in 2015 and 2016 from 11 and 9 sites respectively. These samples were analyzed in parallel by culture-based approach with numeration of bacteria and yeast with selected medium and subsequent isolation and identification of microorganisms of interest.

Results and discussion:

In this work, metabarcoding analysis showed the clear impact of millésime on both yeast and bacteria composition of grape must. We could not evidence a global regional factor from the grape must microflora. The culture-based approach did not enable us to highlight the influence of the different factors on the microflora, by the way it confirmed the prevalence of ubiquitous of grape must species such as *Lactobacillus plantarum* and *Kozakia baliensis* for bacteria or *Hanseniaspora uvarum* for yeast. Moreover it leads us to constitute a free access reference collections for bacteria and yeasts associated to grape must for more insightful studies. Strains are currently available at INRAE BRCs CIRM-BIA (<https://collection-cirmbia.fr/>) and CIRM-Levure (<https://cirm-levures.bio-aware.com/>) respectively.

Mots clés : Grape must - Yeast - Bacteria - Metabarcoding.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P24

Impact of the degree of ovotransferrin iron saturation on the growth of *Salmonella* Enteritidis in egg white

Julie Legros^{1,2} (julie.legros@agrocampus-ouest.fr), Louis Julien^{1,2}, Sophie Jan¹, Sylvie Bonnassie³, Michel Gautier¹, Simon Andrews², Florence Baron¹

¹ STLO, Institut Agro - Agrocampus-Ouest, Rennes, France

² School of Biological Sciences, Health and Life Sciences, University of Reading, Reading, Royaume-Uni

³ UFR Sciences de la vie et de l'environnement, Université de Rennes 1, Rennes, France

Introduction and objectives:

Eggs are the food most implicated in food-borne infectious diseases. The most common pathogen responsible for these infections is *Salmonella* Enteritidis, due, in part at least, to its resistance to the powerful antimicrobial activities of egg white (1). Bacterial growth in egg white is greatly restricted by the iron-chelating properties of ovotransferrin. However, egg white contains significant levels of iron (3.6 to 18 μ M) but since ovotransferrin is present in excess it remains only 1.07 to 5.4 % iron-saturated (2). This suggests that there is virtually no free iron in egg white. Under iron restricting conditions, *S. Enteritidis* can synthesise siderophores that can sequester iron from the host environment (3). It remains unclear how *S. Enteritidis* is able to counter the iron restriction imposed by egg white and the role that its siderophores play in this capacity.

Materials and methods:

The *S. Enteritidis* NCTC13349 and PT4-P125109 Δ entB strains were used for these experiments. The Δ entB mutant no produces siderophores (4). Several media were used: egg white (EW); EW filtrate (EWF), corresponding to the egg white permeate obtained by EW ultrafiltration (10 kDa cut-off); EW at 10 % in EWF (EW10%); and ovotransferrin at 1.3 g/L in EWF (OT10%). Ferric citrate was added to obtain 0 to 110 % ovotransferrin saturation. Media were inoculated by each strain (inoculum of 5 log CFU/mL). After 24h incubation at 30°C, bacterial cell enumeration was carried-out using a miniaturised plate-counting method with a tryptone soy agar (TSA) overlay procedure (5).

Results, discussion and conclusion:

Ovotransferrin imposed iron deficiency in egg white, leading to limited growth of *S. Enteritidis*. This phenomenon was partially reversed by addition of iron at concentrations exceeding the theoretical iron saturation capacity of ovotransferrin. Surprisingly, lack of siderophore synthesis capacity reduced *S. Enteritidis* growth in EW, but not in EW10% or OT10%, but this only occurred when iron was added at concentrations above the theoretical ovotransferrin saturating concentration. In conclusion, these results suggest that siderophores only support growth of *S. Enteritidis* in EW when excess iron is provided.

Mots clés : Ovotransferrin - Egg-white - *Salmonella* Enteritidis - Iron.

Références :

1. EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards). Scientific Opinion on the public health risks of table eggs due to deterioration and development of pathogens, 2014. EFSA J. 2014;12(7):3782.
2. Legros J, Jan S, Bonnassie S, Gautier M, Croguennec T, Pezennec S, et al. The Role of Ovotransferrin in Egg-White Antimicrobial Activity: A Review. Foods. 2021;10(4):823.
3. Andrews SC, Robinson AK, Rodriguez-Quinones F. Bacterial iron homeostasis. FEMS Microbiol Rev. 2003;27(23):21537.
4. Julien LA, Baron F, Bonnassie S, Nau F, Guérin-Dubiard C, Jan S, et al. The anti-bacterial iron-restriction defence mechanisms of egg white; the potential role of three lipocalin-like proteins in resistance against *Salmonella*. Biometals. 2019;32(3):45367.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P25

Development of a Rapid Real-Time PCR Method to Quantify Lactic Acid Bacteria in Cold-Smoked Salmon

Marc Jérôme (marc.jerome@ifremer.fr), Delphine Passerini, Frédérique Gigout, Laetitia Marchand, Françoise Leroi, Sabrina Macé

BRM, EM3B Lab, IFREMER, Nantes, France

Introduction and objectives:

Quantification of lactic acid bacteria (LAB) is essential to control quality of seafood products as cold-smoked salmon (CSS) and enhanced research for biopreservation of food with selected LAB strains. In the present study, we report the design and optimization of a dual-labelled TaqMan™ probe targeting the V7 region of 16S rRNA gene for the detection of LAB in CSS. This quantitative PCR (qPCR) assays will be used for the simultaneous detection of ten LAB genera communally encountered in CSS as *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Macrocooccus*, *Streptococcus*, *Vagococcus* and *Weissella*.

Materials and methods:

A pair of primers previously described by Kärkkäinen *et al.* (2010) was slightly modified to be used with a new dual-labeled TaqMan probe specially designed for this study. The specificity of this method was demonstrated against 14 genera (44 isolates, 35 species) of Gram-positive bacteria, including LAB (10 genera, 31 species), and 19 genera of Gram-negative (40 isolates, 34 species). Calibration of the method was performed in CSS matrix using a mix of equimolar cultured solution of five LAB genera. To validate the qPCR method on naturally contaminated CSS, total LAB were quantify, using plate counting on Elliker agar under anaerobic condition and this new qPCR method, on 45 commercial CSS products from different origins: organic smoked *Salmo salar* from Ireland, wild smoked Pacific *Oncorhynchus nerka* from Alaska, wild smoked Pacific *Oncorhynchus keta*, farmed smoked Atlantic *Salmo salar* from Norway and farmed smoked Atlantic *Salmo salar* from Scotland.

Results, discussion and conclusion:

The probe developed was specific to the LAB tested. Quantification with the qPCR method range from 3.5 to 8.5 Log CFU/g in CSS artificially contaminated matrix. qPCR results correlated successfully ($R^2 = 0.9945$) with the conventional enumeration method on Elliker medium. In addition, the new method performed successfully on commercial CSS from five different origins with a quantification range from 3.7 Log CFU/g to 8.0 Log CFU/g ($R^2 = 0.940$). This one-step quantitative methodology is proposed as a rapid and complementary tool to the cultural method to investigate the LAB microbiota and biodiversity of CSS.

Mots clés : Lactic acid bacteria - Seafood - Quantitative PCR - TaqMan™ probe.

Références :

1. Kärkkäinen, P.M., Valkonen, M., Hyvärinen, A., Nevalainen, A., Rintala, H., 2010. Determination of bacterial load in house dust using qPCR, chemical markers and culture. *J. Environ. Monit.* 12, 759–768. <https://doi.org/10.1039/B917937B>

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P26

EUROpanel OH: Construction of a catalogue of food-borne pathogenic bacterial strains that can be used as reference materials in the European Union

Michel-Yves Mistou¹ (michel-yves.mistou@inrae.fr), Olivier Chesneau², Forum Schah³, Valeria Michelacci⁴, Anne Brisabois⁵

¹ MaIAGE, INRAE, Jouy-en-Josas, France

² CIP, Institut Pasteur, Paris, France

³ MaIAGE, INRAE, Jouy-en-Josas, France

⁴ EURL *E. coli*, ISS, Rome, Italie

⁵ Direction des Laboratoires, ANSES, Maisons-Alfort, France

Introduction:

Microbiological Reference materials (RM) are microbial strains, that can be used to verify the quality and accuracy of microbiological methods. To be considered as standard, RM must meet a set of quality criteria, associated metadata, phenotypic, and genomic information. They are greatly needed in clinical, food and veterinary laboratories for quality control or validation of new methods and globally for the assessment of the quality and reliability of the data produced in food safety and public health sectors. The aim of this work, which is part of the activities of the CARE a project of the One Health European Joint Programme (OH-EJP, H2020), is to create a collection of RMs named "EUROpanelOH".

Methods:

A list of nine prioritized zoonotic and pathogenic bacterial species: *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, *Diarrheagenic E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Bacillus cereus*, *Vibrio*, and *Yersinia enterocolitica* was defined. An inventory of strains meeting RM criteria was carried out among the bacterial collections of the CARE consortium.

Results:

A total of 2719 bacterial strains from 12 Institutes were collected from Human, Animal, Food, and environmental sectors. An objective of CARE is to associate WGS and phenotyping data to the whole set of RMs. The construction of a sustainable and scalable database associated to a web portal is ongoing. The physical collection of RMs will be maintained, stored and made accessible under certified quality standards in three Biological Reference Centres (BRC). The web portal will make the RM collection visible and accessible and will provide functionalities to order the RMs.

Conclusions:

Implementation of EUROpanelOH results from harmonized efforts made by different European laboratories with deep technical and biological expertise. The CARE catalog of foodborne bacterial pathogens RMs is an original initiative in the field of microbiological food-safety that will provide an efficient benchmarking tool useful for rapid and accurate referencing in cross-sectoral microbiological analysis, PTs implementation as well as for international collaborations.

The CARE project is supported by funding from the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation programme under grant agreement No 773830: One Health European Joint Programme.

Mots clés : Microbiological Reference materials - Food safety - Foodborne pathogens - Metadata - Proficiency testing.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P27

***Listeria monocytogenes* exposed to stressful conditions: what impacts on its physiological state and what consequences of these states on the growth of the pathogen?**

Lysiane Omhover-Fougy (l.omhover@aerial-crt.com), Adrienne Lintz, Bernard Hezard, Valérie Stahl

Aerial, Illkirch, France

Controlling the risk of a contamination by *Listeria monocytogenes* in food requires a better understanding of the physiological state of the pathogen in response to initial environmental conditions. Thus, the objective of this study were (1) to describe the impact of various stresses on the physiological state of *Listeria monocytogenes* and (2) to characterize the consequences of these stressful conditions on the growth of the pathogen.

Disinfectant, cold and osmotic stresses were applied on cultures of one strain of *Listeria monocytogenes* 352. After application, the growth of cells was monitored in tryptone soy broth at 25°C. The cultivability assessment after stresses and during the growth was performed in tryptone soy agar. Cell viability and membrane integrity were evaluated by flow cytometry (Sysmex, Cube6) with carboxyfluorescein diacetate and propidium iodure dual-staining. For non-stressed cells, the levels of population of *Listeria monocytogenes* is $9.0 \pm 0.4 \log_{10} \text{cfu.ml}^{-1}$. After the disinfectant and the osmotic stresses, the cultivability of *Listeria monocytogenes* is variably impacted with respectively 8.7 ± 0.8 and $8.2 \pm 0.1 \log_{10} \text{cfu.ml}^{-1}$. Freezing of cells results in a loss of cultivable population of more than $5 \log_{10} \text{cfu.ml}^{-1}$. However, the three stresses lead to an alteration, variable according to the type of stress, of the physiological state. The cells retain an esterase activity demonstrating their viability, but their membrane wall is affected since the red fluorescence linked to propidium iodure is detected by flow cytometry. The application of stress leads to an adaptation of the cells to the new environment (tryptone soy broth at 25°C), resulting in an increase of the lag time of the stressed population compared to the unstressed population. However, the various initial physiological states of the pathogen do not affect the maximum population rate obtained under optimal growth conditions.

Mots clés : *Listeria monocytogenes* - Environmental stresses - Physiological states.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P28

Un outil statistique pour mieux anticiper les contaminations microbiologiques des coquillages liées à la pluviométrie

Jean-Come Piquet¹ (jean.come.piquet@ifremer.fr), Sophie Rocq¹, Mélanie Brun²

¹ LSEM, Ifremer, Nantes, France

² VIGIES, Ifremer, Nantes, France

Introduction et objectifs :

Le milieu littoral peut être contaminé par des microorganismes potentiellement pathogènes et qui peuvent être bio-accumulés par les coquillages bivalves filtreurs. Depuis 1939, il existe en France une obligation de classement des zones de production de coquillages, en fonction des niveaux de contamination microbiologique. Aujourd'hui, ces zones sont classées en trois niveaux différents (A, B et C), selon les résultats du réseau de contrôle microbiologique des zones de production conchylicoles (REMI).

Les cumuls pluviométriques peuvent être un facteur de risque de contamination des zones conchylicoles (dysfonctionnements des réseaux d'assainissement, augmentation des débits des cours d'eau, ruissellement). Ce lien entre contamination des zones conchylicoles et pluviométrie n'est pas systématique, et très dépendant des caractéristiques propres à chaque bassin versant. Dans ce cadre, un outil, basé sur les statistiques Bayésiennes, a été développé dans l'objectif d'identifier les lieux sensibles à la pluviométrie, de déterminer des seuils d'alerte pluviométrique et d'améliorer la surveillance événementielle du REMI.

Matériel et méthodes :

L'outil est basé sur l'analyse rétrospective des concentrations en *Escherichia coli* dans les coquillages et de la pluviométrie journalière. Chaque lieu de surveillance REMI a été associé à une ou deux station(s) météorologique(s) représentative(s) de la pluviométrie locale. Pour chacun des 397 lieux REMI, 36 modèles ont été testés : neuf durées de cumul de pluie, deux types de transformation des données microbiologiques et deux périodes de données (2004-2018 et 2013-2018). Le modèle le plus pertinent a été sélectionné et a permis d'évaluer la sensibilité des lieux à la pluviométrie, ainsi que les probabilités de dépassement des seuils d'alerte en fonction de la pluviométrie.

Résultats, discussion, conclusion :

L'outil permet désormais de définir des seuils d'alerte pluviométrique pour la surveillance microbiologique des zones conchylicoles. Les lieux sensibles à la pluviométrie ont été identifiés et pour ces lieux, les observations pluviométriques des jours précédents permettent désormais d'évaluer les risques de dépassements des seuils d'alerte du REMI. Il devient également envisageable d'utiliser les prédictions de pluviométrie pour anticiper les risques de contamination des coquillages dans les jours à venir. D'autres variables explicatives (saisonnalité, débit des fleuves) pourraient permettre d'optimiser ce modèle.

Mots clés : Escherichia coli - Coquillages - Pluviométrie - Statistiques bayésiennes - REMI.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P30

***Streptococcus thermophilus* in soya milk: growth and metabolic activity**

Françoise Rul (francoise.rul@inrae.fr), Maher Al Haddad, Mylène Boulay

Micalis - AgroParisTech- UPSay, INRAE, Jouy-en-Josas, France

Introduction and objectives:

Fermented plant-based food is booming in our diet and soya products fermented by lactic acid bacteria (LAB) are appealing because of their potential health and nutritional benefits. Whereas the physiology of one of the main starters *Streptococcus thermophilus* is well characterized in dairy matrices, its behaviour, metabolic activities and techno-functional properties are less documented in soya. Here, we characterized the growth of *S. thermophilus* in soya milk, identified the carbon source it uses and explore its global metabolism, with a focus on nitrogen metabolism.

Materials and methods:

S. thermophilus LMD-9 growth, sugar utilization and lactic acid production (HPLC) in soya milk (Sojasun containing calcium and vitamin D; Triballat-Noyal) and cow milk were evaluated. The main metabolic pathways present were identified using a proteomic approach (LC-MS/MS) performed on cytosolic and cell envelope-associated bacterial proteins. A LMD-9 deletion mutant was constructed by interrupting the protease *prtS* gene (STER_RS04165) with an erythromycin resistance cassette. Soluble supernatant proteins of the cultures were analysed by SDS-PAGE.

Results, discussion and conclusion:

S. thermophilus LMD-9 soya milk fermentation led to a decreased of pH from 7.5 to 4.9 in 5 h; this acidification resulted from lactate production which increased with population size (1.0×10^9 CFU/ml). Of note, the levels of soya milk acidification were comparable to those of cow milk fermented by this bacterium. As growth proceeded, sucrose was consumed and fructose was produced. 328 bacterial proteins were identified by proteomics; the majority was associated with amino acid transport and nitrogen metabolism (19.2% of total proteins), in particular the cell-wall protease PrtS. Acidification, growth rate, final population and soya milk protein hydrolysis were lower in $\Delta prtS$ strain soya milk cultures compared to wild-type (*wt*) cultures. This suggests that the protease PrtS is involved in *S. thermophilus* soya milk growth, as it is in cow milk. Overall, our results give clues on how *S. thermophilus* behaves in soya milk that could help to develop new fermented plant-based foods with particular properties.

We thank Olga Triballat Institute for its financial support.

Mots clés : Lactic acid bacteria - Plant-based food - Proteolysis.

Références :

1. Boulay M., Al Haddad M, Rul F. 2020. *Streptococcus thermophilus* growth in soya milk: Sucrose consumption, nitrogen metabolism, soya protein hydrolysis and role of the cell-wall protease PrtS. International Journal of Food Microbiology, 335, doi :10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108903.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P31

Suivi de l'accumulation et la dépuración de souches de *Vibrio parahaemolyticus* chez l'huître creuse (*Crassostrea gigas*) par cytométrie en flux

Marion Sorée¹ (Marion.Soree@ifremer.fr), Francois Delavat², Christophe Lambert³, Mathias Papin⁴, Bruno Petton⁵, Lionel Dégremont⁶, Virginie Le Razavet⁴, Delphine Passerini⁷, Christophe Stavrakakis⁴, Dominique Hervio Heath⁵

¹ RBE/SGMM/LSEM, IFREMER, Plouzané, France

² UMR 6286 UFIP, Université de Nantes, Nantes, France

³ UMR 6539 LEMAR, Université de Brest, Plouzané, France

⁴ RBE/SGMM/PMMB, IFREMER, Bouin, France

⁵ UMR 6539 LEMAR, IFREMER, Plouzané, France

⁶ RBE/SGMM/LGPMM, IFREMER, La Tremblade, France

⁷ RBE/BRM/LEM3B, IFREMER, Nantes, France

Introduction et objectifs :

Vibrio parahaemolyticus (*Vp*) est la principale cause d'infections bactériennes associées à la consommation de fruits de mer crus ou insuffisamment cuits. La virulence de *Vp* chez l'Homme est en partie expliquée par la présence d'hémolysines (TDH et TRH) ainsi que d'un système de sécrétion de type III (T3SS-2). Le vecteur principalement impliqué dans ces toxi-infections alimentaires est l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, qui possède une capacité de filtration lui permettant d'accumuler, entre autres, les micro-organismes présents dans l'eau de mer. La dépuración est une étape qui permet de purifier les tissus de l'huître et d'assurer une qualité sanitaire du produit.

L'objectif de ce projet est double : i/ développer une technique permettant de suivre chez l'huître une souche précise de *Vp* en laboratoire et ii/ étudier l'accumulation et la dépuración de différentes souches de *Vp* chez l'huître par cette technique.

Matériels et méthodes :

Quatre souches de *Vp* présentant des profils géniques différents ont été utilisées pour ces travaux. Ces souches ont été électroporées grâce à un protocole adapté pour les bactéries marines afin d'exprimer la Green Fluorescent Protein (GFP). Cette caractéristique permet de différencier les *Vp* naturellement et artificiellement présents chez l'huître. La technique de cytométrie en flux a été mise en place pour la quantification des *Vp-gfp*⁺ dans l'hémolymphe (équivalent du sang) chez l'huître.

Des expérimentations d'infection par balnéation avec des souches de *Vp-gfp*⁺ ont été réalisées chez deux types d'huîtres: des huîtres standardisées et produites dans des conditions contrôlées (NSI pour « Naissain Standardisé Ifremer ») et des huîtres sauvages prélevées de l'environnement marin.

Résultats, discussion et conclusion :

L'accumulation des *Vp-gfp*⁺ chez les huîtres NSI ne varie pas en fonction des souches contrairement aux huîtres sauvages. La dépuración des *Vp-gfp*⁺ chez les huîtres NSI varie en fonction des souches alors que les huîtres sauvages dépurent les 4 souches de la même manière.

Les huîtres NSI et les huîtres sauvages semblent interagir différemment face à une exposition à *Vp*. Des souches *Vp* génétiquement différentes interagissent différemment au sein de l'huître. Ces travaux ouvrent la voie vers l'étude de l'interaction *Vp*-huîtres qui est à ce jour très peu caractérisée.

Mots clés : *Vibrio parahaemolyticus* - Huître creuse - GFP - Cytométrie en flux.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P32

The type VII secretion system and LXG proteins of *Lactococcus piscium* suggest a role in interbacterial antagonism requiring cell-to-cell contact

Raouf Tareb (raouf.tareb@oniris-nantes.fr), Sandrine Rezé, Marie-France Pilet

UMR1014 SECALIM, Oniris, INRA, Nantes, France

Lactococcus piscium is a psychrotrophic lactic acid bacterium isolated from various food: meat, seafood, and vegetables, mostly packed under vacuum or modified atmosphere and stored at a chilled temperature. In various seafood, some strains have a protective effect against spoilage and can extend the sensory shelf-life of the products. They can also inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* upon direct cell-cell contact (1). However, the molecular mechanism of the interbacterial antagonism used by *L. piscium* has not been elucidated. In general, lactic acid bacteria employ a wide range of pathways to inhibit the growth of their microbial competitors. Some of these pathways, such as those that produce bacteriocins, exert toxicity on nearby cells in a cell contact-independent manner. However, the interbacterial antagonism requiring cell-to-cell contact is mediated by antibacterial protein toxins whose delivery to target bacteria uses protein secretion apparatuses embedded within the cell envelope of toxin-producing bacteria (2). In the present study, we sought to identify the effectors potentially implicated in this kind of interaction. Here, the genome sequence analysis of 8 diverse strains of *L. piscium* and their genomic comparison enabled us to highlight the presence of Type VII Secretion System (T7SS) components. The T7SS locus of *L. piscium* exhibits modularity and organizational variation across the species. Five variants of T7SS locus were identified containing variable *essC* genes, each associated with a specific group of downstream genes (substrate and accessory proteins). Furthermore, among the *L. piscium* strains used in this work, we identified 42 LXG domain-containing proteins, most of which are encoded at conserved genomic loci. These loci also harbor genes encoding putative immunity proteins. The LXG polymorphic toxins, broadly distributed in Firmicutes, were recently shown to be Esx clients. In Firmicutes bacteria, the T7SS was shown to deliver LXG or non-LXG toxins to target cells of diverse Gram-positive species and mediate interbacterial competition (2–4). Our results suggest that the T7SS and LXG proteins play an essential role in bacterial antagonism in this Lactic acid bacteria species, and *further* experimental investigations are needed to confirm these findings.

Mots clés : Lactic acid bacteria - Contact-Dependent Interbacterial Antagonism - Type VII Secretion System - LXG proteins.

Références :

1. Saraoui T, Leroi F, Björkroth J, Pilet MF. *Lactococcus piscium*: a psychrotrophic lactic acid bacterium with bioprotective or spoilage activity in food—a review [Internet]. Vol. 121, *Journal of Applied Microbiology*. Blackwell Publishing Ltd; 2016 [cited 2021 Jun 23]. p. 907–18. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov
2. García-Bayona L, Comstock LE. Bacterial antagonism in host-associated microbial communities. Vol. 361, *Science*. American Association for the Advancement of Science; 2018.
3. Klein TA, Ahmad S, Whitney JC. Contact-Dependent Interbacterial Antagonism Mediated by Protein Secretion Machines. Vol. 28, *Trends in Microbiology*. Elsevier Ltd; 2020. p. 387–400.
4. Jamet A, Charbit A, Nassif X. Antibacterial Toxins: Gram-Positive Bacteria Strike Back! *Trends Microbiol* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2019 Dec 16];26(2):89–91. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X17302524?via%3Dihub>.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P33

Analyse des communautés bactériennes et des mycotoxines dans des laits de chamelle provenant d'Espagne et de France

Corinne Teyssier¹ (corinne.teyssier@umontpellier.fr), Shannon Alary¹, Camila Weil-Parodi¹, Benjamin Guibert², Charlie Poss², Noël Durand², Vincent Chochois², Didier Montet²

¹ UMR 95 Qualisud, Université de Montpellier, Montpellier, France

² UMR 95 Qualisud, CIRAD, Montpellier, France

Introduction et objectifs :

Le lait de chamelle est considéré comme l'aliment de base dans la plupart des zones pastorales désertiques notamment en Afrique. Au niveau mondial, l'élevage camelin joue encore un rôle très marginal. En Espagne et en France, quelques élevages existent en particulier à visée touristique mais avec une volonté de commercialiser le lait cru. Le lait de chamelle présente de nombreux avantages par rapport au lait de vache : riche en minéraux, en vitamine C ; il contient moins d'allergènes. Les préoccupations en matière de sécurité sanitaire des aliments restent une des contraintes majeures concernant la commercialisation du lait cru en Europe. En plus du risque sanitaire lié à la présence potentielle de bactéries pathogènes pour l'homme, les mycotoxines, en particulier l'aflatoxine M1, doivent faire l'objet d'une surveillance particulière. Le projet UE ARIMNet 2 CA.RA.VA.N « Toward a CAmel tRAnsnational VAValue chaiN » a pour principal objectif de mettre en place un ensemble de mesures interdisciplinaires capables de générer des connaissances et des pratiques contribuant au développement socio-économique du secteur camelin notamment en Afrique du Nord et de promouvoir la sûreté des aliments d'origine cameline. Les objectifs de cette étude sont d'analyser les communautés bactériennes présentes dans des échantillons de lait cru de chamelle et d'évaluer la présence de mycotoxines en particulier l'aflatoxine M1.

Matériels et méthodes :

Une dizaine d'échantillons de lait de chamelle, collectés au moment de la traite, en Espagne et en France en 2020 et 2021, ont été analysés. Les communautés bactériennes ont été analysées par metabarcoding du gène de l'ARNr 16S. Les mycotoxines ont été recherchées en utilisant la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-ESI-MS/MS).

Résultats, discussion et conclusion :

L'analyse par metabarcoding 16S montre des communautés bactériennes complexes. La structure de ces communautés au niveau des phyla est concordante avec les études précédentes.

L'analyse multi-mycotoxines a montré que leurs concentrations sont en dessous de leurs limites de détection.

Il est indispensable de compléter cette analyse préliminaire sur d'autres échantillons de lait cru afin d'avoir une vision plus globale des communautés bactériennes associées à ce lait.

Mots clés : Lait de chamelle - Metabarcoding 16S - Communautés bactériennes - Mycotoxine - LC-ESI-MS/MS.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P34

Lumière bleue à très haute puissance : promesses d'une technologie dans la préservation d'aliments ?Thibaut Thery (thibaut.thery@agrosupdijon.fr), Cédric Grangeteau, Laurent Beney, Sébastien Dupont

UMR PAM, Université Bourgogne Franche-Comté, AgroSup Dijon, Dijon, France

Introduction et objectifs :

Face au gaspillage alimentaire et afin de répondre aux exigences des consommateurs, de nombreuses technologies innovantes de préservation sont étudiées. Parmi elles, l'inactivation microbienne photodynamique, initialement développée pour des applications médicales, pourrait être utilisée. Cette technologie, généralement basée sur l'excitation de photosensibilisateurs exogènes, entraîne la dégradation des biomolécules. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité d'un traitement à base de lumière bleue à très haute puissance sans utilisation de molécules exogènes.

Matériels et méthodes :

En l'absence de photosensibilisateurs exogènes, les traitements lumineux nécessitent de longs temps d'exposition. Un réacteur lumineux capable d'émettre de la lumière bleue (LEDs à 385 et 405 nm) à très haute puissance (901 mW/cm²) a été développé afin de raccourcir ces traitements. Ces longueurs d'onde ont pour objectif de cibler spécifiquement des photosensibilisateurs endogènes, les porphyrines. L'efficacité de ce prototype a été évaluée sur des formes végétatives et sporulées de flores d'altération d'aliments, *Bacillus cereus*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Penicillium digitatum*. Les mécanismes d'inactivation microbienne (e.g., stress oxydatif) ont été caractérisés par cytométrie en flux. Les applications potentielles ont été étudiées par le traitement de surfaces à contact alimentaire ou de produits finis.

Résultats et conclusion :

Le prototype développé a permis d'inactiver les formes végétatives et sporulées avec des traitements rapides inférieurs à 30 min. A travers la photooxydation, la génération d'espèces dérivées de l'oxygène apparaît comme le mécanisme principal d'inactivation. Chez *S. cerevisiae*, la perméabilisation membranaire est directement corrélée au temps de traitement et à la puissance utilisée. De multiples mécanismes affectant les structures essentielles des microorganismes réduisent le risque de développement de résistance. Par ailleurs, la longueur d'onde 385 nm provoque plus de dégâts que 405 nm, suggérant des mécanismes d'altération cellulaire supplémentaires. Un traitement court de quelques minutes permet une désinfection complète de surfaces alimentaires et réduit le développement fongique sur produits finis. Cette technologie à très haute puissance représenterait une technologie innovante à faible coût pour des applications alimentaires et au-delà.

Mots clés : Inactivation photodynamique - LEDs - Porphyrines - Flores d'altération.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P35

Microbial communities of home-made fermented vegetables

Anne Thierry¹ (anne.thierry@inrae.fr), Marie-Noëlle Madec¹, Anne-Sophie Bage¹, Victoria Chuat¹, Laurent Marché², Florence Valence¹

¹ STLO, INRAE, Rennes, France

² SECALIM, INRAE, Nantes, France

Introduction and objective:

Fermentation is an ancestral process of preserving food, which has recently received a renewed interest because of its natural image, nutritional interest and potential for innovation. Excepted sauerkraut, fermented foods issued from vegetables have been little consumed in Western Europe, in contrast with central Europe and Asia. FLEGME, for "Fermentation des LEGuMEs" (i.e. vegetables in French), is a citizen science project that gathers various actors: citizens, SMEs, agricultural schools, culinary journalists, researchers, among others. One of FLEGME's goal is to characterize the microbial communities and the safety of home-made fermented vegetables.

Material and methods:

Home-made fermented vegetables were collected from citizens that manufacture this type of products for their personal consumption. Several microbial groups were targeted: lactic acid bacteria (LAB), total aerobic bacteria, *Enterococcus*, *Enterobacteriaceae*, spore-forming bacteria, as well as some pathogenic bacteria. pH was also measured.

Results and discussion:

A set of 75 home-made samples were received. They included 23 types of legumes, the most represented being cabbage (27%, 7 varieties), followed by carrots (19%) and beets (12%). Their median pH was 3.6, with 87% of samples between 3.2 and 4.0. Only 2 samples had a pH over 4.5. LAB represented the dominant population. Their concentration varied from non-detectable values to 6×10^8 CFU/g, with a median concentration of 7.5×10^4 CFU/g. No significant relation was found between LAB counts and the type of vegetable. However, a significant effect of the age of samples (from 2-week-old to 4-year-old) was observed: high LAB counts were most frequently observed in young samples (< 100 days). Yeasts were detected in nearly half the samples, with counts ranging from 10^2 to 9×10^8 CFU/g. Enterococci were detected in only 5 samples at counts < 10^5 CFU/g, spore-forming bacteria in 41 samples at counts ranging from 10 to 10^4 CFU/g. No pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, coagulase-positive staphylococci, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*) were detected. This first view of the microbial community of fermented vegetables based on culture-dependent analysis will be completed by 16S rRNA gene metabarcoding.

Mots clés : Fermented vegetables - Lactic acid bacteria - Yeasts.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P36

Caractérisation globale de l'Ambaris, produit fermenté traditionnel Libanais, sur les plans microbiologiques, physico-chimiques et sensoriels

Reine Abi Khalil^{1,2} (reine.abi-khalil@purpan.fr), Sophie Yvon¹, Loubnah Belahcen¹, Christel Couderc¹, Gwenaëlle Jard¹, Rabih El Rammouz², Pierre Abi Nakhoul², Hélène Eutamène¹, Marie-José Ayoub ^{*2}, Hélène Tormo ^{*1}

¹ Laboratoire Sciences agronomiques et agroalimentaire, Université de Toulouse ; INP El-Purpan, Toulouse, France

² Université Libanaise - Faculté d'Agronomie, Dekwaneh, Liban

* ces auteurs ont contribué également à ce travail

Introduction et objectifs :

Les produits laitiers traditionnels fermentés possèdent des signatures typiques, résultat de la combinaison de plusieurs facteurs. L'Ambaris est un produit Libanais élaboré de façon empirique à partir de lait cru de chèvre dans des jarres en terre cuite. Son procédé de fabrication est traditionnel et riche d'une niche écologique microbienne encore mal connue. Nos objectifs sont de caractériser les communautés microbiennes, les propriétés physico-chimiques et sensorielles de l'Ambaris pour le sauvegarder.

Matériels et méthodes :

Une vingtaine d'échantillons d'Ambaris provenant de différentes régions ont été collectés. Les caractéristiques physico-chimiques comme le pH, les teneurs en matière sèche (MS), matière grasse (MG), protéines et sel ont été étudiées, et une description sensorielle des produits a été effectuée selon deux méthodes ('profil Pivot' et analyse descriptive). Un dénombrement et une caractérisation des communautés microbiennes (bactéries et levures) ont été réalisés grâce à des méthodes de cultures classiques (IR pour les bactéries, RFLP pour les levures), suivis d'un séquençage de 600 colonies isolées.

Résultats :

Selon les échantillons d'Ambaris collectés, les analyses physico-chimiques ont montré une grande variabilité sur les teneurs en sel (0,5 à 11%), en MG (9,6 à 30,5%), en protéines (7 à 15%), en MS (25 à 47 %) et sur le pH (2,9 à 4). Cette variabilité a également été observée sur le plan microbiologique, avec une flore totale comprise entre 3 log₁₀ CFU/g et 7,9 log₁₀ CFU/g. A noter la présence de *Lactobacillus diolivorans*, *Lb. parabuchneri*, *Lb. plantarum* et *Lb. rhamnosus* et de levures comme *Kluyveromyces lactis*, *Pichia kudriavzevii*, *Torulpsora delbrueckii*. Les échantillons étaient dans leur majorité exempts de pathogènes. Sur le plan sensoriel, les produits ont été décrits comme étant salés, acides et ayant un goût et une odeur de chèvre prononcés.

Conclusion :

L'Ambaris présente une richesse microbiologique significative en lactobacilles et levures qu'il sera nécessaire de mieux caractériser. En effets, ces souches d'intérêts aux propriétés potentiellement probiotiques peuvent participer à des effets positifs pour la santé humaine tout en contribuant grâce à des paramètres physico-chimiques spécifiques d'obtenir un produit fini sain à la signature organoleptique caractéristique.

Mots clés : Lait cru de chèvre - Ambaris - Fermentation - Lactobacilles - Levures.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P37

Évaluation par CC-qPCR de l'infectiosité et de la viabilité des oocystes de *Toxoplasma gondii* en matrice complexe végétale

Isabelle Villena¹ (ivillena@chu-reims.fr), Quentin Di-Brasi², Sandie Escotte-Binet², Dominique Aubert², Stéphanie La Carbonna³

¹ Laboratoire Parasitologie-Mycologie, EA ESCAPE, CHU et Université, Reims, France

² Laboratoire Parasitologie-Mycologie, EA ESCAPE, URCA, Reims, France

³ Département Sécurité alimentaire, ACTALIA, Saint-Lô, France

Introduction et objectifs :

De nos jours, la sécurité sanitaire des aliments est l'une des principales priorités de la santé publique au niveau national et international. C'est dans ce contexte d'émergence des maladies parasitaires d'origine alimentaire que de nombreuses entreprises soulignent la nécessité d'approfondir les connaissances sur les parasites protozoaires pouvant être transmis par les aliments. Parmi eux, *Toxoplasma gondii* représente un danger pour la santé humaine (1). Une technique de CC-qPCR (association d'une détection moléculaire par qPCR du parasite près multiplication en Culture Cellulaire) a été décrite par notre Equipe sur les mollusques (2). L'objectif de cette étude est d'obtenir un protocole d'optimisation pour détecter et vérifier la viabilité du parasite sur une matrice végétale complexe (laitue) par la CC-qPCR.

Matériels et méthodes :

Ainsi, différentes méthodes conduisant à la récupération et la libération des sporocystes, qui sont ensuite mis en culture avec des cellules Vero, ont été réalisées. La détection en biologie moléculaire (qPCR) est ensuite réalisée afin d'évaluer la multiplication parasitaire obtenue après mise en culture. Différents paramètres ont été évalués à chaque étape du protocole qui s'avère complexe (technique physique la plus optimale possible pour décrocher les oocystes / nécessité de la présence d'une étape de purification par utilisation de percoll 30%).

Résultats, discussion et conclusion :

La glycine 1M pH 5 associée à une agitation horizontale et une purification au percoll 30% permet une récupération optimale des oocystes de *T. gondii* sur la matrice végétale, pour évaluer l'infectiosité par CC-qPCR. La détermination des limites de détection (LOD) et les limites de quantification (LOQ) sont en cours pour vérifier la sensibilité de cette technique et son application. D'autres matrices complexes (autres salades, framboises) et d'autres protozoaires sont également testés dans l'optique d'une biosurveillance dans le secteur de l'agro-alimentaire (3,4).

Mots clés : *Toxoplasma gondii* - Détection - Infectiosité - Viabilité - Matrice végétale.

Références :

1. Thebault A., 2020, Microb. Risk Anal., doi.org/10.1016/j.mran.2020.100133.
2. Rousseau A, 2019, Appl. Environ. Microbiol., 85, doi 01189-19.
3. Escotte-Binet S, 2019, Vet. Parasitol., 274, doi 108904.
4. Kubina S, 2021, Microorganisms, 9 (2): 215.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P38

Biofilms positifs en œnologie et impact sur la qualité des vins

Stéphanie Weidmann¹ (stephanie.weidmann@u-bourgogne.fr), Luc Perepelkine¹, Alexandre Bastard¹, Hervé Alexandre¹, Jean Guzzo¹, Christian Coelho²

¹ UMR PAM-Equipe VALMiS, Université de Bourgogne, Dijon, France

² UMR PAM-Equipe PCAV, Université de Bourgogne, 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, quelques études se sont intéressées à la persistance de germes d'altération sous forme de biofilm, en revanche aucune donnée n'était disponible quant à la persistance de la bactérie lactique *Oenococcus oeni*. Cette bactérie, responsable de la fermentation malolactique (FML), peut persister sur le matériel viti-vinicole et permettre des démarrages spontanés de fermentation. Cette étude a pour objectif de mettre en évidence les biofilms de *O. oeni* et d'étudier leur impact sur l'efficacité de cette fermentation et sur les qualités organoleptiques des vins résultants.

Matériels et méthodes :

La capacité d'*O. oeni* à former des biofilms 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 vinification réalisées au domaine expérimental de Marsannay (Bourgogne) ont permis d'analyser la capacité de ces biofilms à déclencher la fermentation malolactique en conditions technologiques et ce selon différents schémas de vinification incluant (i) des fermentations alcooliques et malolactiques séquentielles ou (ii) des co-inoculations. L'analyse chimique de composés typiques des vins et du bois a été mise en œuvre afin d'évaluer l'impact des ferments développés en biofilm sur bois sur la qualité des vins.

Résultats, discussion et conclusion :

O. oeni est donc capable de se développer en biofilm sur différents supports et de déclencher la fermentation malolactique. Les vinifications en conditions technologiques ont mis en évidence une efficacité accrue des bactéries avec un phénotype biofilm en terme de fermentation certainement due à la résistance importante des cellules en biofilms aux stress environnementaux.

Ces travaux ont également montré que quelles que soient les pratiques de vinification, les biofilms d'*O. oeni* préservent leur activité malolactique et orientent le mécanisme fermentaire des vins vers des propriétés organoleptiques différenciantes associées aux transferts chimiques qui se produisent à l'interface bois/vin.

Mots clés : Bactéries lactiques - Biofilms - Vin - Fermentations - Qualités organoleptiques.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P39

La biopréservation : une alternative à la diminution des nitrites pour garantir la qualité sanitaire du foie gras ?

Monique Zagorec¹ (monique.zagorec@inrae.fr), Vincent Fontaine², Manon Froger¹, Stella Planchon²

¹ UMR 1014 Secalim, INRAE, Nantes, France

² CTCPA, Avignon, France

Introduction et objectifs :

Le Foie Gras, dont plus de la moitié de la production est commercialisée sous forme de foie gras mi-cuit, représente un chiffre d'affaires annuel de 2 Milliards d'euros en France. Le foie gras est additionné de sel nitré pour sa conservation et son aspect « rosé ». L'ajout de sel nitré comme agent conservateur antimicrobien et colorant est controversé. Dans ce contexte où l'usage des nitrites doit diminuer, l'utilisation de la biopréservation, comme alternative pour maintenir la qualité sanitaire des produits, est évaluée. Il s'agit de déterminer si l'ajout de cultures protectrices (généralement des bactéries lactiques), peut limiter la présence de bactéries pathogènes (*Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*) ou altérantes (bactéries lactiques, clostridies psychrotrophes ou psychrophiles) sur ces produits.

Matériel et méthodes :

Dans le cadre du projet Fog-Protect labellisé Carnot Qualiment, une collection de souches de bactéries lactiques issues de l'environnement de production de foie gras (CTCPA) a été caractérisée par séquençage de l'ADNr 16S puis criblée. Des protocoles ont été mis en place pour étudier leur innocuité (absence de production d'amines biogènes et de résistance aux antibiotiques), avant d'étudier leur capacité à inhiber des souches pathogènes ou altérantes.

Résultats, discussion et conclusion :

Cent vingt et une souches isolées précédemment de produits à base de foie gras, altérés ou sains, et d'ateliers de production ont été identifiées comme appartenant aux genres *Lactococcus* (N=4), *Lactobacillus* (N=62), *Weissella* (N=20), *Leuconostoc* (N=7) ou *Carnobacterium* (N=26). Leurs caractéristiques de croissance ont été déterminées. Un protocole, utilisé pour la détection d'histamine dans le poisson, a été adapté aux cultures bactériennes. Aucune des souches ne produisait d'histamine au-delà du seuil de 50 ppm. Un protocole a également été développé pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices de 8 antibiotiques. La majorité des souches présentaient au moins une résistance dépassant les seuils fixés par l'EFSA. L'activité antagoniste, contre *Clostridium algidicarnis* et *Clostridium frigidicarnis*, des souches de bactéries lactiques ne présentant pas de résistance sera étudiée. Les premiers résultats montrent que les isolats naturels présentent des résistances aux antibiotiques qui pourrait limiter leur utilisation comme flore de biopréservation.

Mots clés : Cultures protectrices - Bactéries lactiques - Clostridies - Antibiotiques - Amines biogènes.

MA-P Microbiologie des aliments

MA-P40

Brazilian *Weissella* strains with antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative foodborne pathogens

Camila Gonçalves Teixeira^{1,2} (camila.goncalvesteixeira.etu@univ-lille.fr), Antônio Fernandes de Carvalho¹, Djamel Drider²

¹ InovaLeite Laboratório de Pesquisa em Leites e Derivados, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brazil

² UMRT BioEcoAgo 1158 INRAe, Université de Lille, Villeneuve-d'Ascq, France

Introduction and objectives:

The genus *Weissella* is composed of bacteria belonging to the lactic acid bacteria group. Many strains of this genus have the ability to produce compounds of interest to the food industry, such as antimicrobial compounds, for example. This study aimed to evaluate the antimicrobial potential of strains isolated from different regions in Brazil.

Materials and methods:

Weissella strains isolated from different Brazilian regions were used in this research. The target strains used for the tests were *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 6538, *Salmonella enterica* ATCC 14028 or *Escherichia coli* ATCC 11229. For the antagonistic and bacteriocin tests, cell-free supernatant (CFS) was obtained by centrifugation and filtration of grown cultures. Wells of a sterile polystyrene 96-well microplate (Microtiter MIC 2000, Thermo-Labsystems) were filled with 100 µL of brain heart infusion (BHI) broth containing the specific target in a concentration of 10⁴ CFU/mL and 50 µL of supernatant (without treatment for antagonistic test and treated for the bacteriocin test). Microplates were incubated at 30 °C for 24 h and reading the optical density at 650 nm with intervals of 30 min. CFS pH was measured before and after incubation for antagonistic test. For the bacteriocins test the pH of the supernatant was adjusted to 6.5 and treated for 10 min at 80 °C. Growth controls were prepared with target culture (100 µL) and MRS broth (50 µL, Oxoid). Negative controls were prepared with BHI (150 µL, Oxoid). The experiment was performed with two replicates.

Results, discussion and conclusion:

Most of the isolates tested showed broad inhibition against the target strains in the antagonism test with a decrease in the medium pH after 24h of incubation. Some supernatants had great antimicrobial activity against both Gram-positive and Gram-negative targets which indicates the production of more than one antimicrobial compound. In the bacteriocin test the treatment of the supernatant was responsible for the decrease in the antimicrobial activity. The tested strains present antimicrobial activity against the main foodborne pathogens evidencing its great potential for use in the food industry as an antimicrobial agent.

Mots clés : Weissella - Antimicrobial activity - Foodborne pathogens.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P01

Évaluation de la PCR quantitative *Pseudomonas aeruginosa* dans la mucoviscidoseMaryam Abid¹ (M.ABID@chu-tours.fr), Anne-Sophie Valentin¹, Laure Cosson², Marie-Frédérique Lartigue^{1,3}¹ Unité de bactériologie et hygiène hospitalière, CHRU TOURS site Trousseau, Chambray-lès-Tours, France² CRCM pédiatrique, CHRU Tours site Clocheville, Tours, France³ ISP, F-37000, Université de Tours, INRAe, Tours, France**Objectif et introduction :**

Diagnostiquer une colonisation pulmonaire à *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose est primordial pour leur prise en charge.

La méthode de référence est la culture mais la PCR spécifique réalisée à partir des prélèvements peut permettre une détection plus précoce.

Depuis septembre 2019 au CHRU de Tours, nous avons mis en place un protocole de PCR quantitatives [1]. Cette technique est réalisée lors des bilans annuels ou lors des exacerbations.

L'objectif de ce travail est de faire un bilan après plus d'un an et demi de mise en place de cette technique.

Matériels et méthodes :

Une extraction d'ADN à partir des expectorations est faite avec la méthode : Qiagen. Une première qPCR est réalisée ciblant le gène *oprL*. En cas de résultat douteux ou positif et avec une concentration en *P. aeruginosa* de 730 UFC/mL, une deuxième qPCR, ciblant les gènes *gyrB/ecfX* est effectuée.

Résultats :

De septembre 2019 à mai 2021, 129 expectorations ont été analysées. La majorité des PCR (n=122) étaient négatives. Sept patients (soit 5.4%), âgés de 1 à 18 ans, ont eu une PCR *oprL* positive.

Pour les quatre premiers, la PCR *oprL* était positive avec une concentration respectivement de 40 UFC/mL, 130 UFC/mL, 150 UFC et 8150 UFC/mL. Parmi ces prélèvements, la PCR *gyrB* était positive pour deux d'entre eux et la PCR *ecfX* pour un prélèvement. Cette discordance s'explique par le seuil de détection élevé de la PCR *gyrB/ecfX* de 730 UFC/mL.

Concernant les trois derniers, seule la PCR *oprL* a été réalisée. Elle était positive avec une concentration respectivement de 70 UFC/ml, 220 UFC/mL et 1200 UFC/mL. Chez une patiente, une culture de *P. aeruginosa* à 1000 UFC/mL a été observée deux mois après la PCR positive.

Aucune PCR n'a été positive chez des patients n'ayant jamais eu de primocolonisation à *P. aeruginosa*.

Un traitement anti-pyocyanique a été introduit pour les patients avec une PCR positive.

Conclusion :

Cette technique associée à la culture semble permettre de diagnostiquer et donc de traiter de manière plus précoce la primocolonisation à *P. aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose.

Mots clés : *P. aeruginosa* - PCR - Mucoviscidose.

Références :

1. Le Gall, F., Le Berre, R., Rosec, S., Hardy, J., Gouriou, S., Héry-Arnaud, G et al (2013). Proposal of a quantitative PCR-based protocol for an optimal *Pseudomonas aeruginosa* detection in patients with cystic fibrosis. BMC Microbiology, 13(1), 143.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P02

Microbiologie clinique

***Roseomonas mucosa* : an emerging pathogen ?**

Aurélie Beaudron (aureliegarchet@hotmail.com), Cindy Ng Wing Sang

Microbiologie, CH Le Mans, Le Mans, France

Introduction:

Roseomonas mucosa is a pink-pigmented, oxidative, aerobic, Gram- negative coccobacilli, which is mostly isolated from environmental samples, few cases of human infection have been described. It can be considered as an opportunistic pathogen in immunocompromised patients. We report a case of catheter-related bloodstream infection (CRBSI) in a patient with multiple myeloma (MM).

Case report:

A 52-year-old female patient with MM was admitted to our hospital for pneumonia in march 2021 (24/03/2021). She had been treated with daratumumab since july 2017 and had a port-a-cath (PAC).

Both blood cultures simultaneously sampled from the PAC and a peripheral vein were positive with *Roseomonas mucosa*. The time to positivity was 1 day 4 hours from the PAC versus 3 days 10 hours from the peripheral vein. Thus the diagnosis of CRBSI was retained.

The antibiotic therapy with aztreonam (because of penicillin allergy) and metronidazole the patient has received for 2 days, was stopped when the *Roseomonas mucosa* was identified. He was then treated with ciprofloxacin. The PAC was removed but its culture was sterile.

In the patient's medical record, it was mentioned that *Roseomonas mucosa* had been isolated monomicrobially from a blood culture from the PAC in a previous hospitalization.

Microbiology:

Subcultures were plated on sheep blood-supplemented (5%) agar and chocolate-polyvitex agar. They were incubated aerobically at 37°C and in 5 % CO₂ respectively. After 24h of incubation, mucoid colonies were seen on the agar plate.

The isolate was identified as *Roseomonas mucosa* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (Microflex, Bruker).

Antimicrobial susceptibility testing of the isolate was carried out by using epsilometer tests (Etest). As there are no breakpoints in the current guidelines for this species, we used the CA-SFM/EUCAST PK/PD (non-species related) breakpoints. Minimum inhibitory concentrations (MICs) were read after 24 h of incubation.

The *Roseomonas mucosa* isolate was found susceptible to the following antibiotics : imipenem (1 µg/ml), levofloxacin (0,75 µg/ml), gentamicin (0,125 µg/ml), tobramycine, ciprofloxacin (0,50 µg/ml) and levofloxacin (1 µg/ml). It showed intermediate susceptibility or resistance to ceftazidim, piperacilin-tazobactam, and trimethoripim-sulfamethoxazole.

Conclusion:

Roseomonas mucosa is unusual but can be an opportunistic pathogen.

Mots clés : *Roseomonas mucosa* - Catheter - Infection.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P03

Microbiologie clinique

Tularémie, pathologie sous-diagnostiquée

Aurélie Beaudron¹ (aureliegarchet@hotmail.com), Guillaume Cosseron², Pascale Penn¹, Jean Thomin¹

¹ Microbiologie, CH, Le Mans, France

² Infectiologie, CH, Le Mans, France

Introduction :

Francisella tularensis est un coccobacille à Gram négatif, responsable de la tularémie, zoonose répartie essentiellement dans l'hémisphère nord. C'est une maladie à déclaration obligatoire. Ici, nous rapportons le cas d'une forme pulmonaire.

Cas clinique :

Un homme de 51 ans ayant comme principal antécédent un adénocarcinome pulmonaire lobaire supérieur droit traité par chimiothérapie est admis aux urgences fin janvier 2021, pour un tableau de pneumopathie hypoxémiant grave. Les hémocultures, l'antigénurie légionelle et la PCR SARS-CoV-2 s'avèrent négatives. L'évolution est favorable sous augmentin et spiramycine. En avril, un scanner de contrôle retrouve des atélectasies pulmonaires et majoration de la pleurésie. Une ponction pleurale évacuatrice est réalisée le 20/04/2021. La culture met en évidence *Francisella tularensis*. Une antibiothérapie par ciprofloxacine 500 mg 2 fois/jour est débutée. A posteriori, l'interrogatoire retrouve un contact avec des rongeurs en janvier.

Microbiologie :

Le germe a poussé sur une gélose au sang de mouton et sur gélose au sang cuit, incubées en aérobie et sous CO₂ respectivement. Après 5 jours d'incubation, on observait 2 colonies sur la gélose chocolat et 1 colonie sur la gélose au sang. L'identification a été réalisée par le spectromètre de masse (Microflex, Bruker). La souche a été adressée au CNR qui a identifiée *F. tularensis* *susbp.holarctica*.

En conclusion :

Découverte fortuite d'une forme pleuro-pulmonaire de tularémie.

Mots clés : Tularémie - Pleuro-pneumopathie.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P04

Microbiologie clinique

Flow cytometry cytobacteriological examination of biological fluids

Wiem Ben Dhaou¹ (wiem.ben-dhaou@aphp.fr), Vincent Arzul¹, Benoit Massart¹, Fadia Chargui¹, Olivia Soulier², Stéphane Pecqueri², Laurence Drieux², Jérôme Robert²

¹ Bactériologie-Hygiène., Hôpital La Pitié-Salpêtrière, Paris, France

² Hôpital La Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Introduction and objectives:

Currently, cytobacteriological examination of biological fluids (BF) is mainly performed manually by using Malassez counting chamber (MCC). This method is cumbersome, time-consuming and requires experienced technicians. Flow cytometry (FC) represents an opportunity to provide accurate cell counts by decreasing response time and variability among staff. We sought to compare FC to manual reading for cell counts in cerebrospinal fluid (CSF) and ascitic fluid (AF).

Materials and methods:

The UF4000 cytometer was used for cell counts after routine manual count in MCC and May-Gründwald-Giemsa staining by technicians blinded to FC results. In case of discrepancy, a control manual count was performed. CSF from external ventricular drainage were used to ensure sufficient volume. For comparing both methods, we used linear regression for leukocytes, red blood cells (RBC) and polymorphonuclear cells (PMN), and concordance tables using as threshold: 10/ml for leukocytes, and 100/ml for RBC, for CSF and 250/ml for PMN for AF.

Results:

A total of 135 CSF and 66 AF were analyzed. Overall, both methods were well correlated for each parameter (0.83 =10 leukocytes/ml) by FC as compared to manual reading leading to additional MGG (May-Grünwald Giemsa) and Gram staining. The 19 bacteriological cultures were negative. For AF PMN count, there was a single discrepancy, with <250 PMN/ml by FC and >250 by manual count. The culture was negative. Furthermore, we demonstrated a satisfactory repeatability of UF4000 FC for leukocytes (low level: CV=22% and high level CV=9.2%), and RBC counts in CSF (low level: CV=11.9% and high level: CV=5.6 %) and for PMN count in AF (CV=1.5%). Finally, time turn-around for FC was far lower than for manual count (mean time: 2 minutes vs 30 minutes).

Conclusion:

UF4000 FC can be implemented for routine BF cytological analysis. It is of interest in a context of scarce resources as it will save time for technicians with good accuracy and faster results for clinicians.

Mots clés : Flow Cytometry - Ascitic fluid - Cerebrospinal fluid.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P05

Distribution la séquence d'insertion IS6110 révélé par le séquençage complet de génome de souches de *Mycobacterium bovis* appartenant aux génotypes majoritaires en FranceCiriac Charles^{1,2} (ciriac.charles@anses.fr), Lorraine Michelet¹, Franck Biet², Maria-Laura Boschioli¹¹ UZB/Mycobactéries, ANSES, Maisons-Alfort, France² ISP, INRAe, Tours, France

Mycobacterium bovis est l'agent étiologique de la tuberculose bovine (bTB). Cette ancienne zoonose est toujours présente en France où l'on peut voir ces dernières années une régionalisation des foyers de bTB avec des génotypes dominants et spécifiques de ces régions (1). Le succès épidémiologique de ces génotypes pourrait résulter d'une évolution génomique des souches. Nous nous sommes donc intéressés à une séquence d'insertion spécifique du complexe de *Mycobacterium tuberculosis* ayant un rôle important dans la plasticité du génome, IS6110 (1). Chez *Mycobacterium bovis* l'IS6110 est présent à une ou en faible nombre de copies (2), cependant l'analyse par PCR en temps réel ciblant IS6110 a révélé d'importantes variations parmi des souches de divers génotypes suggérant un nombre d'IS6110 variable. L'objectif de ce travail est d'étudier la distribution de l'IS6110 dans la diversité française des souches de *Mycobacterium bovis* par une approche de séquençage entier de génomes.

La séquence d'IS6110 est recherchée avec l'outil ISMapper (3) à partir des données de séquençage Illumina en utilisant le génome de référence de *Mycobacterium bovis* Mb3601 (4). Le premier échantillonnage est composé de 87 souches représentatives de la diversité française de *Mycobacterium bovis*. Le deuxième est composé de 92 souches de génotype BCG-21 (2009-2014) qui est un des plus prévalent ces dernières années en France et est retrouvé en Côte d'Or (5).

Plus d'un tiers des souches du premier échantillon sont multi copies et 7% ont plus de 8 copies d'IS6110. Le nombre élevé d'IS6110 parmi celles circulant dans les régions les plus touchées par la bTB pourrait suggérer une association avec des changements génétiques introduits par la transposition des IS6110 et à un succès épidémiologique accru. La seconde partie de l'étude montre une stabilité du nombre de copies d'IS6110 ainsi que de leur position dans le génome des souches de génotypes BCG-21 issus de la Côte d'Or au cours du temps. L'étude de ces positions montre également l'interruption de gènes impliqués dans la virulence, le métabolisme des lipides ou la résistance aux stress environnementaux. Ces premiers résultats devront être complétés par d'autres études pour comprendre les possibles conséquences phénotypiques de ces modifications génétiques.

Mots clés : Tuberculose bovine - Séquence d'insertion - IS6110 - Zoonoses - *Mycobacterium bovis*.

Références :

1. Hauer A, De Cruz K, Cochard T, Godreuil S, Karoui C, Henault S, et al. 2015. Genetic evolution of *Mycobacterium bovis* causing tuberculosis in livestock and wildlife in France since 1978. PLoS One 10(2), e 0117103.
2. Gonzalo-Asensio J, Pérez I, Aguiló N, Uranga S, Picó A, Lampreave C, et al. 2018. New insights into the transposition mechanisms of IS6110 and its dynamic distribution between *Mycobacterium tuberculosis* Complex lineages. PLoS Genet 14, e1007282. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007282>
3. Hawkey J. 2015. ISMapper: identifying transposase insertion sites in bacterial genomes from short read sequence data. BMC Genomics 16. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1860-2>
4. Branger M, Loux V, Cochard T, Boschioli ML, Biet F, Michelet L, 2020, The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis* Mb3601, a SB0120 spoligotype strain representative of a new clonal group. Infect Genet Evol. 82:104309
5. Michelet L, Durand B, Boschioli ML. 2019. « Tuberculose bovine : Bilan génotypique de *M. bovis* à l'origine des foyers bovins entre 2015 et 2017 en France métropolitaine ». Bulletin Epidémiologie Santé Animale et alimentation. 88 - hors série spécial MRE.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P06

Environmental persistence of the *Staphylococcus capitis* NRCS-A clone in neonatal units: role of the biofilm formation and tolerance to desiccation

Marie Chavignon¹ (marie.chavignon@etu.univ-lyon1.fr), Ludivine Coignet¹, Marine Bergot¹, Anne Tristan^{1,2}, Frédéric Laurent^{1,2}, Marine Butin^{1,3}

¹ Equipe Pathogénie des Staphylocoques, CIRI - INSERM U1111, Lyon, France

² Centre National de Référence des Staphylocoques, Institut des Agents Infectieux, Lyon, France

³ Service de Néonatalogie et Réanimation Néonatale, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Introduction and objectives:

In Neonatal Intensive Care Units (NICUs) worldwide, the multidrug-resistant *Staphylococcus capitis* NRCS-A is a frequent cause of late onset sepsis in preterm neonates. This clone is divided into three subgroups that have appeared successively becoming more and more specialized for the NICU environment where the strains can persist despite the usual hospital hygiene measures, then inducing colonization and infection of the neonates. Here, we tried to understand the mechanisms involved in the persistence of the NRCS-A clone in the NICU environment by exploring the biofilm formation and the desiccation tolerance of *S. capitis* strains.

Material and methods:

A panel of 26 strains of *S. capitis* was selected from the collection of the National Reference Center for Staphylococci, including strains from each of the three subgroups of the NRCS-A clone and non-NRCS-A strains from neonatal patients (the Alpha clone involved in neonatal sepsis) or various patients (identified as "other strains"). Strains were tested for i) their ability to form biofilm in different nutrient conditions using different broth media (TSB, TSB with 1% glucose, TSB with 4% NaCl and RPMI) based on both bacterial count and crystal violet staining and ii) their tolerance to desiccation using a 24 h and 48 h exposure to this condition.

Results, discussion and conclusion:

In TSB, there were no significant differences of biofilm formation between NRCS-A and non-NRCS-A strains. However, the biofilm formation of all strains was impacted by modification of the culture media. It was indeed enhanced in presence of glucose and NaCl but decreased in condition of nutrient stress (RPMI). The variations were more strain dependant than group dependant. In case of nutrient privation, the NRCS-A strains showed a higher biofilm production. The desiccation tolerance was better in NRCS-A strains than in Alpha strains, but high variations were observed between strains of a same group. To conclude, the ability of biofilm formation during nutritive stress and the possible increased tolerance to desiccation in NRCS-A strains may be involved in their ability to colonize and persist in NICU environment. Further investigations concerning persistence for a longer period than 48 h are necessary.

Mots clés : *Staphylococcus capitis* - NRCS-A clone - Biofilm - Desiccation tolerance - Preterm neonates.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P07

Characterisation of the *nsr* gene specific to the *Staphylococcus capitis* NRCS-A clone involved in neonatal sepsis

Marie Chavignon¹ (marie.chavignon@etu.univ-lyon1.fr), Marine Bergot¹, Endrit Shumeri¹, Anne Tristan^{1,2}, Frédéric Laurent^{1,2}, Marine Butin^{1,3}

¹ Equipe Pathogénie des Staphylocoques, CIRI - INSERM U1111, Lyon, France

² Centre National de Référence des Staphylocoques, Institut des Agents Infectieux, Lyon, France

³ Service de Néonatalogie et Réanimation Néonatale, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Introduction and objectives:

The *Staphylococcus capitis* NRCS-A clone is a multidrug-resistant endemic pathogen isolated specifically in neonatal intensive care units (NICUs) worldwide where it represents a major cause of sepsis in preterm neonates. 55 genes have been identified as specific of the NRCS-A clone including the *nsr* gene. This gene is a 947 base pairs gene encoding a 316 amino acids protein, showing 41% of homology with the *Lactococcus lactis* NSR protein. In *L. lactis*, NSR is a transmembrane peptidase allowing resistance to nisin, a bacteriocin active against Gram-positive bacteria. Thus, the aim of this study was to characterise the *nsr* gene of the NRCS-A clone to better understand its potential role in the pathophysiology of neonatal sepsis.

Material and methods:

The sequence of the *nsr* gene of the NRCS-A clone was compared to other *nsr* genes found in public databases. Then, to explore the phenotypic impact of *nsr* on nisin resistance among *S. capitis* strains, nisin Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) were obtained by microdilution method on 71 *nsr* positive strains and 41 *nsr* negative ones. The genetic organisation and environment of the gene were studied first in silico using the Operon-mapper webserver and second based on PCR on cDNA (complementary DNA).

Results, discussion and conclusion:

The *nsr* gene of the NRCS-A clone did not cluster on the same branch of the phylogenetic tree than the *nsr* genes from the others *Staphylococcus* species. However, phenotypic tests showed that this gene seems to confer nisin resistance since the nisin MICs were statistically higher in the *nsr* positive strains. In silico analysis showed that *nsr* is part of the *kdpDE* operon coding for a two-component system which is associated with the *kdpABC* operon coding for a K⁺ ABC transporter. This *nsr* operon organisation is similar to the one that has been described in other bacterial species. Further works are required to understand the factors influencing the expression of *nsr* in the NRCS-A clone and the impact of the nisin resistance on the persistence/virulence of the NRCS-A clone in NICUs.

Mots clés : *Staphylococcus capitis* - NRCS-A clone - NSR - Nisin resistance - Preterm neonates.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P08

Description d'une potentielle nouvelle espèce de *Campylobacter sp*

Catherine Eckert¹ (catherine.eckert@aphp.fr), Lucie Bruhl², Quentin Jehanne^{2,3}, Charlotte Verdet¹, Astrid Ducournau², Chloé Domingues-Martins², Nicolas Veziris¹, Alice Doreille⁴, Laurent Mesnard⁴, Emilie Bessède^{2,3}, Alexandre Godmer¹, Philippe Lehours^{2,3}

¹ Bactériologie, AP-HP, AP-HP. Sorbonne-Université, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

² Centre National de Référence des Campylobacters et des Hélicobacters, CHU de Bordeaux Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France

³ UMR1053 Bordeaux Research in Translational Onco, Université de Bordeaux, INSERM, Bordeaux, France

⁴ Soins Intensifs Néphrologique et Rein Aigu, AP-HP, AP-HP. Sorbonne-Université, Hôpital Tenon, Paris, France

Introduction et objectif :

Les infections à Campylobacters sont la première cause d'infections bactériennes intestinales chez l'Homme. Les principales espèces isolées sont *C. jejuni* et *C. coli*. Chaque année le CNR Campylobacters-Hélicobacters (CNRCH) reçoit des souches correspondant à de potentielles nouvelles espèces. Nous décrivons ici une souche, isolée des selles d'un patient souffrant de diarrhées, qui diffère de toutes les souches décrites.

Matériels et méthodes :

Les caractéristiques de croissance et les caractères biochimiques (API Campy, biomérieux) ont été déterminés. Les résistances aux antibiotiques ont été évaluées (antibiogramme par diffusion et E-test (CASFM)). Une approche par microscopie électronique a été réalisée. L'ADN a été extrait avec les systèmes MagNA Pure (Roche) et quantifié par Qubit. Le séquençage a été effectué avec le séquenceur iSeq 100 (Illumina). Les séquences brutes ont été traitées par un « pipeline » d'analyses bio-informatiques interne au CNRCH.

Résultats :

La souche de *Campylobacter sp* a été isolée chez un patient de 48 ans sous immunosuppresseur (greffé rénal, diabétique, porteur du virus de l'hépatite B). La base MALDI-TOF SM Bruker ne permet pas d'identifier cette souche (score <1.2). Elle pousse uniquement en atmosphère microaérobie sur géloses enrichies en sang à 35-37°C. Cette souche possède une oxydase, une nitrate réductase, une estérase, une phosphatase alcaline et une catalase. Elle se présente sous la forme de bacilles à Gram négatif légèrement incurvés de 2,2 de long et 0,45µm d'épaisseur avec 2 flagelles amphitriches non gainés. La taille du génome est de 1,7 millions pb. La séquence de l'ADNr 16S et de la Gyrase A ont respectivement 98,5% et 93,88% d'homologie avec *C. lanienae*. En utilisant les méthodes ANI et DDH cette souche est proche phylogénétiquement de *C. lanienae* avec des scores inférieurs (respectivement 83,1% et 60,1%) au seuil conventionnel pour une même espèce. L'absence de gène de résistance ou de mutation connue dans les gènes cibles (*gyrA*, 23S) est corrélée avec son profil obtenu *in vitro*.

Discussion et conclusion :

Il s'agit d'une nouvelle espèce de *Campylobacter sp* proche de *C. lanienae* isolée chez un patient présentant une diarrhée. L'origine et la source de contamination restent inconnues.

Mots clés : Campylobacter - Nouvelle espèce - Identification.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P09

Microbiologie clinique

Inhaled liposomal amikacin (ALIS) targeting *Mycobacterium avium* Complex pulmonary diseaseR. van der Laan¹ (Narguiz.Gourbanova@insmed.com), Nara Gourbanova², M. Obradovic³¹ *Insmed Netherlands BV, Utrecht, The Netherlands*² *Insmed France SAS, Paris, France*³ *Insmed Germany GMBH, Frankfurt, Germany***Objective: overview of the mechanism of action of ALIS**

Nontuberculous mycobacteria (NTM) encompass a large group of environmental bacteria that may cause infections in humans, in particular lung disease (NTMLD). Treating NTMLD is challenging due to NTM evading host defense, persistence in biofilms and sequestration into alveolar macrophages, the main reservoir of NTM in lungs.[1]

Drug therapy of NTMLD is complex, lengthy and limited number of agents are active against NTM. Amikacin demonstrated *in vitro* and clinical efficacy against NTM including *Mycobacterium avium* complex (MAC), the most common species causing NTMLD worldwide. Systemic administration of amikacin is often resulting in suboptimal drug levels in lungs and its use is limited by safety and tolerance. ALIS was developed to deliver effective concentrations of amikacin to the site of infection and penetrates into both biofilms and macrophages where MAC reside and replicate. ALIS is administered once daily by oral inhalation using the Lamira nebulizer (Pari eFlow platform).[2]

Methods: descriptive summary of pre-clinical and clinical data

In vitro and *in vivo* data demonstrate that ALIS has superior delivery of amikacin into macrophages (274-fold), airways and lung tissue compared to intravenous (IV) free amikacin. *In vitro* biofilm studies showed penetration of fluorescently tagged ALIS in MAC biofilms and a concentration-dependent killing herein. Nebulized ALIS is distributed throughout the whole lungs in both healthy volunteers and NTMLD patients (scintigraphy). ALIS administration also results in low systemic exposure to amikacin, with less than 10% of dose reaching the systemic circulation.[3] Therefore, systemic aminoglycoside-associated adverse events occurrence and severity are potentially of a lower magnitude and once-daily ALIS nebulization is possible long-term.[4]

ALIS has been studied for refractory MAC lung disease in a phase 2 and two phase 3 clinical trials. Adding ALIS to guidelines-based therapy (GBT) resulted in significant increase of sputum culture conversion rate compared to patients on GBT only. Culture conversion was both sustainable during treatment and off treatment at 3 and 12 months. ALIS was associated with a higher rate of respiratory adverse events, mostly mild or moderate due to aerosolization, propensity of aminoglycoside-associated toxicity was low. CLSI has recently set the MIC breakpoint for ALIS to 128 µg/mL.[4] ALIS plus GBT is part of the international guidelines for NTMLD.[5]

Mots clés : NTMLD - MAC - Amikacin - ALIS - Lliposome.

Références :

1. Chalmers et al., 2021.
2. Shirley, 2019.
3. Rubino 2020.
4. Zhang and Hill, 2021.
5. Daley et al. 2020.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P10

Microbiologie clinique

Premier cas d'infection ostéo-articulaire fongique à *Trichosporon inkin*

Evelyne Heng¹ (evelyne.heng@gmail.com), Emma D'Anglejean², Marie Desnos-Ollivier³, Amandine Henry¹, Anne Gaëlle Cauchie¹, Philippe Boisrenoult⁴, Marlène Amara¹, Odile Eloy¹

¹ Microbiologie/Biologie médicale, Centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

² Service de Médecine interne et maladies tropicales, Centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

³ Centre National de Référence des mycoses invasives et antifongiques, Institut Pasteur, Paris, France

⁴ Service d'Orthopédie, Centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

Un homme de 47 ans diabétique de type 2, originaire de Gambie, consulte aux urgences pour une décompensation diabétique. Il présente une plaie chronique infectée du pied droit évoluant défavorablement depuis plusieurs mois. Après échec du traitement conservateur, associant une mise à plat de l'abcès et un traitement antibiotique adapté aux germes isolés en per-opératoire, une amputation transtibiale a été réalisée. Le bilan biologique comporte un dosage de β -D-glucane à 225 pg/mL (seuil de positivité ≥ 80 pg/mL) sans étiologie fongique retrouvée. L'évolution locale défavorable chez ce patient dénutri, conduit à plusieurs reprises chirurgicales du moignon. Lors de la dernière reprise du moignon, les trois prélèvements bactériologiques réalisés dans l'os et les parties molles, ont mis en évidence en culture monomicrobienne, une levure identifiée par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Microflex LT/SH, Bruker) comme *Trichosporon inkin*. L'identification polyphasique par phénotypie et séquençage nucléotidique du CNR met en évidence des particularités de cette souche qui pourraient permettre de définir une nouvelle espèce proche de *Trichosporon inkin*. Le séquençage complet est en cours. Cette dernière reprise chirurgicale associée à un traitement antifongique par Voriconazole IV puis *per os* a permis la guérison locale.

Les infections ostéo-articulaires fongiques sont rares et destructrices. Les levures du genre *Trichosporon* sont ubiquitaires, saprophytes de l'environnement et du microbiote humain. Elles sont responsables de lésions cutanées superficielles ou d'infections sévères disséminées en cas de comorbidités ou d'immunodépression. A ce jour, seuls trois cas d'infection ostéo-articulaire à *Trichosporon* sp ont été rapportés. Notre cas, est le premier à notre connaissance, impliquant *Trichosporon inkin*.

Mots clés : Trichosporon - Infection ostéo-articulaire - Voriconazole.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P11

First description of Erythromycin Resistance Methyltransferases in *Campylobacter coli* strains in France

Quentin Jehanne (quentin.jehanne@chu-bordeaux.fr), Philippe Lehours, Emilie Bessède, Lucie Bruhl, Astrid Ducournau, Chloé Domingues-Martins

CNRCH, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Campylobacter is among the most common causes of human gastroenteritis worldwide. The most common species, *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*, infect humans mostly via contaminated meat and can cause diarrhea, abdominal pain and fever. In severe cases of campylobacteriosis, the administration of antibiotics such as macrolides (azithromycin) is required but the emergence of new resistance mechanisms, particularly among *C. coli* isolates, is concerning. The aim of this study was to analyze the resistance profiles of *Campylobacter* multi-resistant isolates received at the CNRCH from 2016 to 2019.

First, 42 *C. coli* and 9 *C. jejuni* multi-resistant isolates were selected for DNA extraction using MagNA Pure systems and genome sequencing using Illumina technology. Resistance markers were identified using bioinformatic tools combined with multiple databases. PCR screening of two identified methyltransferases (*erm*) conferring resistance to erythromycin were performed on 141 *C. coli* and 30 *C. jejuni* erythromycin-resistant isolates. Additionally, bacterial transformations were performed to improve understanding of methyltransferases transmission. Finally, erythromycin MICs were estimated for 9 *erm*-positive isolates and 15 other erythromycin-resistant isolates with 23S rDNA mutations.

Genomic analyses of erythromycin resistant isolates revealed 23S mutations in 93% of all isolates and two methyltransferases were found in the remaining 7%: ErmB (1 *C. coli*) and a novel methylase named here ErmN (3 *C. coli*). *ermB* gene, initially described asian isolates, is found in a multidrug-resistant gene island and *ermN*, described only once in a Canadian study in 2018, is inserted within CRISPR arrays of CRISPR-cas9 operon. After PCR screening of 171 erythromycin-resistant isolates, 3 *ermN* positive *C. coli* from 2016 (3%) and 2 *ermB* positive *C. coli* (1%) were also identified. Bacterial transformations confirmed that insertion of *ermN* into a CRISPR-cas9 operon can confer macrolide resistance. However, methylase-positive isolates have MIC levels compared to erythromycin-resistant isolates containing 23SrDNA mutations.

Campylobacter species are easily able to adapt to their environment and acquire new resistance mechanisms, especially *C. coli*. This study is so far the first description of Erythromycin Resistance Methyltransferases in *Campylobacter*s isolated from French clinical cases. The emergence of this new resistance mechanisms has to be followed carefully in the next years.

Mots clés : *Campylobacter* - *Coli* - Erythromycin - Resistance - Erm.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P12

Microbiologie clinique

Impact de l'épidémie de Covid-19 sur les bonnes pratiques de prélèvement des hémocultures et les espèces isolées

Fabrice Compain¹ (marie.lavollay@imm.fr), Christian Lamer², Elodie Teil³, Sophie Pargade⁴, Olivier Untereiner⁵, Jacques-Yves Nizou⁶, Clémence Richaud⁷, Marie Lavollay¹

¹ Laboratoire, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France

² Réanimation polyvalente, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France

³ Réanimation cardiaque, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France

⁴ Pharmacie, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France

⁵ Anesthésie, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France

⁶ Hygiène, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France

⁷ Infectiologie, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France

Introduction et objectifs :

La qualité du prélèvement d'une hémoculture est la variable la plus importante pour garantir un diagnostic rapide et précis d'une bactériémie ou fongémie [1]. Pour un adulte, la société française de microbiologie (SFM) recommande de prélever 40 à 60 ml de sang réparti en 2-3 paires, après une désinfection rigoureuse pour éviter les contaminants. L'épidémie de Covid-19 a entraîné une surcharge de travail pour le personnel, une augmentation des journées de cathétérisme dans les services de soins intensif de notre établissement et une pré-exposition fréquente aux antibiotiques par l'association cefotaxime-azithromycine lors de la première vague. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'impact sur les bonnes pratiques de prélèvement des hémocultures et les espèces isolées.

Matériels et méthodes :

l'automate d'hémoculture VIRTUO® (Biomérieux) évalue optiquement le niveau de remplissage des flacons d'hémoculture. Les indicateurs de bonnes pratiques de prélèvements des hémocultures ont été générés en utilisant le logiciel Myla® (Biomérieux) qui permet de classer les contaminants probables et générer des rapports concernant les volumes de remplissage, contaminants probables, le nombre de paires prélevées par patient par épisode et le taux de positivité. L'occurrence des espèces les plus fréquemment isolées a été déterminée en utilisant le SIRWEB.

Résultats, discussion et conclusion :

La sensibilité diagnostique des bactériémies, reliée au volume de sang prélevé, n'a pas été altérée et il n'a pas été observé d'augmentation du taux de positivité pendant l'épidémie de Covid-19. En revanche, la surcharge de travail liée à l'épidémie a eu un impact sur le nombre de flacons contaminés (<2% habituellement versus 7 % en avril 2020). L'augmentation du nombre de flacons positifs à staphylocoques à coagulase négative pourrait expliquer l'augmentation de consommation de glycopeptides observée en 2020 par rapport à 2019 (2). L'antibiothérapie probabiliste par l'association cefotaxime et azithromycine utilisée lors de la première vague pourrait expliquer la modification de l'épidémiologie des espèces isolées avec une augmentation d'E. faecalis et de Candida spp. dans les services de soins intensifs.

Mots clés : Hémoculture - Covid-19 - VirtuO - Cathéterisme.

Références :

1. Accoceberry I, Cornet M, Lamy B., 2018, Bactériémies et fongémies – hémocultures. REMIC, 6th ed, vol1. P137-152
2. Gary V. Doernet al., 2019, Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: A Comprehensive Update on the Problem of Blood Culture Contamination and a Discussion of Methods for Addressing the Problem. Clinical Microbiology Reviews Oct 2019, 33 (1) e00009-19.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P13

Microbiologie clinique

CD169 and CD64 could help differentiate bacterial from CoVID-19 or other viral infections in the Emergency Department

Fabrice Malergue¹ (fmalergue@beckman.com), Pénélope Bourgoin^{1,2}, Thomas Soliveres³, Alexandra Barbaresi³, Anderson Loundou⁴, Inès Ait Belkacem^{1,5}, Isabelle Arnoux⁶, Denis Bernot⁶, Marie Loosveld⁶, Pierre-Emmanuel Morange^{2,6}, Pierre Michelet³, Thibaut Markarian³

¹ Beckman Coulter Life Sciences IMMUNOTECH, Marseille, France

² C2VN, Marseille, France

³ Emergency Department, Timone Hospital, Marseille, France

⁴ Timone Hospital, Marseille, France

⁵ CIML, Marseille, France

⁶ Hematology Department, Timone Hospital, Marseille, France

Context:

The identification of a bacterial, viral, or even noninfectious cause is essential in the management of febrile syndrome in the emergency department (ED), especially in epidemic contexts such as flu or CoVID-19. The aim was to assess discriminative performances of two biomarkers, CD64 on neutrophils (nCD64) and CD169 on monocytes (mCD169), using a new flow cytometry procedure, in patients presenting with fever to the ED during epidemics.

Method:

Eighty-five adult patients presenting with potential infection were included during the 2019 flu season in the ED of La Timone Hospital. They were divided into four diagnostic outcomes according to their clinical records: no-infection, bacterial infection, viral infection and co-infection. Seventy-six patients with confirmed SARS-CoV-2 infection were also compared to 48 healthy volunteers.

Results:

For the first cohort, 38 (45%) patients were diagnosed with bacterial infections, 11 (13%) with viral infections and 29 (34%) with co-infections. mCD169 was elevated in patients with viral infections, with a majority of Flu A virus or Respiratory Syncytial Virus, while nCD64 was elevated in subjects with bacterial infections, with a majority of *Streptococcus pneumoniae* and *Escherichia coli*. nCD64 and mCD169 showed 90% and 80% sensitivity, and 78% and 91% specificity, respectively, for identifying patients with bacterial or viral infections. When studied in a second cohort, mCD169 was elevated in 95% of patients with SARS-CoV-2 infections and remained at normal level in 100% of healthy volunteers.

Conclusion:

nCD64 and mCD169 have potential for accurately distinguishing bacterial and acute viral infections. Combined in an easy and rapid flow cytometry procedure, they constitute a potential improvement for infection management in the ED and could even help for triage of patients during emerging epidemics.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P14

Microbiologie clinique

Comment gagner du temps en permanence de soins par une adaptation de méthode sur VITEK-2 ?

Baptiste Panager (baptiste.panagetbio@gmail.com), Olivier Augereau, Florian Baquer, Guillaume Gregorowicz Gregorowicz, Thomas Gueudet, Dominique De Briel

Laboratoire, Hôpitaux civils de Colmar, Colmar, France

Introduction et objectifs :

La réalisation d'antibiogrammes automatisés sur milieu liquide par l'intermédiaire du VITEK-2 est une méthode validée pour des souches issues de culture ayant un âge défini pour chaque carte. Cette contrainte est en inadéquation avec un fonctionnement optimal du laboratoire de microbiologie. L'objectif de cette étude est de valider un âge de culture différent de ceux préconisés, permettant une amélioration du travail technicien sur la permanence de soins.

Matériels et méthodes :

Dix souches d'entérocoques ont été testés avec la carte AST-P606, 9 souches de staphylocoques avec la carte AST-P631, 30 souches d'entérobactéries avec les cartes AST-N372 et AST-N234 et 5 fois la souche de pneumocoque ATCC-49619 avec la carte AST-ST03. Les durées de croissances étudiées étaient des délais précoces (moins de 8h) et tardifs (36h à 48h). L'adaptation de la technique a été considérée comme applicable à condition de répondre aux recommandations du QUAMIC et aux exigences de la FDA, soit : Essential Agreement et Categorical Agreement $\geq 90\%$, Discordances Très Majeures $\leq 1.5\%$, Discordances Majeures $\leq 3\%$, discordances mineures $\leq 10\%$.

Résultats, discussion, et conclusion :

Les résultats des antibiogrammes réalisés sur cultures anciennes répondent aux exigences de la FDA, et cela pour les 5 cartes étudiées. Néanmoins les résultats pour les cultures jeunes ne permettent pas de valider cette méthode, en particulier pour les cartes AST-P631, N372 et N234. Cette étude permet une optimisation du temps technique lors des gardes, notamment par l'arrêt de repiquage des cultures pour des antibiogrammes non urgents. Cette libération de temps peut être mise à profit par différentes applications. L'une d'entre elle est la réalisation d'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé dans les cas où la méthode étudiée n'est pas validée (cas des cultures jeunes d'hémoculture), cela permet un perfectionnement du délai de rendu de résultat. L'étude montre donc un gain technique, économique et médicale

Mots clés : Vitek2 - Age des colonies - Portée B - Antibiogramme.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P15

Real-time micro colonies detection and identification using lens less imaging and deep learning techniquesPaul Paquin¹ (paul.paquin@cea.fr), Claire Durmort², Caroline Paulus¹, Thierry Vernet², Pierre Marcoux¹¹ DTBS/LSIV, CEA, Grenoble, France² Groupe Pneumocoque, IBS, Grenoble, France**Introduction and goals:**

Detection and identification of isolated pathogenic bacteria in biological samples (blood, urine, sputum, etc.) are crucial steps in both accelerated clinical diagnosis and efficient water and food safety control. However, accurate and rapid identification remain difficult to achieve due to the challenge of having to analyse complex and large samples. Current solutions (MALDI-TOF, Vitek 2, 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. In order to combat the spread of resistances and to meet the specific needs of infection diagnosis in isolated environments, there is a strong need for new diagnostic tools that are faster, space efficient and less expensive than conventional ones while still being accurate.

Materials and methods:

In this study, we present the possibility of using lens less imaging to achieve a quick and accurate wide range, non-destructive, label-free pathogenic bacteria detection and identification in real-time using micro colonies (10-500µm) kinetic growth pattern combined with a two-stage deep learning architecture (detection and identification). Using a commercial live-cell lens less imaging system and thin-layer agar media made of 20µl BHI (Brain Heart Infusion), we were able to get time-lapse imaging of bacterial colony growth to train our deep learning networks.

Results, discussion and conclusion :

Our architecture proposal achieved interesting results on a dataset constituted of four different strains (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus epidermidis*). After 12h, our detection neural network reached an average 97% detection rate and our classification neural network precision averaged around 94.7% even obtaining a perfect score for *S. aureus* and *E. faecium* while obtaining 91.9% average sensitivity on 1192 colonies. This shows the potential of lens less imaging systems combined with deep learning algorithms for early and accurate detection and identification of pathogenic strains in a wide range of applications without the need for an expert eye.

Mots clés : Lens less imaging - Deep learning - Label-free identification - Micro colonies - Time-lapse imaging.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P16

Microbiologie clinique

Étude de la tolérance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* ST131Tania Petersen (t-petersen@hotmail.fr), Imane El Meouche, Luce Landraud

IAME, INSERM, Paris, France

La diffusion d'entérobactéries multirésistantes aux antibiotiques constitue une préoccupation de santé publique majeure. Il a cependant été démontré que les bactéries possédaient d'autres stratégies pour survivre à la présence d'antibiotiques, telle que la tolérance. Malgré leur phénotype sensible, les bactéries tolérantes sont susceptibles de jouer un rôle non négligeable dans la rechute des infections, et constituent par ailleurs un terreau fertile pour le développement de la résistance aux antibiotiques.

Un intérêt particulier est porté au clone ST131 de *Escherichia coli* qui représente aujourd'hui la principale lignée impliquée dans les infections extra-intestinales. Caractérisé par l'acquisition d'une résistance de haut niveau, à la fois aux bêta-lactamines et aux fluoroquinolones, ce clone virulent est responsable d'infections aussi bien communautaires que nosocomiales. A l'image de son résistome, façonné par le transfert horizontal de gènes de résistance, il semble intéressant de se questionner sur l'existence d'un « tolérome » au sein de ce clone.

Nous avons étudié une collection de 57 souches cliniques de *E. coli* ST131 afin de déterminer si la tolérance pouvait jouer un rôle dans le succès évolutif remarquable de ce clone. L'objectif était d'évaluer le niveau de tolérance des souches à deux antibiotiques, la ciprofloxacine et l'ertapénème, en fonction de leur origine, stade évolutif et contenu plasmidique. Nos résultats préliminaires indiquent qu'environ 25% des souches sont tolérantes à la ciprofloxacine et à l'ertapénème et qu'un plus haut niveau de tolérance est observé chez les souches issues de bactériémie, comparativement aux souches urinaires et commensales. Nos recherches s'orientent actuellement vers l'étude des mécanismes et du support, chromosomique ou plasmidique, de la tolérance. La transformation d'une souche de laboratoire *E. coli* K12 avec le plasmide d'une souche ST131 tolérante a entraîné l'apparition d'un haut niveau de tolérance à la ciprofloxacine chez K12, suggérant l'implication des plasmides dans la tolérance et le caractère potentiellement transférable de celle-ci. L'élaboration d'une bibliothèque de transposons nous permettra de définir précisément les acteurs génétiques, chromosomiques et plasmidiques, de ce phénomène complexe, afin de mieux appréhender la tolérance et son rôle dans la réponse bactérienne au stress antibiotique chez une lignée de *E. coli* particulièrement impliquée en pathologie humaine.

Mots clés : Tolérance - Plasmide - *Escherichia coli*.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P17

Utilisation de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF comme test de diagnostic différentiel pour la métrite contagieuse équine

Sandrine Petry¹ (sandrine.petry@anses.fr), Jean-Sébastien Py², Amandine Wilhelm², Fabien Duquesne¹, Marie-Hélène Bâyon-Auboyer³, Hervé Morvan³, Benoît Gassilloud²

¹ Laboratoire de Santé Animale, site de Normandie, Unité PhEED, Anses, Goustranville, France

² Laboratoire d'Hydrologie, Unité Microbiologie des eaux, Plateforme MALDI-TOF, Anses, Nancy, France

³ Service Bactériologie Vétérinaire, LABOCEA, Ploufragan, France

Introduction et objectifs :

La métrite contagieuse équine (MCE) est une maladie équine sexuellement transmissible, due à *Taylorella equigenitalis*, une bactérie à Gram négatif de croissance exigeante. La MCE est notifiée à l'Organisation mondiale de la santé animale et en France, il s'agit d'un danger sanitaire de deuxième catégorie. L'Anses, laboratoire de Santé Animale site de Normandie est Laboratoire National de Référence et Laboratoire de Référence de l'Union Européenne (LRUE maladies équines) pour cette maladie. Son diagnostic officiel repose sur l'isolement et l'identification de *T. equigenitalis* par bactériologie conventionnelle. La présence de *Taylorella asinigenitalis* peut néanmoins interférer du fait de caractères morphologiques et biochimiques similaires voire identiques. L'intérêt de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF n'étant plus à prouver en microbiologie clinique, ses performances comme test de diagnostic différentiel pour la MCE ont été évaluées.

Matériels et méthodes :

Quatre-vingt-cinq souches de *T. equigenitalis* et 28 souches de *T. asinigenitalis* ont été sélectionnées en fonction de leur génotype MLST (Multi-Locus Sequence Typing). Les analyses MALDI-TOF ont été réalisées à partir de colonies isolées, obtenues sur géloses chocolat enrichies après 48 et 72 h d'incubation à (37±2)°C et 7°C de CO₂. Trois procédures de préparation des échantillons ont été testées : dépôt direct d'une colonie, dépôt direct d'une colonie puis ajout d'acide formique et dépôt d'une extraction protéique issue d'une colonie. Chaque analyse a été réalisée en triplicata (3 colonies isolées par souche). Des spectres de référence de *T. equigenitalis* et *T. asinigenitalis* ont été réalisés afin d'étendre si nécessaire la base de données commerciale de l'appareil Bruker.

Résultats, discussion et conclusion :

Les résultats obtenus [1] confirment la fiabilité de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF pour l'identification de *T. equigenitalis* à partir de colonies isolées selon la norme AFNOR NF U47-108 [2]. Aucune confusion n'a été observée entre les espèces *T. equigenitalis* et *T. asinigenitalis* ; toutefois, la base de données commerciale a dû être étendue avec des spectres de référence de *T. asinigenitalis* pour permettre son identification sans ambiguïté.

Mots clés : Métrite contagieuse équine - MALDI-TOF - Diagnostic - Maladie équine - Taylorella.

Références :

1. Petry S, Py JS, Wilhelm A, Duquesne F, Bâyon-Auboyer MH, Morvan H, et al. 2019. Evaluation of MALDI-TOF MS and a custom reference spectra expanded database for identification and differentiation of *Taylorella equigenitalis* and *Taylorella asinigenitalis*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 94:326-330.
2. AFNOR, 2012. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de *Taylorella equigenitalis* à partir de prélèvements génitaux d'équidés. NF U47-108:1-15.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P18

Microbiologie clinique

Place du milieu chromogène chromID CPS Elite Agar dans la détection des uropathogènes émergents

David Robert (d.robert@exalab.fr), Jordi Pacaud, Sophie Zaffreya, Delphine Boraud

Plateau Technique Microbiologie - LH1, Groupe LABEXA -filiale Exalab, Le Haillan, France

Introduction :

Les bactéries impliquées dans les infections urinaires sont classiquement détectées sur les milieux gélosés standards. Chez la personne âgée ou en cas de pathologie urologique, des espèces plus exigeantes, regroupées sous le terme d'uropathogènes émergents (UE) ont été décrites : *Aerococcus spp.*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Actinotignum schaalii*, *Trueperella spp.* et *Alloscardovia omnicolens*. Pour les détecter, le Rémic préconise d'ensemencer un milieu de culture enrichi au sang incubé sous CO₂ ou en anaérobiose pendant 48 heures.

Objectifs, matériel et méthode :

Entre le 28/12/2020 et le 28/03/2021, nous avons évalué les performances du milieu ChromID CPS Elite Agar (CPSO, Biomérieux) dans la détection des UE en culture standard (24 heures en aérobiose) chez le sujet symptomatique de plus de 65 ans, sans dispositif endo-urinaire avec leucocyturie significative. Deux jours par semaine (mardi et mercredi), les échantillons stériles à 24 heures ont été réensemencés sur 3 milieux enrichis au sang (culture étendue : Columbia + 5% de sang de mouton (COS) et Chocolat PolyViteX incubées sous CO₂ et COS en anaérobiose pendant 48 heures).

Résultats :

Parmi les 9590 échantillons analysés sur CPSO, nous avons isolé 94 UE (74 *Aerococcus spp.*, 20 *Lactobacillus delbrueckii*). 5632 ITU ont été diagnostiquées dont 57 à UE (>10⁵ UFC/ml, culture monomorphe) soit une incidence d'environ 1 % sur la période de l'étude. Par rapport à la culture standard, la culture étendue (n=208) a permis de mettre en évidence 3 infections potentielles à UE : 2 *Actinotignum schaalii* et 1 *Trueperella bernardiae*.

Conclusion :

Chez le sujet symptomatique de plus de 65 ans, sans dispositif endo-urinaire avec leucocyturie significative, l'uroculture étendue à 48 heures sur des milieux au sang incubés sous CO₂ ou en anaérobiose n'apporte pas de bénéfice médico-économique suffisant par rapport à l'uroculture standard sur CPSO, justifiant sa réalisation systématique. En complément de notre approche, une prestation de conseil est proposée aux cliniciens sur les situations pouvant relever d'une recherche ciblée d'UE (patients à risque avec symptomatologie persistante et/ou échec d'une antibiothérapie probabiliste avec culture standard négative). Une culture étendue pourra alors être réalisée sur demande explicite.

Mots clés : Uropathogènes émergents - ECBU - *Aerococcus* - *Lactobacillus delbrueckii* - *Actinotignum schaalii*.

Références :

1. Le Brun C, Robert S, Bruyere F, Lanotte P. Mise au point : les uropathogènes émergents. Prog Urol. 2015 Jun;25(7):363-9.
2. Rasmussen M. Aerococci and aerococcal infections. J Infect. 2013 Jun;66(6):467-74

MC-P Microbiologie clinique

MC-P19

Microbiologie clinique

Profil épidéiologique des bactériémies associées aux soins au niveau du CHU Mohamed VI d'Oujda-Maroc

Abderrazak Saddari (saddariabderrazak@gmail.com), Soumaia Farih, Noussaiba Benhamza, Loubna Yacoubi, Adnane Aarab, Adil Maleb

Laboratoire Central, CHU Mohammed VI, Oujda, Faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed Premier, Oujda, Oujda, Maroc

Introduction :

Une bactériémie associée aux soins (BAS) est définie par une infection survenant après un délai de deux jours par rapport à l'entrée du patient dans le service avec au moins une hémoculture positive (justifiée par des signes cliniques), sauf pour certains germes où deux hémocultures positives sont exigées. Le diagnostic d'une bactériémie se fait grâce à une hémoculture, prélèvement qui consiste à mettre en culture du sang qui normalement stérile

Matériel et méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective de 27 mois allant de 08/06/2016 à 11/09/2018, portant sur l'ensemble des hémocultures positives traitées au laboratoire de microbiologie chez les patients hospitalisés au CHU MOHAMED VI D'OUIDA et ayant présenté une bactériémie associée aux soins durant la période d'étude. Les échantillons étaient traités conformément aux recommandations du référentiel en microbiologie médicale (REMIC).

Résultats et discussion :

Sur 863 hémocultures positives, 176 étaient associées aux soins (20,39%), le sexe masculin est légèrement prédominant (56,25%). Les services de réanimation étaient en tête de liste des services touchés par BAS. 233 souches bactériennes ont été identifiées. Les Cocci à Gram positif étaient à l'origine de 52,22% des bactériémies associées aux soins et les bacilles à Gram négatif étaient responsables de 42,49% alors que les bacilles à Gram positif ne représentaient que 1,29%. Les espèces les plus fréquemment isolées étaient *Staphylococcus epidermidis* (15.45%) *Staphylococcus aureus* (11.16%) *Klebsiella pneumoniae* (15.88%) et *Acinetobacter baumannii* (10,30%).

Conclusion :

Les bactériémies associées aux soins constituent un problème majeur de santé publique. Face à l'émergence et l'accroissement de la résistance bactérienne aux antibiotiques, la rationalisation de l'antibiothérapie initiale et le renforcement des mesures d'hygiène en milieu hospitalier, deviennent une obligation. Ainsi que, la création d'un programme de lutte contre les infections nosocomiales.

Mots clés : Bactériémies - Bactériémie associée aux soins - Hémoculture.

MC-P Microbiologie clinique

MC-P20

Sensibilité des *Entérobactéries productrices de bêta lactamases à spectre étendue* à la Fosfomycine, Nitrofurantoïne, et Sulfaméthoxazole-triméthoprim

Ali Azghar (a.azghar@ump.ac.ma), Adnane Mohammed Naili, Adnane Aarab, Soufiane beyyoudh, Imad Mahi, Adil Maleb

Laboratoire de microbiologie, Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI, OUJDA, Maroc

Introduction-Objectif :

Les infections urinaires à entérobactéries productrices de bêta lactamases à spectre étendue (E-BLSE) constituent un problème de santé publique. Elles conduisent à une surprescription de molécules de derniers recours tels les carbapénèmes, ce qui complique le phénomène de résistance. Fosfomycine, Nitrofurantoïne, et Sulfaméthoxazole-Triméthoprim, sont des antibiotiques oraux indiqués dans le traitement d'infections urinaires non compliquées, qui gardent une activité vis-à-vis des entérobactéries avec le minimum d'impact sur la résistance bactérienne. Le but de ce travail est de préciser le profil épidémiologique des (E-BLSE) uropathogènes et décrire leur niveau de résistance à la Fosfomycine, Nitrofurantoïne, et Sulfaméthoxazole-triméthoprim.

Matériels et méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective sur une période de trois ans (du 22/03/2016 au 11/04/2019), incluant toutes les demandes d'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) diagnostiqué au centre hospitalier universitaire Mohammed VI OUJDA. Les techniques utilisées sont conformes aux instructions du REMIC. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches réalisée selon les recommandations du comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie EUCAST guidelines (EUCAST).

Résultats, discussion et conclusion :

Nous avons colligé 23 217 demandes d'ECBU. Nous avons eu 1013 infections du tractus urinaire. Parmi lesquels nous avons eu 866 entérobactéries. 144 étaient positifs pour des espèces d'entérobactéries produisant des β -lactamases à spectre étendue, dominées par *Escherichia coli* n=72 suivis par *Klebsiella pneumoniae* n=43. Les taux de résistance des E-BLSE étaient 11 % pour la Nitrofurantoïne, 16 % Fosfomycine-Trométamol, 17 % pour la Fosfomycine, 73 % pour la Ciprofloxacine, et 76 % Sulfaméthoxazole – Triméthoprim. Les taux de sensibilité pour la Nitrofurantoïne, la Fosfomycine et la Fosfomycine-Trométamol, obtenus pour les isolats de E-BLSE, confirme leurs places dans les recommandations du traitement des infections urinaires basses à entérobactéries multirésistantes, et encourage leurs utilisations, ce qui pourrait réduire la sélection de mutants résistants.

Mots clés : Enterobacteries - bêta lactamase a spectre étendue - Fosfomycine - Nitrofurantoïne - Fosfomycine-Trométamol.

MI-P Microbiotes et interactions microbiennes

MI-P01

Contribution of Type VI Secretion System in Adherent-Invasive *Escherichia coli* to compete with intestinal microbiota

Hélène Botchorichvili¹ (helene.botchorichvili@uca.fr), Elisabeth Billard², Sébastien Massier², Michael Rodrigues², Benoit Chassaing³, Nicolas Barnich²

¹ M2iSH, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

² Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

³ INSERM, Paris, France

Introduction and objectives:

Adherent Invasive *Escherichia coli* (AIEC) has a high capacity to implant itself in the microbiota of people with digestive inflammatory diseases, such as Crohn's disease. This selective advantage is acquired by dint of its genome plasticity that helped it to gain lots of mutations and consequently to use advantageous mechanisms, compared to other bacteria. Among other mechanisms, the type 6 secretion system (T6SS) is a molecular machinery that allows AIEC to secrete effectors in target cells lumen. AIEC possess two functional T6SS, the first (T6SS-1) would secrete effectors against bacteria from digestive microbiota, and the second (T6SS-2) would preferably target eukaryotic cells. Hence, the objective of this study is to observe the impact caused by AIEC's T6SS in mice on a mucosa-associated microbiota (ileum and colon) in order to identify potential bacterial preys of this secretion system.

Materials and methods:

Four isogenic mutants have been generated in AIEC LF82 reference strain: LF82ΔT6SS-1; LF82ΔT6SS-2; LF82ΔT6SS-1,2 and LF82ΔTle3 (an identified phospholipase effector from the T6SS-1). Wild-type mice have been infected with AIEC LF82 and the different isogenic mutants for 4 consecutive days at 10⁹ bacteria/ml. Then, 3 days post-infection different groups of mice have been sacrificed. Samples from colon, ileum and feces have been recovered for DNA extraction to analyse microbiota composition by 16S illumina sequencing approach.

Results, Discussion and conclusion:

Variations of fecal microbiota beta diversity between d0 and d10 were observed in mice infected with AIEC LF82. Interestingly, this variation is different when mice are challenged with the LF82ΔT6SS-1,2 invalidated for both T6SS or with LF82ΔT6SS-1. These results signal that T6SS, especially T6SS-1, has a major impact on mice microbiota. In addition, analysis using linear discriminant analyzes (LDA) helps us identify several genera or bacterial species, targeted by AIEC's T6SS. For example, the genus *Oscillospira*, described as positively associated with leanness and physiological health, drops remarkably in the presence of T6SS. Analysis of microbiota associated to intestinal mucosa in mice infected with AIEC LF82 and the T6SS mutants should confirm bacterial preys of AIEC bacteria.

Mots clés : Intestinal Microbiota - AIEC pathobionte - Type 6 secretion system.

MI-P Microbiotes et interactions microbiennes

MI-P02

Dynamics of conjugation within bacterial biofilmsSarah Djermoun¹ (sarah.djermoun@ibcp.fr), Daniel Rode², Christian Lesterlin¹, Knut Drescher², Sarah Bigot¹¹ *Microbiologie Moléculaire et Biochimie Structurale (MMSB), CNRS UMR5086 Université de Lyon, Lyon, France*² *Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Philipps-Universität, Marburg, Germany*

The global spread of antibiotic resistance among pathogenic bacteria increases exponentially and is now recognized as a main threat to worldwide human health. Dissemination of drug resistance is mainly due to the capacity of bacteria to acquire new DNA by bacterial conjugation which consists in the transfer of genetic material from a donor cell to a recipient cell by direct contact. Due to its biological importance, many studies have focussed on conjugation, thus providing an integrated understanding of this mechanisms at the molecular level. However, the dynamics of conjugation within bacterial communities remain largely elusive. Indeed, in natural and clinical environment, bacteria predominantly live in spatially structured communities termed biofilms, in which a self-produced extracellular matrix holds the cells together. Cells within biofilms display phenotypic heterogeneity due to the spatially varying microenvironments that are characteristic for such communities. These complex structures offer protection against potentially toxic compounds such as antimicrobial drugs, thus limiting the efficiency of conventional antimicrobial therapy. Most importantly, it has been reported that the biofilm lifestyle facilitates DNA transfer by conjugation and could therefore be a niche that promotes the dissemination of drug-resistance determinant. However, due to previous technological limitations, this hypothesis has not been tested directly and remains to be investigated in live-cells using modern experimental approaches. To provide a comprehensive view of the dynamics, the extent and the impact of bacterial conjugation within 3D biofilms, we have developed genetic tools that allow the microscopy visualization in real time of DNA transfer. We focus on the broad-host range conjugative plasmid RP4 widely implicated in the spread of resistance to antibiotics and shown to be transferred between most Gram-negative bacterial. We have developed monitoring-plasmid to report DNA transfer at the single cell level by microscopy. We first quantified its efficiency of transfer within planktonic *Escherichia coli* cells. Then, the plasmid RP4 dissemination was visualized in real time into a monolayer population and within a 3D biofilm of *E. coli*. Our results show an interesting role of bacterial structures on the conjugation dynamics of the plasmid RP4.

Mots clés : Bacterial conjugation - Biofilm - Fluorescence microscopy.

MI-P Microbiotes et interactions microbiennes

MI-P03

New insights into cow holobiont in relation to heath

Sergine Even¹ (sergine.even@inrae.fr), Mahendra Mariadassou², Xavier Nouvel³, Fabienne Constant^{4,5}, Diego Morgavi⁶, Lucie Rault¹, Sarah Barbey⁷, Emmanuelle Helloin⁸, Olivier Rué^{2,9}, Sophie Schbath², Frédéric Launay⁷, Olivier Sandra¹⁰, Rachel Lefebvre¹¹, Yves Le Loir¹, Pierre Germon⁸, Christine Citti³

¹ UMR1253 STLO, INRAE/Institut Agro, Rennes, France

² MaIAGE, INRAE/Université Paris Saclay, Jouy-en-Josas, France

³ UMR1225 IHAP, INRAE, Toulouse, France

⁴ BREED, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maison-Alfort, France

⁵ BREED, Université Paris-Saclay, UVSQ, INRAE, Maison-Alfort, France

⁶ UMR1213 Herbivores, INRAE, Saint-Genès-Champagnelle, France

⁷ DEP, INRAE, Gouffern-en-Auge, France

⁸ UMR1282 ISP, INRAE/Université François Rabelais, Tours, France

⁹ BioinfOmics, MIGALE bioinformatics facility, INRAE/Université Paris Saclay, Jouy-en-Josas, France

¹⁰ BREED, Université Paris-Saclay, UVSQ, INRAE, Jouy-en-Josas, France

¹¹ UMR1313 GABI, INRAE, Jouy-en-Josas, France

Introduction and aims:

Infectious diseases have been traditionally considered as the result of the bipartite interaction between a given pathogen and its host. Recent advances in high-throughput sequencing technology have uncovered the complexity of the various microbiotas associated with the host and symbiotic microbiota have emerged as a main player of the infectious process.

In cattle, major efforts have been devoted to the characterization of the microbiota associated to different anatomical sites in relation to animal performance and health. However, these have mainly focused on the comparison of microbiota of healthy versus diseased animals. Issues that remained to be addressed include the role in disease development of the microbiota associated to the affected organ or located at remote body sites.

This study aimed at exploring the bovine holobiont throughout the lactation, in relation to the genetic susceptibility to mastitis.

Material and methods:

Over one thousand samples were collected from 45 primiparous prim' Holstein cows selected from two divergent lineages that are respectively more or less susceptible to mastitis. Sampling were performed at 4 time points from 1 week pre-partum to 7 months post-partum and from 4 anatomic sites: nasal, genital, buccal (as a proxy for rumen), and foremilk (as a proxy for internal teat microbiota). Microbiota was determined through 16S rRNA gene metabarcoding sequencing and analyzed with regard to several metadata including anatomic sites, time, animal and genotype (susceptibility to mastitis).

Results and discussion:

The specific design of this study reveals both the independence of the sites and their interdependence. The anatomic site is among the most structuring factors of bacterial communities but overlap of the communities associated to the 4 sites is observed at the animal level. Time was shown to significantly modulate microbiota composition at all sites, nasal and buccal microbiota being the most affected. The genotype (susceptibility to mastitis) showed only a very poor impact on these microbiota. Exploration of the relationship between microbiota and health-related metadata is in progress.

This work is part of the MICROCOSM project funded by the INRAE Metaprogramme MEM.

Mots clés : Bovine - Holobiont - Susceptibility to mastitis.

MI-P Microbiotes et interactions microbiennes

MI-P04

Bovine mammary gland microbiota et immune response

Sergine Even¹ (sergine.even@inrae.fr), Lucie Rault¹, Pierre-Alexandre Lévêque^{1,2}, Sarah Barbey³, Frédéric Launay³, Hélène Larroque⁴, Yves Le Loir¹, Pierre Germon⁵, Jocelyne Guinard-Flament²

¹ STLO, INRAE/Institut Agro, Rennes, France

² PEGASE, INRAE/Institut Agro, Rennes, France

³ DEP, INRAE, Gouffern-en-Auge, France

⁴ GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, Castanet-Tolosan, France

⁵ ISP, INRAE, Université François Rabelais, Tours, France

Introduction and aims:

Bovine mastitis is an inflammation of the mammary gland generally due to an infection. It is responsible for considerable economic losses in dairy farms. Preventive and curative strategies that mainly rely on antibiotic therapies are not totally effective and contribute to antibiotic resistance dissemination, prompting the need for alternative or complementary strategies. We previously established a link between teat cistern microbiota composition and bovine mastitis in quarters which had different histories regarding mastitis [1]. In this study, to further decipher the relationships between teat cistern microbiota and immune and microbial responses, a switch from twice- to once-daily milking (ODM) was used to trigger an udder perturbation.

Material and methods:

A switch to ODM was used in 31 initially healthy quarters of dairy cows. Immune and microbial responses including determination of teat microbiota were monitored just prior to the transition (day 0), and 3 and 14 days following transition to ODM.

Results and discussion:

A temporal relationship was reported between initial teat cistern microbiota composition and richness, the immune response to ODM, and mastitis development. Quarters with a low initial microbiota richness and taxonomic markers such as Bacteroidetes and Proteobacteria were associated with a higher rate of mastitis during ODM. Quarters with a higher richness and taxonomic markers such as Firmicutes, *Bifidobacterium* and *Corynebacterium* displayed early inflammation following transition to ODM but without developing mastitis (no infection). Short-term evolution of microbiota indicates that microbiota with a higher initial richness were more strongly altered by transition to ODM, with notably the disappearance of rare OTUs. Microbiota modifications were associated with an early innate immune system stimulation, which, in turn, may have contributed to the prevention of mastitis development [2]. These results suggest a role of the bovine teat microbiota composition and richness in the immune response of the mammary gland during perturbations such as transition to ODM or pathogen entrance. They invite us to consider strategies that can preserve teat microbiota diversity and taxa associated to a healthy status for the design of next-generation probiotics.

Mots clés : Mastitis - Mammary gland microbiota - Immune response.

Références :

1. Falentin H, Rault L, Nicolas A, Bouchard DS, Lassalas J, Lamberton P, et al. 2016. Bovine Teat Microbiome Analysis Revealed Reduced Alpha Diversity and Significant Changes in Taxonomic Profiles in Quarters with a History of Mastitis. *Front Microbiol.* 7:480.
2. Rault L, Lévêque P-A, Barbey S, Launay F, Larroque H, Le Loir Y, et al. 2020. Bovine Teat Cistern Microbiota Composition and Richness Are Associated With the Immune and Microbial Responses During Transition to Once-Daily Milking. *Front Microbiol.* 11:602404.

MI-P Microbiotes et interactions microbiennes

MI-P05

Fusobacterium nucleatum Extracellular Vesicles Modulate Gut Epithelial Cell Innate Immunity via FomA and TLR2Camille Martin-Gallausiaux¹ (cmartingallausiaux@gmail.com), Antoine Malabirade¹, Janine Habier¹, Paul Wilmes^{1,2}¹ Luxembourg Centre for Systems Biomedicine, University of Luxembourg, Esch-sur-Alzette, Luxembourg² Department of Life Sciences and Medicine, University of Luxembourg, Belvaux, Luxembourg

Extracellular vesicles (EVs) derived from the gut microbiota are largely uncharacterized and their impacts on host intestinal physiology remain unresolved. Here, we isolated EVs from *F. nucleatum* for detailed characterization. Our analyses highlight the presence of the outer membrane protein porin FomA on EVs. Besides, we evaluated the impact of EVs on human intestinal epithelial cells (IECs) in a non-inflammatory context. Our results show no detrimental impact on the epithelial barrier. No internalization of EVs was observed. Moreover, we demonstrate that *F. nucleatum* EVs trigger innate immunity of IECs by promoting NF- κ B activation via the dynamin-mediated endocytosis. The NF- κ B activation was found to be TLR2-dependent yet, TLR4 was dispensable. Using competitive binding assays, we establish that FomA is involved in the NF- κ B response. Taken together, our data indicate that EVs induce effects similar to those observed with whole *F. nucleatum* bacteria on IECs. In particular, our study highlights the role of TLR2 and FomA as modulators of the gut epithelium immune responses to *F. nucleatum*.

Mots clés : Extracellular vesicles - Fusobacterium - Intestinal epithelium cell - Innate immunity.

MI-P Microbiotes et interactions microbiennes

MI-P06

Sélection de bactéries productrices d'auto-inducteurs de type AI-2 et optimisation de la production dans des aliments modèles

Raouf Tareb¹ (raouf.tareb@oniris-nantes.fr), Lenaïg Brulé¹, Agnès Bouju¹, Mikhaël Croyal², Gwenaël Jan³, Anne Meynier⁴, Jean-Pierre Segain⁵, Michelle Viau⁴, Xuan Zhao¹, Catherine Michel⁵, Marie-France Pilet¹

¹ SECALIM, INRAE, Oniris, Nantes, France

² Mass Spectrometry Core Facility, CRNH-O, Nantes, France

³ STLO, INRAE, Institut Agro, Rennes, France

⁴ BIA, INRAE, Nantes, France

⁵ PHAN, INRAE, Université de Nantes, Nantes, France

De nombreuses bactéries produisent des molécules signal (auto-inducteurs) qui leur permettent d'activer des fonctions en lien avec leur adaptation à leur environnement biotique et abiotique lorsqu'elles atteignent des concentrations élevées (quorum-sensing). Dans le cadre d'un projet interdisciplinaire financé par INRAE, nous cherchons à déterminer si certaines de ces molécules signal produites dans les denrées alimentaires pourraient moduler le microbiote intestinal. En effet, compte tenu de leurs natures chimiques, certaines de ces auto-inducteurs pourraient résister à la digestion et donc agir sur le microbiote intestinal. De fait, bien que l'implication « naturelle » du quorum-sensing au sein des microbiotes digestifs ne soit pas établie, certaines études récentes témoignent de leur réceptivité à des auto-inducteurs exogènes chez la souris. En outre, l'administration de bactéries dotées d'une capacité à inhiber le quorum-sensing (quorum-quenching) a été montrée capable de moduler la composition du microbiote intestinal dans d'autres modèles animaux. Notre premier objectif a été de réaliser un criblage d'une cinquantaine de souches de bactéries lactiques d'intérêt (ferments, probiotiques, bactéries protectrices) pour leur production d'auto-inducteurs de type 2 (AI-2) en utilisant un système rapporteur d'induction de la luminescence avec des souches reproductrices de *Vibrio campbelli*. Plusieurs souches ont permis d'induire la luminescence chez la souche reproductrice, avec une intensité variable, cette production d'AI-2 étant généralement corrélée à la présence du gène *luxS* dans leur génome. Des souches appartenant aux espèces *Lactococcus piscium*, *Lactococcus lactis* et *Propionibacterium freudenreichii* ont été sélectionnées afin d'optimiser la production de ces auto-inducteurs sur des milieux modèles d'aliment : ultrafiltrat de lait et jus de poisson. La quantification des molécules d'AI-2 détectée par luminescence dans ces conditions a été réalisée par dosage en spectrométrie de masse. Ces modèles d'aliments enrichis en AI-2 d'origine microbienne seront utilisés dans la suite du projet pour évaluer le devenir digestif des auto-inducteurs au cours de tests de digestibilité *in vitro* et leurs impacts sur le microbiote intestinal, en particulier lors de sa constitution néonatale.

Mots clés : Quorum-sensing - Luminescence - LuxS - Lactococcus - Propionibacterium.

MI-P Microbiotes et interactions microbiennes

MI-P07

Transmission of Seed Microbiota to Seedling and Contribution to Plant Response to a Soilborne Fungal Pathogen

Aude Rochefort¹ (aude.rochefort@gmail.fr), Marie Simonin², Coralie Marais², Anne-Yvonne Guillerm-Erckelboudt¹, Matthieu Barret², Alain Sarniguet²

¹ UMR 1349 IGEPP, INRAe, Le Rheu, France

² UMR 1345 IRHS, INRAe, Beaucozéz, France

Background:

Plant microbiota can modulate host fitness. Understanding the ecological processes that drive microbiota assembly is a prerequisite for promoting plant growth and health via the manipulation of its composition. Seed and soil are two main sources of plant microbiota inoculate and are therefore critical for its assembly.

Objective:

We ask how the resident seed community can be favored or not at the expense of the soil invasive community when seed encounters soil. We ask about the influence of seed microbiota on the development of a soilborne disease on germinating seeds and seedlings.

Methods:

The outcome seedling community compositions (metabarcoding of gyrB, ITS markers) were assessed with soils of contrasting microbial diversity and with distinct *Brassica napus* seed samples. Impact of these different levels of initial seed and soil diversities on plant disease was monitored during inoculation with the pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*. Bacterial synthetic communities (SynCom) were also inoculated on seed.

Results:

Soil diversity but not seed diversity modulates seedling microbiota structure in roots and stems. The encounter or coalescence of seed and soil microbiota is clearly asymmetrical in favour of soil probably because of microbial soil mass effect. Overall, seedling favours the emergence of seed- and soil-borne rare taxa. No link between initial seed microbiota, seedling microbiota and disease could be established. This result maybe explained in part because of potential variation of seed microbiota composition of a same seed lot. To reduce this variation, we inoculated seeds with bacterial SynComs composed of the most abundant and prevalent taxa isolated from seed. The transmission of these SynComs was subsequently monitored. Their inoculation on seed impacts seedling microbial diversity and disease.

Conclusion:

Coalescence knowledge, transmission of rare taxa from seed to seedling and synthetic community using give new inputs to drive seedling microbiota assembly and disease reduction.(1,2)

Mots clés : Microbiote - Transmission - Graine - Plantule - Sol.

Références :

1. Rochefort A., Briand M., Marais C., Wagner, M-H., Laperche A., Vallée P., Barret M., Sarniguet A. 2019. Influence of environment and host plant genotype on the structure and diversity of the Brassica napus seed microbiota. *Phytobiomes journal*, Vol.3 (4), p.326-336.
2. Rochefort A, Simonin M, Marais C, Guillerm-Erckelboudt AY, Barret M, Sarniguet A. Transmission of Seed and Soil Microbiota to Seedling. 2021.mSystems. Jun 8:e0044621 Epub ahead of print.

MI-P Microbiotes et interactions microbiennes

MI-P08

Interactions between *S. aureus* and *Candida*: impact on TSST-1 production

Audrey Saugues (audrey.saugues@etu.univ-lyon1.fr), Alexia Barbry, Cédric Badiou, Gérard Lina

Equipe Pathogénie des Staphylocoques, CIRI, Lyon, France

Introduction and objectives:

The menstrual staphylococcal toxic shock syndrome (mTSS) is caused by proliferation of a strain of *S. aureus* and toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) production when women use intravaginal protections. The mTSS could be promoted by vaginal microbiota alteration. Indeed, in the vagina, *Candida albicans* is over represented when *S. aureus* was found, questioning its impact on TSST-1 production. The objective of this work was to determine whether *C. albicans* promotes TSST-1 production and how its mechanism.

Materials and methods:

To determine the dependent nature of the overproduction of TSST-1, cocultures with different *S. aureus* strains (6 strains from menstrual shock), and different buffered culture supernatants of *Candida* species (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*) were performed. ELISA assays allowed to quantify the production of TSST-1 by *S. aureus* in presence of culture supernatant of *Candida*. To understand which regulation mechanism was involved, a kinetic analysis of transcriptional variation of potential regulators of TSST-1 (quorum-sensing *agr*, two components' systems SaERS and SrrAB and regulatory proteins like SarA) in *S. aureus* was performed by qRT-PCR. Moreover, to orient the nature of the molecule secreted by *Candida* sp. responsible for this overproduction, these same co-cultures were carried out using supernatants inactivated by heat (1h, 100 ° C).

Results, discussion and conclusion:

The overproduction of TSST-1 was observed with all *S. aureus* strains and *Candida* species tested (from 3 different genetic backgrounds) showing the involvement of a mechanism common to the *Candida* genus in the virulence regulation of *S. aureus*. The heating of *C. albicans* supernatant did not impact the TSST-1 production by *S. aureus* suggesting the modulation of virulence by heat-resistant *C. albicans* secreted molecule. Concerning the transcriptional study, none of main regulators of *tst* gene were involved in this overproduction, at least from the exponential phase of bacterial growth. These results suggest a multifactorial mechanism and/or taking place before the exponential phase of bacterial growth.

Mots clés : Staphylococcus aureus - Candida albicans - Regulation - Virulence.

MI-P Microbiotes et interactions microbiennes

MI-P09

Interspecific interactions that affect ageing: introducing the concept of age-distortersJérôme Teulière (jerome.teuliere@mnhn.fr), Charles Bernard^{1,1}, Eric Bapteste*Equipe Adaptation, Intégration, Réticulation, Évolution (AIRE), Institut de Systématique, Evolution, Biodiversité (ISYEB), Paris, France*

Genetic causes for ageing are traditionally investigated within a species. Yet, the lifecycles of many organisms intersect. Additional evolutionary and genetic causes of ageing, external to a focal species/organism, may thus be overlooked. Biological entities we named “age-distorters” (Teulière et al. 2021) may carry ageing interfering genes, used to manipulate the biological age of other entities upon which the reproduction of age-distorters relies, e.g. age-distorters bias the reproduction/maintenance trade-offs of cells/organisms for their own evolutionary interests. Candidate age-distorters include viruses, parasites and symbionts, operating through specific, genetically encoded interferences resulting from co-evolution and arms races between manipulative non-kins and manipulable species. This interference results in organismal ageing when age-distorters prompt manipulated organisms to favor their reproduction at the expense of their maintenance, turning these hosts into expanded disposable soma. By relying on reproduction/maintenance trade-offs affecting disposable entities, which are left ageing to the reproductive benefit of other physically connected lineages with conflicting evolutionary interests, the concept of age-distorters expands the logic of the Disposable Soma theory beyond species with fixed germline/soma distinctions. Moreover, acknowledging age-distorters as external sources of mutation accumulation and antagonistic pleiotropic genes expands the scope of the mutation accumulation and of the antagonistic pleiotropy theories. We will present preliminary results from a bioinformatic search of age-distorters associated to metazoans.

Mots clés : Ageing - Virus - Parasite - Symbiont - Evolution.

Références :

1. Teulière, Bernard and Bapteste, 2021, Ageing Research Reviews, pp.101375

MI-P Microbiotes et interactions microbiennes

MI-P10

Étude de l'impact des perturbateurs endocriniens sur la survie et la virulence de pathogènes bactériensAudrey Thiroux (audrey.thiroux@univ-poitiers.fr)

Laboratoire EBI_UMR 7267, Poitiers, France

Introduction et objectifs :

Des polluants reconnus comme perturbateurs endocriniens (PEs) sont régulièrement mis en évidence dans les ressources aquatiques pouvant servir à la production d'eau de consommation. Bien que leurs concentrations restent à l'état de traces dans l'environnement (nM), ces molécules peuvent s'accumuler chez les populations exposées. En plus d'agir sur le système hormonal, il a été montré que l'exposition aux PEs peut affecter la composition des microbiotes. Cependant peu d'études s'intéressent aux effets d'une exposition aux PEs sur les bactéries pathogènes. Ainsi l'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact de certains PEs sur l'expression de facteurs de virulence chez plusieurs pathogènes bactériens.

Matériels et méthodes :

Quatre bactéries pathogènes opportunistes/pathobiontes de l'Homme ont été étudiées : *Staphylococcus aureus* (SA), *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (SET) et *Escherichia coli* LF82 (LF82). Cinq PEs retrouvées dans l'eau ont été sélectionnés et dosés en région Nouvelle-Aquitaine : Bisphénol A(BPA), phtalate de dibutyle(DBP), éthylparabène(EP), méthylparabène(EP) et triclosan(TCS). Après avoir déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI) de ces composés, la capacité des bactéries à former des biofilms a été évaluée au crystal violet. L'effet des PEs sur la motilité (swim, swarm) a été évalué en milieu LB gélosé supplémenté en PEs.

Résultats, discussion et conclusion :

Les dosages des PEs dans la région révèlent de faibles concentrations (nanomolaire). Seules les CMI en présence de TCS pour SA, LF82 et SET ont été déterminées. L'exposition de PA à 1 nM de DBP ou d'EP et de SA à 1 nM en BPA augmente de façon significative la capacité à former du biofilm. Un effet du swim de PA est observé en présence de BPA et de DBP, avec un phénotype particulier en présence de TCS. Une diminution du swim est observée pour LF82 en présence de BPA et de MP. En conclusion, notre étude montre qu'une exposition à certains PEs, même à des concentrations de l'ordre du nanomolaire, pourrait moduler certains traits de virulence de bactéries pathogènes.

Mots clés : Perturbateurs endocriniens - Pathogènes - Virulence - Biofilm - Motilités.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études**OM-P01****A new method for analyzing the dynamics of individual responses in a stressed yeast population by coupling microscopy video sequence acquisition and image analysis**

Jérémy Adamuz¹ (jeremy.adamuz@agrosupdijon.fr), Emmanuel Denimal², Cédric Grangeteau¹, Sébastien Dupont¹, Laurent Beney¹

¹ UMR Procédés Alimentaires et Microbiologiques, Université de Bourgogne Franche-Comté, AgroSup Dijon, Dijon, France

² Appuis à la recherche, Direction scientifique, AgroSup Dijon, Dijon, France

Introduction and objectives:

The characterization of live biological phenomena is an important issue at both fundamental and applied levels. The use of methods such as flow cytometry or microscopy are common. However, each has its limitations. Flow cytometry is used for the cell population and quantitative aspect while microscopy for the observational and individual aspect. We have developed a method using microscopy coupled with an image analysis script that allows to study each cell in real time and to obtain values for several cellular parameters during a photo-oxidative stress. Script automation enables rapid analysis of several hundred cells.

Materials and methods:

Photo-oxidative stress was induced by exposing the yeast *S. cerevisiae* to laser microscope light excitation to target porphyrins which are photosensitizers. Visualization was made with confocal microscopy in real time. Yeasts were stained with singlet oxygen sensor green, a highly selective probe for singlet oxygen. Using a MATLAB script, the image stack was passed through a median filter to identify regions of interest (ROIs). The object identified in the ROIs were sorted using morphological filters: all shapes that were not compatible with a whole cell were rejected. Then the centroid (barycenter) of each identified cell was calculated as well as the various necessary parameters, in particular the fluorescence profiles.

Results and conclusion:

The analysis of the dynamic sequences was summarised in a graphical representation for each cell showing the average fluorescence intensity, the distance of the fluorescence from the center of the yeast (radius), the radial fluorescence intensity (on a slice plane) versus time. In our case, this made it possible to show the effects of photo-oxidative stress on yeasts (increase in volume, permeabilisation, and production of reactive oxygen species) and provide statistical analysis for different cell death scenarii. This method could be transposed to other cell types and other biological phenomena and provides a complementary real time method of analysis at both individual and population levels.

Mots clés : Two-photon microscopy - Real time - Photo-oxidative stress - Yeast.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études**OM-P02****Étude GWAS de *Mycobacterium abscessus* dans les infections respiratoires et extra-respiratoires**

Kevin La¹ (kevin.la@inserm.fr), Zeina Awad¹, Faiza Mougari², Vichita Ok², Benoit Heid², Antoine Bridier-Nahmias³
Présenté par Emmanuelle Cambau⁴

¹ IAME, UMR1137, service de mycobactériologie spécialisée; CNR-MyRMA, Université de Paris, APHP GHU Nord, Inserm, Paris, France

² Service de mycobactériologie spécialisée et de référence; CNR-MyRMA, APHP GHU Nord, Paris, France

³ IAME, UMR1137, Université de Paris, Inserm, Paris, France

⁴ Germfa - Bactériologie - Hôpital Lariboisière, Paris, France

Mycobacterium abscessus est une mycobactérie non tuberculeuse à croissance rapide responsable d'infections respiratoires et extra respiratoires chez des sujets immunodéprimés et immunocompétents. *M. abscessus* est divisé en trois sous espèces : subsp. *abscessus*, subsp. *massiliense*, et subsp. *bolletii*, cette division étant importante pour le diagnostic et le traitement. Nous avons choisi de focaliser notre étude à *M. abscessus* subsp. *abscessus* parce que c'est la sous espèce la plus fréquemment isolée et la plus résistante aux antibiotiques. Les études génomiques ont été jusqu'à présent orientées vers l'évaluation de la transmission ou les caractères morphologiques des souches. On connaît mal les réservoirs et les sources de transmission mais on sait que le génome de *M. abscessus* subsp. *abscessus* est ouvert et non conservatif. Notre hypothèse était que les souches isolées des infections respiratoires avaient des caractéristiques génomiques différentes avec les souches isolées d'infections extra respiratoires, en particulier pour la résistance aux antibiotiques. Nous avons déterminé les séquences génomiques (Illumina MiniSeq) de 73 souches (47 respiratoires et 26 extra-respiratoires) et les avons comparées avec des outils bio-informatiques de phylogénie et de GWAS (genome wide associated study). Par ailleurs nous avons déterminé les CMI de 14 antibiotiques et étudié les SNPs des gènes connus pour être impliqués dans la résistance. Nos résultats montrent que le génome des souches respiratoire n'est pas différent de celui des souches extra respiratoires, même si nous avons observé des clusters, mais ceux-ci ne sont pas non plus liés aux données épidémiologiques (patients atteints de mucoviscidose), ni à la morphologie des colonies (lisse/rugueuse), ni du génotype *erm41* (t28/c28). L'étude GWAS a montré quelques gènes préférentiellement présents chez les souches respiratoires mais dont on ignore encore la fonction. De nombreux SNPs ont été observés chez les gènes de résistance, et nous avons montré que la résistance à l'amikacine et à la clarithromycine était plus fréquente chez les souches respiratoires, ce qui est probablement lié à la multitude des traitements antibiotiques reçus chez les patients avec une pathologie respiratoire chronique.

Mots clés : *Mycobacterium abscessus* - Génomique - GWAS - Infection respiratoire - Résistance aux antibiotiques.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

OM-P03

La détection électrochimique des métabolites de *Pseudomonas aeruginosa*

Julie Oziat¹ (julie.oziat@gmail.com), Thibaut Cohu², Sylvie Elsen³, Maxime Gougis⁴, Pierre Marcoux², George G. Malliaras⁵, Pascal Mailley⁶

¹ Institut du Cerveau et de la Moelle Épinière, Bioserenity, Paris, France

² DRT / LETI / DTBS / LSIV, CEA Grenoble, Grenoble, France

³ CNRS ERL5261 / BIG, INSERM-CEA-UJF / UMR 1036, Grenoble, France

⁴ DRT / LETI / DTBS / L2CB, CEA Grenoble, Grenoble, France

⁵ Electrical Engineering Division / Department of Engineering, University of Cambridge, Cambridge, Royaume-Uni

⁶ DRT / LETI / DTBS, CEA Grenoble, Grenoble, France

Introduction et objectifs :

La détection et l'identification rapide des bactéries pathogènes est un enjeu majeur dans les domaines du diagnostic clinique comme de l'agroalimentaire. Contrairement à la culture sur milieux chromogéniques ou à la PCR, l'analyse électrochimique des métabolites permet une détection rapide et sans a priori.

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* est étudiée depuis longtemps par électrochimie car son métabolite redox, la pyocyanine, possède un pic d'oxydation très reconnaissable. En utilisant une voltampérométrie à balayage rapide, nous avons démontré qu'il est possible de détecter d'autres métabolites redox propres à différentes souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

Matériels et méthodes :

L'analyse électrochimique classique du pic d'oxydation de la pyocyanine se fait par balayage de potentiel puis par enregistrement du courant. Dans notre travail, nous avons utilisé une méthode permettant un balayage plus rapide tout en augmentant l'amplitude des pics : la voltampérométrie à signaux carrés (SWV).

Ces mesures ont été effectuées grâce à des électrodes en carbone vitreux afin d'obtenir une carte d'identité des métabolites de plusieurs souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Dans un second temps, nous avons utilisé une électrode en polymère conducteur antibiofouling, le PEDOT:PSS, afin d'augmenter encore notre signal.

Les expériences ont été menées avec plusieurs souches de *Pseudomonas aeruginosa* afin de varier les métabolites présents dans le milieu de culture choisi, le LB (Lysogeny Broth).

Résultats, discussion et conclusion :

Nos résultats révèlent plusieurs pics redox lorsque la bactérie est présente. Ces différents pics peuvent être reliés à des molécules sécrétées par *Pseudomonas aeruginosa*, permettant ainsi d'établir une signature électrochimique pour chaque souche.

Grâce à cette méthode il est donc possible d'identifier la souche de *Pseudomonas aeruginosa* en parallèle de la détection de la croissance bactérienne.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa* - Signature électrochimique - Métabolites - Pyocyanine.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

OM-P04

Genetic features of strains of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* circulating in the West of France deciphered by Whole-Genome Sequencing

Cyril Conde¹ (cyril.conde@inrae.fr), Thierry Cochard¹, Maxime Branger¹, Marie-Noëlle Rossignol², Christine Fourichon³, Arnaud Delafosse⁴, Aurore Davergne⁵, Alain Joly⁶, David Ngwa-Mbot⁷, Laurent Journaux⁸, Raphael Guatteo³, Laurent Schibler⁹, Franck Biet¹

¹ INRAE, ISP, Université de Tours, Nouzilly, France

² INRAE, GABI, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, France

³ INRAE, UMR 1300 BIOEPAR, Nantes, France

⁴ Groupement de Défense Sanitaire Orne, Alençon, France

⁵ GDMA, Bois-Guillaume, France

⁶ Groupement de Défense Sanitaire Bretagne, Vannes, France

⁷ GDS France, Paris, France

⁸ Idele, Paris, France

⁹ Allice, Paris, France

Introduction:

Paratuberculosis is a chronic infection of the intestine, mainly the ileum, caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) in cattle and other ruminants. This enzootic disease is present worldwide and has a strong impact on the dairy cattle industry.

For this species, the typing tools do not make it possible to investigate the genetic diversity of the strains. These limitations can be overcome by the application of Whole Genome Sequencing (WGS), particularly for clonal populations such as Map. WGS analyses can provide comprehensive genetic information, including information on genome evolution, discrimination of closely related strains and virulence determinants.

The purpose of the present study was to undertake a whole-genome analysis of Map strains to identify accurate phylogenetic relationships between isolates and establish correlations between genomic traits and epidemiological data within a population of well documented-strains.

Materials and methods:

A set of 200 animal field strains were selected based on a previous large-scale longitudinal study representative of the French Map population circulating in the West of France. Strains were isolated from bovine of breed Prim'Holstein or Normande naturally infected by Map. For each strain isolated, all information about the animal is available including: breed, herd prevalence, locations, serological status and excretion level. The genomic sequences of Map strains were obtained by Illumina MiSeq sequencing. Genomic sequences were assessed for potential contamination using Kraken2. Cleaned reads were aligned to the reference genome K-10 and SNP were called using FreeBayes. IQ-Tree was used to infer a SNP-based phylogeny.

Results, discussion and conclusion:

This study provided 200 new genomes of French strains isolates from naturally infected animals. Pangenome analysis of this panel confirmed the degree of Map clonality.

SNP analyzes provided accurate phylogeny able to distinguish each strain divided into 4 clusters independently of the breed of the cattle. Interestingly, the phylogeny clearly distinct the two major MLVA profiles. A phylogeny was inferred with French Map isolates and with other Map isolates found across the world.

Relations between genetic traits and epidemiological data will be investigated to better understand the transmission dynamics of the disease.

Mots clés : Whole Genome Sequencing - *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* - Phylogeny - Pangenome - Genotyping.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

OM-P05

Whole-Genome Analysis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* IS900 distribution reveals strain type-specific modalities

Cyril Conde¹ (cyril.conde@inrae.fr), Marian Price-Carter², Thierry Cochard¹, Maxime Branger¹, Karen Stevenson³, Richard Whittington⁴, John P Bannantine⁵, Franck Biet¹

¹ INRAE, ISP, Université de Tours, Nouzilly, France

² AgResearch Ltd., Hopkirk Research Institute, Palmerston North, New Zealand

³ Moredun Research Institute, Midlothian, United Kingdom

⁴ Faculty of Science, Sydney School of Veterinary Science, The University of Sydney, Camden, Australia

⁵ USDA-Agricultural Research Service, Ames, United States of America

Introduction:

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* (Map) is the etiological agent of paratuberculosis or Johne's disease that causes chronic intestinal inflammation in ruminants. The IS900 insertion sequence, specific for Map, has been used widely as an epidemiological marker and target for qPCR diagnosis. Recently, thanks to third generation sequencing technologies, the complete genomes of strains belonging to the major phylogenetic lineages of Map have been made available. This has allowed us to investigate the distribution of IS900 in this slow growing bacterium. The objective of this study is to characterize the distribution of the IS900 element and how it affects genomic evolution and gene function of Map. A secondary goal is to develop automated *in silico* restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis using IS900.

Materials and methods:

Complete genomes from the major phylogenetic lineages known as C-type and S-type (including subtypes I and III), were chosen to represent the genetic diversity of Map. Computer analysis included software located IS900 using BLAST and determined fragments from complete genome (FASTA) developed with Biopython. Digital representation was provided using matplotlib. Profile comparisons were carried out using Bionumerics software. Upstream and downstream genomic regions flanking each IS900 copy were extracted and used to identify orthologous insertion site across genomes.

Results, discussion and conclusion:

The program developed in this study allowed automated location of IS900 sequences to identify their positions and their number. Between 16 to 22 copies of the IS900 sequence were found in the genomes studied. Nine IS900 insertion site locations were conserved across all genomes studied while smaller subsets were unique to a particular lineage. An *in silico* RFLP analysis was developed to obtain the exact size of the DNA fragments carrying a copy of the IS900. IS900 RFLP profiles were compared by digital visualization of the restriction fragments separated.

This study provided a program making it possible to automate IS900 distribution analysis in Map genomes to enrich our knowledge on the dynamics of distribution of this IS for epidemiological purposes, for understanding the evolution within the Map species and studying the biological implication of the presence of IS900.

Mots clés : *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* - Insertion sequence IS900 - Evolution - RFLP - Complete genome.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

OM-P06

Biogenesis: une startup spécialisée dans la création et le développement d'outils bioinformatiques au service de la recherche microbiologique

[Lysiane Hauguel](mailto:Lysiane.hauguel@biogenesis-bioinfo.com) (Lysiane.hauguel@biogenesis-bioinfo.com)

Biogenesis, Rouen, France

Biogenesis :

Biogenesis est une start-up Rouennaise créée par Lysiane Hauguel et Benjamin Bourgeois le 26 janvier 2021. Cette startup est entrée chez Normandie Incubation le 12 mai 2021.

Dans le monde de la recherche microbiologique, les chercheurs et biologistes sont confrontés à une masse de données informatiques. Les chercheurs ont besoin de compétences en bioinformatique pour traiter ces données. La bioinformatique est un domaine jeune, les bioinformaticiens étant surchargés par la demande, les chercheurs tentent d'analyser les données par eux-mêmes ou utilisent des logiciels trop compliqués ou non adaptés à leurs données. Cette démarche entraîne une perte de temps et d'argent pour le projet de recherche.

Notre objectif est de proposer des outils bioinformatiques qui permettent aux chercheurs et biologistes de s'affranchir du bioinformaticien. Nos outils permettent aux chercheurs de pouvoir gagner en autonomie en facilitant les analyses bioinformatiques dites de routine (alignement, création de vcf (Variant Call Format), blast, étude du polymorphisme, comparaison d'échantillons).

Biogenesis Data Analyser :

Biogenesis Data Analyser est notre premier outil développé en partenariat avec une équipe de recherche (équipe de biologie comparative des apicomplexes) de l'institut Cochin à Paris dirigée par le PU-PH Frédéric Arieu.

Notre outil a pour objectif de faciliter et d'aider les équipes de recherche dans leur vie quotidienne professionnelle. Nous développons cet outil dans le but de proposer une réponse optimale à la demande des chercheurs et biologistes, pour cela l'outil comporte différentes fonctionnalités :

- Un stockage, une gestion et un accès aux données stockées dans une base de données sécurisée.
- Un Genome Browser permettant de visualiser les génomes, les gènes et les alignements
- Un suivi épidémiologique permettant de suivre l'évolution de pathogènes au cours du temps
- Des analyses bioinformatiques plus poussées :
 - alignement contre génome de référence
 - extraction, étude et comparaison des gènes et des mutations entre échantillons
 - visualisation des copy number variation (CNV) le long du génome
 - phylogénie
 - blast

De futures mises à jour auront lieu prochainement pour ajouter de nouvelles fonctionnalités comme l'identification d'espèces dans des données métagénomiques.

Mots clés : Bioinformatique - Application web - Bactérie - Autonomie - Analyses.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

OM-P07

Analysis of French Isolates of *Enterococcus cecorum*: antimicrobial resistance and potential of pathogenicity

Jeanne Laurentie^{1,2} (jeanne@laurentie.net), Valentin Loux³, Christelle Hennequet-Antier⁴, Emilie Chambellon⁵, Claire Darrigo⁵, Florent Kempf⁵, Marine Milhes⁶, Julien Deschamps¹, Eric Jouy², Pauline Grippon², Gwenaëlle Mourand², Sylviane Furlan¹, Angelina Trotereau⁴, Jean Le Guennec⁷, Emmanuelle Helloin⁴, Romain Briandet¹, Catherine Schouler⁴, Isabelle Kempf², Pascale Serror¹

¹ Micalis Institute, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

² UMBA, ANSES Ploufragan-Plouzané-Niort, Ploufragan, France

³ Maïage, Université Paris-Saclay, INRAE, Jouy-en-Josas, France

⁴ UMR BOA, INRAE, Université de Tours, Nouzilly, France

⁵ ISP, INRAE, Université de Tours, Nouzilly, France

⁶ GetPIAge, Toulouse, France

⁷ Labofarm, Loudéac, France

Introduction and objectives:

Enterococcus cecorum is a commensal Gram-positive bacterium of chicken gut [1]. Since 2002, this bacterium has emerged as a worldwide cause of lameness in poultry, particularly in fast growing broilers. *E. cecorum* is responsible for osteomyelitis, spondylitis and femoral head necrosis, that cause animal suffering, mortality and antimicrobial use [2,3]. The *E. cecorum* virulence and antimicrobial resistance of clinical isolates in France is poorly studied and no epidemiological cutoff values (Ecoff) are currently available. The aims are to characterise the diversity of *E. cecorum* isolates circulating in France and to determine the occurrence and mechanisms of their antimicrobial resistance.

Material and methods:

The *E. cecorum* collection was composed of 100 isolates from infectious sites recovered between 2007 and 2017 in 16 French broiler farms, 4 commensal isolates and 14 clinical isolates from other countries. Clinical isolates were analysed for adhesion to type II collagen, biofilm robustness and growth in chicken serum and had their genome sequenced and assembled. Thirty public and non-redundant genomes were included for phylogenetic analysis. The core and accessory genomes were established using Roary. Genome-wide associations (GWAS) between the accessory genes and the phenotypic traits were performed with Scoary. Genomic data were also used to detect antimicrobial resistance genes (ARG). Resistance phenotypes were tested on commensal and clinical isolates (n=223) for 31 antimicrobials by disc diffusion methods (DD). Critical diameters were determined with the normalized resistance interpretation method.

Results, discussion and conclusion:

Based on core-genome alignment, we identified 16 phylogenetic groups of which four harbour more than 15 isolates, indicating clonal relatedness. Only one group contains only non-French strains, indicating that the collection gives a good representation of circulating *E. cecorum*. While there is no direct link between phylogeny and tested phenotypes, GWAS highlighted genes potentially involved in these phenotypes.

We identified 15 acquired ARG, corresponding to observed resistance phenotypes. DD Ecoffs were determined for 25 molecules. More than 30% of isolates are multidrug resistant. As in other countries, the frequency of resistance to tetracycline, macrolides and lincosamides is relatively high. However, resistance to vancomycin and most of antibiotics important for human medicine remains low.

Mots clés : *Enterococcus cecorum* - WGS - Antimicrobial Resistance - Pathogenicity.

Références :

1. Devriese LA, Dutta GN, Farrow JAE, Van De Kerckhove A, Phillips BA. *Streptococcus cecorum*, a New Species Isolated from Chickens. 1983. Int J Syst Bacteriol. 33(4):7726.
2. Borst LB, Suyemoto MM, Sarsour AH, Harris MC, Martin MP, Strickland JD, et al. Pathogenesis of Enterococcal Spondylitis Caused by *Enterococcus cecorum* in Broiler Chickens. 2017. Vet Pathol. 54(1):6173.
3. Herdt PD, Defoort P, Steelant JV, Swam H, Tanghe L, Goethem SV, Vanrobaeys M. *Enterococcus cecorum* osteomyelitis and arthritis in broiler chickens. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift. 2008;5.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

OM-P08

Mise au point d'une base spectrale permettant l'identification spécifique du génogroupe 6 / *Stenotrophomonas maltophilia sensu stricto* par MALDI TOF

Ronan Le guen¹ (ronan.leguen@aphp.fr), Florian Guyon², Laurine Perigueux¹, Mélanie Mercier-Darty^{1,2}, Jean Winoc Decousser^{1,2}, Guilhem Royer^{1,2}

¹ Département de Prévention, Diagnostic et Traitement, CHU Henri Mondor, Créteil, France

² DYNAMYC EA 7380, UPEC, Créteil, France

Introduction et objectifs :

De par son importante diversité génétique, différentes sous-populations génétiquement distinctes appelées génogroupes ont été décrites chez *Stenotrophomonas maltophilia*, avec une distribution inégale chez l'Homme, l'animal et l'environnement. Depuis 2018 et l'application de la taxonomie génomique, *S. maltophilia* est désormais considéré comme un complexe¹, regroupant différentes sous-populations génétiquement distinctes autour de l'espèce *S. maltophilia sensu lato*, qui comporte les génogroupes anciennement décrits. Au sein de cette espèce est retrouvée le génogroupe 6 qui constitue désormais l'espèce *S. maltophilia sensu stricto*, très majoritaire chez les souches responsables d'infections chez l'Homme et plus souvent résistante aux antibiotiques. L'objectif de cette étude est de permettre une identification par MALDI TOF (Bruker, USA) de *S. maltophilia sensu stricto*.

Matériels et méthodes :

A partir d'une collection de souches entièrement séquencées et caractérisées phylogénétiquement, une base de données a été constituée sur le logiciel MBT explorer (Bruker, USA) à partir de 90 souches représentatives de la diversité du complexe *S. maltophilia* (10 souches pour les génogroupes les plus représentés, ≤ 5 pour les autres génogroupes). Les performances de la base ont ensuite été évaluées en conditions standard d'utilisation, avec 74 autres souches séquencées.

Résultats :

En utilisant la première identification avec un fort indice de confiance (score ≥ 2) générée par le logiciel MBT compass RUO (Bruker, USA), la base permet de distinguer les souches appartenant au génogroupe 6 de celles des autres génogroupes avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 93,5%. Par ailleurs, certains génogroupes, phylogénétiquement proches, semblent difficilement dissociables mais peuvent être regroupés au sein de complexes : Complexe 2a/2b/4/D/H/F et complexe 1/B/3/J/I/C.

Discussion et conclusion :

La base constituée confirme l'existence d'une correspondance entre les différences de structures protéiques des génogroupes de *S. maltophilia* et leur positionnement phylogénique. L'espèce *S. maltophilia sensu stricto* (génogroupe 6), d'intérêt clinique et potentiellement adaptée à l'Homme, peut être identifiée par MALDI-TOF avec une forte sensibilité/spécificité. Cette approche rapide et accessible aux laboratoires de microbiologie clinique permettra d'évaluer l'intérêt d'une prise en charge spécifique de *S. maltophilia sensu stricto*.

Mots clés : *Stenotrophomonas maltophilia* - Génogroupes - MALDI-TOF - Sensu stricto.

Références :

1. Mercier-Darty et al. 2020, Appl Environ Microbiol, 86(10):e02919-19

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

OM-P09

Deux cas d'infections humaines à *Helicobacter caesarodunensis* : un nouveau pathogène ?

Philippe Lehours^{1,2} (philippe.lehours@u-bordeaux.fr), Lucie Bruhl¹, Adrien Lemaigen³, Quentin Jehanne^{1,2}, Sébastien Eymieux^{3,4}, Astrid Ducournau¹, Chloé Domingues-Martins¹, Emilie Bessède^{1,2}, Cécile Le Brun³

¹ CNR Campylobacters Hélicobacters, CHU Pellegrin, Bordeaux, France

² INSERM U1053, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

³ CHRU de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours, France

⁴ Plateforme IbiSA de biologie cellulaire et microscopie électronique, Université de Tours, Tours, France

Introduction et objectif :

Le genre "*Helicobacter*" comprend à ce jour pas moins de 41 espèces, avec la plus représentée *Helicobacter pylori*. Nous rapportons deux cas d'infections par *Helicobacter caesarodunensis*. Le premier cas correspond à un patient de Tours de 75 ans, suivi pour un lymphome du manteau ayant présenté des bactériémies récidivantes à *Helicobacter sp* sur infection de fistule de dialyse prothétique : premier épisode en mars 2019, puis en décembre 2019, novembre 2020 et décembre 2020. Le deuxième cas correspond à une souche isolée d'une hémoculture prélevée en octobre 2020 d'un patient de 56 ans souffrant d'une LAM, hospitalisé à Bordeaux à l'occasion d'une aplasie fébrile post-chimiothérapie.

Matériels et méthodes :

Les caractéristiques de croissance et biochimiques ont été déterminées. Les résistances aux antibiotiques ont été évaluées selon les recommandations du CASFM. Une approche par microscopie électronique a également été réalisée. Après séquençage sur iSeq 100 (Illumina), les séquences brutes ont été traitées par un « pipeline » d'analyses bio-informatiques interne au CNRCH.

Résultats :

Les deux souches ne poussent qu'en microaérobiose, sur géloses enrichies en sang et à 37°C et 42°C. Elles possèdent une oxydase, une catalase, une nitrate réductase, une estérase et une phosphatase alcaline. Les 2 souches étaient résistantes à l'ampicilline, l'érythromycine et à la ciprofloxacine. La bactérie se présentait sous la forme de bacilles incurvés d'une taille comprise entre 2 et 3 µm de long et 0,3 µm d'épaisseur, avec 2 flagelles amphitriches gainés. Les génomes contiennent environ 1,71 millions de paires de bases. Les scores ANI et DDH de 99,5% en moyenne identifient *H. caesarodunensis*. Il s'agit d'une espèce très rare identifiée en 2017 (Van Der Mee-Marquet *et al.* 2017). Par NGS ont été identifiées les mutations A2147G dans l'ADNr23S associée à la résistance aux macrolides et de la mutation N85F(+D89G pour une souche) dans la QRDR de *gyrA* associée à la résistance aux fluoroquinolones.

Discussion et conclusion :

Nous décrivons ici deux cas d'infections à *H. caesarodunensis* pour 2 patients hospitalisés dans 2 hôpitaux différents. Cet *Helicobacter* peut être associé à des infections invasives récurrentes et considéré comme pathogène chez des patients fragilisés.

Mots clés : Helicobacter - Nouveau pathogène - NGS.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

OM-P10

Adaptation d'une PCR maison de détection de *Helicobacter pylori* et des mutations associées à la résistance aux macrolides, en barrettes PCR prêtes à l'emploi

Lehours Philippe^{1,2} (philippe.lehours@u-bordeaux.fr), Lucie Bruhl¹, Astrid Ducournau¹, Chloé Domingues-Martins¹, Mélanie Lecoœur¹, Alice Blossé^{1,2}, Francis Mégraud^{1,2}, Emilie Bessède^{1,2}

¹ CNR des Campylobacters-Hélicobacters, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

² INSERM U1053, UMR BaRITOn, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

Introduction et objectifs :

La validation d'une PCR dite « maison » est lourde et fastidieuse. Afin de faciliter l'accréditation de la recherche de *H. pylori* par PCR en temps réel, le CNR des Campylobacter et Hélicobacters (CNRCH) a collaboré avec la société Eurogentec pour mettre en place des barrettes de PCR prêtes à l'emploi. L'intérêt de ces barrettes est la délivrance d'un certificat de fabrication en salle blanche et d'un contrôle qualité, mais nécessite l'adaptation de leur PCR maison publiée [Oleastro M 2003].

Matériel et méthodes :

La PCR de détection de *H. pylori* maison requiert la préparation d'un mélange réactionnel dont l'amplification s'effectue en capillaires sur LC2.0 (Roche Diagnostics). Avec les barrettes prêtes à l'emploi, seul l'ADN est à rajouter dans le tube réactionnel. Pour adapter l'amplification en barrettes sur LC480 (Roche Diagnostics), le fluorophore LC640 de la sonde émettrice a été modifié en ATTO647N. Une PCR de contrôle d'extraction à partir de tissu, déjà en routine au CNRCH (ciblage du gène de ménage β -globine), a également été adaptée en barrettes. 61 extraits d'ADN ont été comparés selon les deux méthodes. La stabilité des barrettes a été évaluée dans le cadre du dossier de validation de méthode.

Résultats et discussion :

Les extraits d'ADN comparés par les deux méthodes ont montré 100% de concordance : 25 *H. pylori* négatifs et 36 *H. pylori* positifs (17 clarithromycine sensible, 3 clarithromycine résistant, 16 mélanges clarithromycine sensible/résistant). Le changement de fluorophore a permis des détections plus précoces des cas positifs : gain de 1,5 Ct. Les 2 PCR, *H. pylori* et B-globine, peuvent être réalisées dans un même run, et permettent d'identifier de potentiels problèmes d'extraction ou d'inhibition. A réception, les barrettes sont stockées congelées et ont une durée de validité d'un an. Après décongélation, les barrettes sont stables 3h à température ambiante et 24h à 4°C.

Conclusion :

Ce nouveau conditionnement de PCR permet un gain de temps, un meilleur contrôle des réactifs et va faciliter l'accréditation. Les PCR de détection de *H. pylori* sont réalisées en barrettes depuis février 2019 au CNRCH. Cette évolution technologique est adaptable à d'autres formats de PCR maison.

Mots clés : *H. pylori* - PCR en temps réel - Validation de méthode.

Références :

1. Monica Oleastro, Armelle Ménard, Adriana Santos, Hervé Lamouliatte, Lurdes Monteiro, Philippe Barthélémy, Francis Mégraud. 2003. Real-time PCR assay for rapid and accurate detection of point mutations conferring resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol. 41:397-402.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

OM-P11

Contamination in reference sequence databases: time for divide-and-rule tactics

Valérian Lupo^{1,2} (Valerian.Lupo@doct.uliege.be), Mick Van Vlierberghe¹, Hervé Vanderschuren³, Frédéric Kerff², Denis Baurain¹, Luc Cornet^{1,3}

¹ *Eukaryotic Phylogenomics, University of Liège, Liège, Belgique*

² *Center for Protein Engineering, University of Liège, Liège, Belgique*

³ *TERRA Teaching and Research Center, University of Liège, Gembloux, Belgique*

Introduction and objectives:

Contamination in public genome databases is an issue that has attracted much attention in the past years. Indeed, it has been shown that contaminated databases can lead to artifactual results and incorrect taxonomic inference and annotations. In a previous study [1], we emphasized that the use of multiple methods of detection is the best approach to identify contaminant sequences. Nevertheless, the majority of genomic studies rely on a single method of detection, which can bear a risk of systematic error. In this work, we further investigate the importance of the problem by surveying one of the top reference databases, NCBI RefSeq [2].

Material and methods:

111,088 bacterial genomes were downloaded from RefSeq and analyzed with CheckM [3], the most popular (marker-based) detection method. In parallel, the contamination levels of 12,326 dubious genomes were estimated using Physeter, a MEGAN-like [4] (genome-wide) algorithm developed in our previous study, which uses a database built from 177,288 genomes. Here, we used an upgraded version of its heuristics to overcome the presence of contaminated genomes in reference databases.

Results and discussion:

We show that CheckM gives dubious results for 12,326 genomes, corresponding to 38 bacterial phyla making CheckM reliable only for 14 phyla. By setting a standard threshold of 5% to define a contaminated genome [5], both methods are in agreement for 95.77% of the dubious genomes. Nonetheless, it is still difficult to decide which method is right when the results diverge, but a metagenomic binning on genomes would probably be the way to do it. Despite a low level of contaminated bacterial genomes in RefSeq (0.9%), small amounts of contaminants have the potential to lead to exciting but false conclusions.

Mots clés : NCBI RefSeq - Bacteria - Contamination - Assembly - Phylogenomics.

Références :

1. Cornet L, Meunier L, Vlierberghe MV, Léonard RR, Durieu B, Lara Y, et al. Consensus assessment of the contamination level of publicly available cyanobacterial genomes. *PLOS ONE*. 2018;13:e0200323.
2. O'Leary NA, Wright MW, Brister JR, Ciufo S, Haddad D, McVeigh R, et al. Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic Acids Res*. 2016;44:D733–45.
3. Parks DH, Imelfort M, Skennerton CT, Hugenholtz P, Tyson GW. CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Res*. 2015;25:1043–55.
4. Huson DH, Auch AF, Qi J, Schuster SC. MEGAN analysis of metagenomic data. *Genome Res*. 2007;17: 377–386. pmid:17255551.
5. Bowers RM, Kyrpides NC, Stepanauskas R, Harmon-Smith M, Doud D, Reddy TBK, et al. Minimum information about a single amplified genome (MISAG) and a metagenome-assembled genome (MIMAG) of bacteria and archaea. *Nature Biotechnology* 2017; 35: 725–731.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études**OM-P12****La plateforme Génome et Transcriptome (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, Plateforme GeT-Biopuces, Toulouse, France

La plateforme Génome et Transcriptome 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 - Micro-organismes.

Références :

1. Theil S, Rifa E. 2021. rANOMALY: AmplicoN wOrkflow for Microbial community AnaLYsis [version 1; peer review: 2 approved]. F1000Research. 10:7

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

OM-P13

Caractérisation et cartographie de la diversité génétique de *Yersinia pestis*

Guillem Mas Fiol¹ (guillem.mas-fiol@pasteur.fr), Cyril Savin², Frédéric Lemoine³, Charlotte Balière⁴, Aurélie Kwasiborski⁴, Valérie Caro⁴, Rémi Beau¹, Anne-Sophie Le Guern², Nicolás Rascovan³, Javier Pizarro-Cerda¹

¹ Unité de recherche *Yersinia*, Institut Pasteur, Paris, France

² CNR Peste et autres *Yersinioses*, Institut Pasteur, Paris, France

³ Unité de Paléogénomique Microbienne, Institut Pasteur, Paris, France

⁴ ERI - Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence, Institut Pasteur, Paris, France

Yersinia pestis, the causative agent of plague, is one of the most pathogenic bacteria for humans and was responsible of at least three major pandemics that had a profound impact in human history. The genotyping, cartography and virulence characterization of *Yersinia pestis* strains in a worldwide scheme is thus fundamental for the study of the dynamics behind plague epidemics, to track its circulation and to understand the most recent evolutionary trajectories of this dreadful pathogen. To shed light on these questions, we sequenced a total of 1,134 isolates from the historical collection of strains from the *Yersinia* Research Unit. This collection includes samples from infection foci in 30 countries that were isolated all along the 20th and 21st centuries. In order to reconstruct the phylogenetic history of these samples, together with the >1,300 publicly available modern and ancient *Y. pestis* genomes, we used a new tool developed by the Microbial Paleogenomics Unit allowing to integrate thousands of bacterial genomes both from modern isolates and ancient DNA metagenomes. The resulting trees allowed to infer novel patterns of plague dispersion within countries and continents occurring during the 3rd plague pandemic. Moreover, we analyzed the evolution and the dispersion of numerous strains of *Y. pestis* from major plague outbreaks in Vietnam between 1955 and 1996. Using phylogeographic approaches, we generated a model reconstructing the dispersion of *Y. pestis* strains in Vietnam, with the aim of testing for epidemiological hypotheses allowing to unravel possible environmental and/or social factors that may be associated with the maintenance and spread of plague in the country. To broaden these analyses, we will focus on the identification of clusters of mutations and genes that are associated with major *Y. pestis* lineages, in order to elucidate possible molecular factors that were selected during the evolution and historical spread of *Y. pestis*.

Mots clés : Peste - Génomique - Épidémiologie génomique - Phylogéographie - Évolution.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études**OM-P14****Pseudomonas aeruginosa-derived metabolites modulate immunity and correlate with respiratory functions in Cystic Fibrosis patients**

Caroline Plazy^{1,2} (cplazy@chu-grenoble.fr), Audrey Le Gouellec^{1,2}, Oriane Moyne², Max Maurin³, Bertrand Toussaint^{1,2}, Dalil Hannani²

¹ SB2TE, UM BEP, CHU Grenoble-Alpes, La Tronche, France

² Equipe TrEE, TIMC, UMR 5525, La Tronche, France

³ Service de bactériologie, CHU Grenoble-Alpes, La Tronche, France

Cystic Fibrosis (CF) patients are chronically infected with *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) that is currently considered as a major cause of death. To persist in the host, bacteria will adapt to the pulmonary environment and to the immune system by secreting or expressing a multitude of pro/anti-inflammatory molecules. Among them, some metabolites (immunometabolites/metabokines) have been described as altering the activation and the polarization of subsequent immune responses. In order to investigate the modulation of the immune system by Pa and its evolution over time, a longitudinal clinical strains biobank of Pa has been constituted. For each of the 32 chronically infected patients included in the study, two clones of the same strain were isolated five years apart. We now investigate the immunomodulatory properties of isolates-derived excreted-metabolites. This study will allow to better understand the host/pathogen crosstalk by highlighting new metabolites and new metabolic pathways having immunomodulatory properties.

Clinical strains have been cultivated in SCFM (Sputum CF Medium) and bacterial supernatant (SN) was collected during exponential and stationary growth phases. We have investigated differential immune properties of isolates by flow cytometry based immunoassay allowing to analyze the activation and the maturation of Dendritic Cell (DC) upon TLR stimulation, in presence of bacteria SN. In parallel, SN metabolic profiles were characterized by LC-MS/MS metabolomics analysis. Then, to identify metabolites responsible of immunomodulations, we performed data analysis and realized correlations between both results.

Interestingly, we have highlighted different immunomodulatory profiles among strains, and also depending on the growth phases: two "immunosuppressive clusters" (one in which all DC markers expression decreases and one in which PDL2 expression increases) and one "immunostimulatory cluster". Of note, infection of patients by "immunosuppressive strains" has been correlated with the decline of respiratory functions. Untargeted metabolomics analyses of bacterial SN revealed that bacteria could be classified in 3 metabolic clusters, that allowed us to highlight some interesting metabolites with immunomodulatory properties and others seem to impact level of the respiratory function.

This study improves the knowledge on metabolite-mediated host/microbe crosstalk by highlighting new metabolites with immunomodulatory properties, that constitute potential therapeutic targets for restoring host immunity in chronic infectious diseases.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa* - Host/microbes immune crosstalk - Immunometabolites - Metabolic adaptations.

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

OM-P15

Red One™: new generation of solid-phase cytometry for rapid microbiology testing based on staining kineticsLucile Plourde-Owobi¹ (lucile.plourde@sanofi.com), Khoulood Badri¹, Marine Schnetterle², Joseph Pierquin²¹ Sanofi Pasteur, Marcy-l'étoile, France² Redberry, Illkirch, France**Introduction and objectives:**

Microbiological monitoring is necessary for the quality control of pharmaceutical products. Enumeration of viable microorganisms on agar culture media today remains the reference method and required by regulatory authorities for product release. Culture-based methods are time consuming while production sites need to monitor bioburden and manage contamination control more proactively. Red One™ is an automated platform for immediate and quantitative detection of microorganisms in filterable samples. Its performances rely on the solid-phase cytometry (SPC) technology [1] and an esterase sensitive staining [2]. The presented work has been performed jointly by Sanofi Pasteur & Redberry in order to characterize the performances of Red One™ on several quality control indicators for pharmaceutical applications through Total Viable Count (TVC) assay and Bioburden testing.

Materials and methods:

In the SPC technology developed by Redberry, microorganisms are retained on a polyester membrane filter, *automatically* fluorescently labelled and then counted. But unlike conventional SPC systems, Red One™ monitors the evolution of fluorescence emitted by the microorganisms over time, the so-called *staining kinetics*. Thanks to staining kinetics, viable microorganisms are thus differentiated from inert and auto-fluorescent particles: more than 95% of background (inert particles) is dismissed. The performance of Red One™ has been evaluated on several species of microorganisms using ATCC standardized strains suitable for pharmacopeia testing and 4 environmental isolates. Results given by Red One™ are compared to those obtained on agar plates (TSA). In order to improve the recovery rate, compared to the culture-based method, a 2-hour reactivation phase has been developed to ensure that germs can recover a sufficient metabolic activity to be properly detected.

Results and conclusions:

Results for detection in 10 minutes show (i) a satisfactory recovery rate (> 60%) for bacteria (ii) with lower recovery rates for the fungal species such as *Candida albicans* and *Aspergillus brasiliensis*. It is shown that the use of a permeabilization step can significantly improve the recovery for yeasts and molds. Linearity and repeatability are also discussed. The interest of a reactivation phase is finally evaluated especially in regards to the recovery of spores and stressed micro-organisms.

Mots clés : Solid-phase cytometry - Bioburden testing - Single viable cell detection - Rapid microbiology - Water contaminant.

Références :

1. Lemarchand K., Parthuisot N., Catala P., Lebaron P. 2001. Comparative assessment of epifluorescence microscopy, flow cytometry and solid-phase cytometry used in the enumeration of specific bacteria in water. *Aquatic Microbial Ecology* 25:301-09.
2. Meder H., Baumstumm A., Chollet R., Barrier S., Kukuczka M., Olivieri F., et al. 2012. Fluorescence-based rapid detection of microbiological contaminants in water samples. *The Scientific World Journal*. Vol. 2012, Article ID 234858.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P01

Key role of caspase-1 in bacterial clearance during *S. aureus* infection of osteoblasts-like cells

Nadia Nadejda Berkova¹ (nadejda.berkova@inrae.fr), Elma Lima Leite^{1,2}, Arthur Gautron³, Aurélie Nicolas¹, Jordane Ossemond¹, Fillipe L. R. do Carmo^{1,2}, David Gilot³, Vasco Azevedo², Friedrich Götz⁴, Yves Le Loir¹, Michael Otto⁵

¹ STLO, Science et Technologie du Lait et de l'Oeuf, INRAE, Rennes, France

² Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brésil

³ Univ Rennes, CNRS, Institut de génétique et développement de Rennes, Rennes, France

⁴ Mikrobielle Genetik, Universität Tübingen, Tübingen, Germany

⁵ Laboratory of Human Bacterial Pathogenesis, US National Institutes of Health, NIH, Bethesda, États-Unis

Staphylococcus aureus (*S. aureus*), a versatile Gram-positive bacterium, is the main cause of bone and joint infections, which are prone to recurrence. The inflammasome is an immune signaling platform that assembles after pathogen recognition. It activates proteases, most notably caspase-1 that proteolytically matures and promotes the secretion of mature IL-1 β and IL-18. The role of inflammasomes and caspase-1 in the secretion of mature IL-1 β and in the defence of *S. aureus*-infected non-professional phagocytes, human osteoblast-like MG-63 cells, has not yet been fully investigated. To investigate the role of inflammasomes in *S. aureus*-infected MG-63 cells, the establishment of *CASP1*^{-/-}-MG-63 cell line was carried out using the CRISPR-Cas9 gene editing system. We and others showed that *S. aureus* can be internalized and survive within professional phagocytes, such as macrophages as well as within non phagocytic epithelial cells or osteoblasts [1,2]. To study the capacity of intracellular *S. aureus* to induce inflammasomes formation in MG-63 cells, we confirmed the presence of intracellular bacteria using transmission electron microscopy.

We show that *S. aureus*-infected MG-63 cells but not caspase-1 knock-out *CASP1*^{-/-}-MG-63 cells activate the inflammasome as monitored by the release of mature IL-1 β . The effect was strain-dependent.

The quorum-sensing system in *S. aureus* known as the accessory gene regulator (Agr) regulates the expression of many virulence factors including the expression of most *S. aureus* toxin genes. Of note, the expression of PSMs encoding genes (PSM α 1 to 4, PSM β 1 and 2, and δ -toxin sometimes called PSM χ) is tightly controlled by the Agr system [3]. The use of *S. aureus* LAC (USA300) wild-type strain, its deletion and complemented phenole soluble modulins (PSMs) mutants demonstrated that PSM toxins are involved in inflammasomes-related IL-1 β production by infected MG-63 cells.

Furthermore, we found that the lack of caspase-1 in *CASP1*^{-/-}-MG-63 cells impairs their defense functions, as bacterial clearance was drastically decreased in *CASP1*^{-/-} MG-63 compared to wild-type cells [4]. Our results demonstrate that osteoblast-like MG-63 cells play an important role in the immune response against *S. aureus* infection through inflammasomes activation and establish a crucial role of caspase-1 in bacterial clearance.

Mots clés : Staphylococcus aureus - Inflammasomes - Caspase-1 - CRISPR-Cas9 gene editing - Bacterial clearance.

Références :

1. Deplanche M, Filho RA, Alekseeva L, Ladier E, Jardin J, Henry G et al. 2015 Phenol-soluble modulin α induces G2/M phase transition delay in eukaryotic HeLa cells. 2015 FASEB J. 29(5):1950-1959.
2. Deplanche M, Mouhali N, Nguyen MT, Cauty C, Ezan F et al. 2019. Staphylococcus aureus induces DNA damage in host cell. Sci Rep. 22. 9(1):7694.
3. Wang R, Braughton KR, Kretschmer D, Bach TH, Queck SY, Li M et al. 2007. Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA. Nat Med. 13(12):1510-1514
4. Lima Leite E, Gautron A, Deplanche M, Nicolas A, Ossemond J, Nguyen MT, et al. 2020. Involvement of caspase-1 in inflammasomes activation and bacterial clearance in *S. aureus*-infected osteoblasts-like MG-63 cells. Cell Microbiol. 22, 8-19

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P02

Internalisation et survie intracellulaire du biofilm de *Staphylococcus aureus* dans les ostéoblastes

Andréa Cara¹ (andrea.cara@inserm.fr), Aizat Iman Abdul Hamid², Allison Faure¹, Alan Diot¹, Pascale Gueirard¹, Frédéric Laurent^{1,3,4}, Jérôme Josse^{1,3}

¹ Equipe Pathogénie des staphylocoques, Centre International de Recherche en Infectiologie, Lyon, France

² Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, Université Clermont Auvergne, UMR CNRS 6023, Clermont-Ferrand, France

³ CRIOAc Lyon, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁴ CNR Staphylocoques, Lyon, France

Introduction :

Lors d'infections ostéo-articulaires, la formation de biofilm et l'internalisation dans les ostéoblastes (les cellules responsables de la formation du tissu osseux) sont deux mécanismes permettant à *Staphylococcus aureus* de mieux tolérer les antibiotiques et de se protéger contre les attaques du système immunitaire. Cependant, aucune donnée n'est actuellement disponible sur l'impact de l'organisation en biofilm sur l'internalisation et la survie intracellulaire de *S. aureus* dans les ostéoblastes. Notre objectif est donc de comparer l'internalisation et la survie intracellulaire de *S. aureus* sous forme planctonique et sous forme biofilm dans les ostéoblastes ainsi que l'influence de ces deux conditions sur la production de médiateurs inflammatoires et ostéogéniques par les ostéoblastes infectés.

Matériels et méthodes :

Un modèle d'infection *in vitro* avec une lignée cellulaire d'ostéoblastes humains MG-63 ainsi que la souche de référence *S. aureus* SH1000 et 2 souches cliniques issues d'IOA a été utilisé dans cette étude. L'internalisation et la survie intracellulaire ont été évaluées grâce au *gentamicin protective assay* (la gentamicine permet d'éliminer les bactéries extracellulaires) et la production de médiateurs par les ostéoblastes a été quantifiée par ELISA.

Résultats, discussion et conclusion :

Nous avons observé que, pour les 3 souches de *S. aureus*, la forme biofilm était significativement plus internalisée que la forme planctonique. Nous avons aussi observé plus de staphylocoques intracellulaires pour la forme biofilm que pour la forme planctonique à 24h et 48h post-infection. Ce phénomène est en partie lié à l'internalisation plus importante du biofilm qui a favorisé un plus grand nombre de bactéries intracellulaires. Concernant la production de médiateurs par les ostéoblastes infectés, aucune différence significative n'a été observée entre les conditions planctonique et biofilm pour l'IL-7, CXCL12, RANKL et OPG. Une différence a été observée pour la production d'IL-6 par les ostéoblastes infectés par la souche de laboratoire SH1000 où la forme biofilm induisait une production significativement plus importante d'IL-6 par les ostéoblastes en comparaison avec la forme planctonique. Cependant cette différence n'a pas été observée avec les 2 souches cliniques.

La forme biofilm influence donc l'internalisation de *S. aureus* dans les ostéoblastes mais l'impact sur la production d'IL-6 est souche-dépendant.

Mots clés : Staphylococcus aureus - Biofilm - Internalisation - Ostéoblaste - Intracellulaire.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P03

Impact du traitement au paracétamol sur le bien-être et la physiopathologie des souris infectées par *Toxoplasma gondii*

Axel Cauty¹ (axel.cauty@inrae.fr), Nathalie Moiré^{2,3}, Christelle Rossignol^{4,5}, Corinne Beaugé¹, Laetitia Mérat¹, Emilie Lortscher¹, Isabelle Dimier-Poisson^{2,4}, Mickaël Riou¹

¹ UE-1277 Plateforme d'Infectiologie expérimentale, INRAE, Nouzilly, France

² UMR - 1282 Infectiologie et Santé publique, Université de Tours, Tours, France

³ UMR - 1282 Infectiologie et Santé publique, INRAE, Tours, France

⁴ UMR - 1282 Infectiologie et Santé publique, INRAE, Nouzilly, France

⁵ UMR - 1282 Infectiologie et Santé publique, Université de Tours, Nouzilly, France

Depuis quelques années, le bien-être animal a pris une place importante dans la société et notamment dans la recherche scientifique. Il est devenu nécessaire de raffiner au maximum les procédures expérimentales en infectiologie comme dans notre modèle de référence, la toxoplasmose, en accord avec la règle des 3Rs et les différentes préoccupations éthiques existant depuis 1959. Ainsi, la mise en place d'un traitement utilisant des analgésiques, comme par exemple le paracétamol, permettrait de soulager les animaux infectés au cours de ce processus infectieux, du à *Toxoplasma gondii*. Cependant, l'utilisation de cet analgésique ne doit en aucun cas modifier la physiopathologie de l'infection et la réponse immunitaire de l'hôte, afin de ne pas interférer avec l'étude scientifique initiale. Actuellement, peu de données sont disponibles sur l'utilisation du paracétamol dans un modèle infectieux expérimental. Dans le présent travail, nous avons étudié son impact dans le modèle murin CBA/J de toxoplasmose. Pour ce faire, des paramètres zoonotiques, télémétriques, comportementaux, histologiques (lésions et distribution tissulaires) et immunitaires (recrutements cellulaires et cytokines d'intérêt (IL-6, IFN et IL-12) ont été analysés afin de mieux caractériser les conséquences d'un traitement au paracétamol à une dose de référence validée de 30 mg / kg / j sur 5 jours consécutifs. Le paracétamol administré par gavage (30 mg / kg / jour) semble améliorer le bien-être des souris en phase aiguë de la toxoplasmose, en particulier sur la réduction des signes cliniques, la perte de poids et du maintien d'un comportement normal. La physiopathologie de l'enkystement du parasite dans le cerveau ainsi que les réponses immunitaires induites par *T. gondii* ne sont pas impactées. Ces premiers résultats chez la souris sont prometteurs et valident notre hypothèse initiale que le paracétamol semble être un outil pharmacologique permettant d'améliorer le bien-être animal. Sous traitement paracétamolé, la combinaison de marqueurs cliniques, comportementaux, parasitaires et immunitaires a contribué à définir le bien-être animal chez la souris, en vue de la transposer à l'espèce cible de la toxoplasmose, le mouton. A long terme, l'utilisation du paracétamol pourrait être étendue à d'autres modèles infectieux expérimentaux afin de répondre aux attentes éthiques et réglementaires.

Mots clés : Toxoplasmose - Physiopathologie - Paracétamol - Bien-être - Immunité.

Références :

1. <https://www.nc3rs.org.uk/sites/default/files/documents/Guidelines/MGS%20Manual.pdf>
2. Mukhopadhyay D, Arranz-Solis D, Saeij JPJ. Influence of the Host and Parasite Strain on the Immune Response During *Toxoplasma* Infection. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020; 15:10:580425.
3. Carbone L. Ethical and IACUC Considerations Regarding Analgesia and Pain Management in Laboratory Rodents. *Comp Med.* 2019; 1;69(6):443-450.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P04

Pathogenicity of *C. acnes* following the interaction with human mesenchymal stem cells

Marie Dubus (marie.dubus@hotmail.com), Jennifer Varin-Simon, Steve Papa, Sophie. C. Gangloff, Cédric Mauprivez, Xavier Ohl, Fany Reffuveille, Halima Kerdjoudj

EA4691 BIOS, Université de Reims Champagne Ardenne, Reims, France

Introduction and objective:

Found in bone-associated prosthesis, *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) is isolated in more than 50% of osteoarticular prosthesis infections. Ongoing controversies exist concerning the origin of *C. acnes* infection. While few reports state about a probable *C. acnes* displacement from the superficial skin into the surgical wound, *C. acnes* was recently detected in the intracellular compartment of macrophages and stromal cells in 62.5% of tested patients who did not undergo skin penetration. Among bone stromal cells, mesenchymal stem cells (MSCs), the source of osteogenic lines, are predominantly found in bone marrow and periosteum. In this study, the pathogenicity of *C. acnes* in bone repair context was investigated.

Materials and methods:

Human bone marrow derived MSCs were challenged with *C. acnes* clinical strains harvested from non-infected bone site (Cb) and from orthopaedic implant-associated infection (Ci). The infective capabilities of bacteria were determined; and the morphology, ultrastructural analysis and the immunomodulatory response of infected MSCs was evaluated. The virulence of intracellular Ci and Cb (Ci-MSCs and Cb-MSCs) was investigated by biofilm formation on non-living bone materials. Bone cells (osteoblasts and macrophages) were then challenged with Cb-MSCs and Ci-MSCs. Intracellular accumulation of ROS within infected macrophages and catalase production by bacteria were evaluated.

Results, discussion and conclusion:

Following MSCs infection by *C. acnes*, the rate of viable Cb inside MSCs was about 4%. The ultrastructural analysis of infected MSCs confirmed the presence of Cb free in MSCs cytoplasm. Considering the high level of secreted immunomodulatory mediators (PGE-2 and IDO), our results suggest that Cb could activate the immunomodulatory profile of MSCs. After MSCs infection, Cb-MSCs increased significantly the formation of biofilm on non-living bone materials. Regarding the ability of bacteria to infect osteoblasts, our results showed a higher infective capability of Cb-MSCs *versus* Cb. Along with an increase in catalase production by Cb-MSCs, we noticed its higher persistence to macrophage degradation. Taken together, our results demonstrate a shift in commensal Cb to pathogenic following infection. Overall, these results showed a direct impact of *C. acnes* on bone marrow derived MSCs, providing new insights into the development of *C. acnes* during implant-associated infections.

Mots clés : *C. acnes* - Mesenchymal stem cells - Cell/bacteria interactions - Implant-associated infection - Bone repair.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P05

Caractérisation de protéines de tube polaire chez l'espèce microsporidienne *Anncaliia algerae* et étude de leur(s) rôle(s) dans les processus d'invasion

Maurine Fayet (maurine.fayet@uca.fr), Nastasia Prybylski, Marie-Laure Collin, Hicham El Alaoui, Valérie Polonais, Frédéric Delbac

Laboratoire Microorganismes Génome et Environnement, Université Clermont Auvergne, Aubière, France

Introduction et objectifs :

Les microsporidies sont des microorganismes eucaryotes, parasites intracellulaires obligatoires, apparentées aux champignons. Leur processus d'invasion repose sur un appareil d'invasion original : le tube polaire. Cette structure multiprotéique est composée de plusieurs familles de protéines appelées PTPs. Certaines PTPs sont impliquées dans les processus d'invasion comme cela a pu être démontré chez l'espèce *Encephalitozoon hellem*, avec la protéine PTP4 [1]. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à caractériser les PTPs et à étudier leur rôle dans les processus d'invasion de l'espèce *Anncaliia algerae*, une microsporidie initialement décrite chez le moustique et qui est également capable d'infecter l'Homme.

Matériels et méthodes :

Une recherche par homologie de séquences a été menée afin d'identifier les gènes codant des PTPs dans le génome d'*A. algerae*.

Des PTPs recombinantes ont été produites chez la bactérie *Escherichia coli*, purifiées, puis injectées à des souris afin de produire des anticorps permettant d'étudier la solubilité des protéines par Western blot et leur localisation par immunofluorescence.

Enfin, nous avons mis en place de tests d'inhibition de l'invasion pour étudier le rôle de certaines PTPs dans les processus d'invasion de cellules humaines. Des spores d'*A. algerae* ont été prétraitées avec les anticorps anti-PTPs, puis ont été mises en contact de cellules fibroblastiques humaines (HFF). Une méthode FISH a ensuite permis de dénombrer les foyers infectieux pour calculer le taux d'infection dans chaque condition testée.

Résultats, discussion et conclusion :

Après avoir caractérisé cinq PTPs (*Aa*PTP1 à *Aa*PTP5) chez *A. algerae*, la production d'anticorps contre les protéines recombinantes *Aa*PTP1 à *Aa*PTP4, a permis de les localiser au niveau du tube polaire. Des extractions différentielles de protéines sporales ont permis d'identifier une seconde PTP3 chez *A. algerae*. Un protocole de purification des tubes polaires a également été mis en place. Enfin, la localisation particulière de la protéine *Aa*PTP4 à l'extrémité du tube, a orienté notre choix d'étudier son rôle dans les processus d'invasion de cellules humaines par *A. algerae*. En résumé, cette étude met en lumière le rôle d'une protéine dans les processus d'invasion d'une espèce d'intérêt médical ouvrant ainsi des pistes dans la recherche de cibles thérapeutiques potentielles.

Mots clés : PTPs - Invasion - *Anncaliia algerae* - Tube polaire.

Références :

1. Han B, Polonais V, Sugi T, Yakubu R, Takvorian PM, Cali A, Maier K, Long M, Levy M, Tanowitz HB, Pan G, Delbac F, Zhou Z, Weiss LM. 2017. The role of microsporidian polar tube protein 4 (PTP4) in host cell invasion. *PLoS Pathog.* 13(4):e1006341.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P06

Insights into the structure, the mechanism of action and the expression of two type I toxins expressed by *Staphylococcus aureus*

Laurence Fermon^{1,2} (laurence.fermon@univ-rennes1.fr), Emeline Ostyn¹, Sylvie Nonin-Lecomte³, Soizic Chevance², Arnaud Bondon², Yoann Augagneur¹, Marie-Laure Pinel-Marie¹

¹ U1230 BRM, INSERM/Université de Rennes 1, Rennes, France

² ISCR-UMR 6226, CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France

³ UMR 8038, CNRS/Université de Paris Descartes, Paris, 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 and to identify environmental conditions for which their expression is induced in *S. aureus*.

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 monitored at 600 nm and the membrane depolarization and permeabilization assessed through fluorescence measurements after incubation with DiBAC4(3) or Sytox probes respectively. Intracellular ATP was also quantified. To identify environmental conditions inducing SprG1 peptides expression, the growth of *S. aureus* strains (i.e. wild-type, deleted for the SprG1/SprF1 TA system and overproduced the flagged version of the SprG1 peptides) was analyzed under various stress conditions (nutritive, osmotic, acidic, antibiotics). The expression level of sprG1 mRNA and the SprG1 peptides were then quantified by RT-qPCR and western blot assays.

Results, discussion and conclusion:

We demonstrated that (i) SprG1 peptides form an α -helix with a predicted transmembrane domain, (ii) peptides overexpression provokes membrane depolarization and permeabilization followed by an intracellular ATP drop, (iii) during nutritive starvation, the level of sprG1 mRNA and the presence of peptides in the extracellular medium is increased thus leading to *S. aureus* growth retardation. The release of SprG1 peptides could modulate the host response and the growth of competing bacteria amplifying the spread of *S. aureus* infection.

Mots clés : Toxin-antitoxin systems - Type I toxins - Structure - Membrane depolarization and permeabilization - Nutritive starvation.

Références :

1. Pinel-Marie ML, 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.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P07

Host-derived lipids: what impact on *Mycobacterium marinum* growth in defined conditions – establishment for further characterization in the alternative experimental model *Dictyostellium discoideum*Mélanie Foulon (melanie.foulon@unige.ch), Thierry Soldati¹ Department of Biochemistry, Faculty of Science, University of Geneva, Geneva, Suisse**Introduction and objectives:**

Mycobacterium tuberculosis (*Mtb*), the etiological agent of tuberculosis, has the unique ability to hijack host lipids at its own benefits in order to survive and multiply. The underlying mechanisms remain to be explored to reconstruct the full picture about their impact on the intracellular life of the mycobacteria. In this context, we propose to use the opportunistic human pathogen *M. marinum* widely used as a powerful alternative model for *Mtb* but less constraining to use in the laboratory (does not require Biosafety Level 3 measures) and the versatile experimental model host, the amoeba *Dictyostellium discoideum*, to study the interactions between intracellular pathogens and cell-autonomous defense mechanisms.

Material and methods:

To consolidate the validity of *M. marinum* as a model for *Mtb*, we first evaluated its capacity to grow in minimal media supplemented with defined lipids as single carbon sources. We used GFP-expressing WT as well as mutant strains defective for fatty acids (FA) and cholesterol import systems, tn:mce1a and Δ mce4a respectively, and measured their growth using a fluorescence plate reader. Their capacity to replicate intracellularly in *D. discoideum* was also assessed similarly.

Results, discussion and conclusion:

In vitro, *M. marinum* WT was able to grow using cholesterol, palmitate or oleate as main carbon source, in a dose-dependent manner. Comparatively, Δ mce4a exhibited a growth defect in presence of cholesterol alone, and a slight growth advantage in presence of oleate and palmitate. No difference was observed for tn:mce1a, the mutant affected in FA import relatively to the WT strain. Since this mutant only possesses a transposon insertion hypothetically responsible for the import defect, further experiments will be conducted using a knock-out generated through site direct mutagenesis. Intracellular growth of Δ mce4a was also altered in comparison to WT, but not its initial capacity to infect cells. Together, these results establish the experimental foundations for further experimentations. Thus, our global objective is to investigate the impact of the host-derived lipid access, transport and utilization by *M. marinum* during its complete intracellular life cycle, from the earliest stages of phagocytosis to its egress and dissemination.

Mots clés : Mycobacteria - Lipid import - Amoeba.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P08

Within-host genetic micro-diversity of *Mycobacterium tuberculosis* and the link with tuberculosis disease features

Charlotte Genestet^{1,2} (charlotte.genestet@gmail.com), Elisabeth Hodille^{1,2}, François Massol^{3,4}, Guislaine Refrégier⁵, Alexia Barbry^{1,2}, Emilie Westeel^{1,6}, Gérard Lina^{1,2,7}, Florence Ader^{1,8}, Laurent Jacob⁹, Stéphane Dray⁹, Jean-Luc Berland^{1,6}, Samuel Venner⁹, Oana Dumitrescu^{1,2,7}

¹ Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Lyon, France

² Hospices Civils de Lyon, Institut des Agents Infectieux, Lyon, France

³ UMR 8198 Evo-Eco-Paleo, SPICI Group, University of Lille, Lille, France

⁴ CNRS, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, Center for Infection and Immunity, Lille, France

⁵ Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), Gif-sur-Yvette, France

⁶ Fondation Mérieux, Emerging Pathogens Laboratory, Lyon, France

⁷ Université Lyon 1, Facultés de Médecine et de Pharmacie de Lyon, Lyon, France

⁸ Hospices Civils de Lyon, Service des Maladies infectieuses et tropicales, Lyon, France

⁹ Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, Villeurbanne, France

Background:

Tuberculosis (TB), caused by *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) complex, is still the number one deadly contagious disease. Mtb infections result in a wide spectrum of clinical outcomes, from latent asymptomatic infection, to pulmonary or extra-pulmonary manifestations of disease, with an array of severity symptoms, but without proven Mtb genetic determinants.

Material and methods:

Thanks to whole genome sequencing, we explored the relation between Mtb micro-diversity of 355 clinical isolates, from 311 patients diagnosed at the Lyon University Hospital, and TB clinical presentation, as well as nutritional and immune status of patients.

Results:

We showed that Mtb micro-diversity within patient isolates is strongly correlated with TB-associated severity scores. Interestingly, this diversity is driven by a selection pressure to adapt to different lifestyles related to the infection site.

Conclusions:

Taken together, these results provide a new insight to better understand TB pathophysiology. Furthermore, Mtb micro-diversity could be envisioned as a new prognostic tool to improve the management of TB patients.

Mots clés : *Mycobacterium tuberculosis* - Micro-diversity - Clinical presentation - Whole genome sequencing.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P09

Rôle de la protéine associée au nucléoïde Lsr2 lors de la transition entre morphotypes lisses et rugueux chez *Mycobacterium abscessus*

Elias Gerges (elias.gerges@uvsq.fr), Jean-Louis Herrmann, Frédéric Crémazy

*Infection et inflammation U1173, INSERM/UVSQ, Montigny-le-Bretonneux, France***Introduction et objectifs :**

Mycobacterium abscessus (Mabs), un pathogène émergent dans la mucoviscidose, évolue au cours de l'infection pulmonaire entre un morphotype lisse (S) et un morphotype rugueux (R). Ce dernier, hyper-virulent et hyper-pro-inflammatoire, est associé aux formes graves de la maladie. Cependant, les facteurs déclenchant ainsi que les mécanismes moléculaires responsables et résultant de cette transition S/R *in vivo* restent encore inconnus. Nous avons récemment isolé un facteur de transcription appartenant à la famille des protéines associées au nucléoïde (NAP) nommée Lsr2, différenciellement exprimé entre les variants S et R. Nous avons précédemment montré que Lsr2 était impliquée dans la résistance aux dérivés oxydés ainsi que dans la virulence de Mabs, à la fois dans les modèles cellulaires et animaux. L'objectif de ce projet est d'utiliser une approche intégrative basée sur des méthodes de génomique fonctionnelle et de microscopie super-résolution afin de comprendre le rôle de Lsr2 dans la virulence et la multi-résistance aux antibiotiques de ce pathogène.

Matériels et méthodes :

L'appartenance de Lsr2 à la famille des NAP suggère un lien entre structure du chromosome et régulation de la transcription des gènes impliqués dans la virulence de Mabs via la transition entre les morphotypes S et R. Nous conduisons une étude transcriptomique afin de mettre en évidence les gènes cibles de Lsr2 dans ces 2 morphotypes. En parallèle, l'utilisation de la technique d'Immunoprécipitation de Chromatine associée au séquençage haut-débit (ChIPseq) nous permettra de comprendre le mode de liaison de Lsr2 sur le chromosome conduisant à la régulation de ses cibles directes. Enfin, nous utilisons la microscopie haute-résolution de type PALM afin d'étudier la distribution subcellulaire de cette protéine dans la bactérie.

Résultats, discussion et conclusion :

L'analyse transcriptomique par RNAseq montre que Lsr2 est impliqué dans la régulation de l'expression de nombreux gènes, tant dans la forme S que dans la forme R. Si les premières expériences de ChIP-seq montre, à l'instar des autres NAP, une fixation de Lsr2 sur une grande partie du génome, sa localisation observée par PALM suggère une compartimentalisation de la protéine dans une région contrainte du nucléoïde.

Mots clés : *Mycobacterium abscessus* - Virulence - Nucleoid Associated Proteins - Transcription - Chromosome.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P10

Epidemiology and characterization of *Enterobacter* strains associated with neonatal nosocomial sepsis

Enrique Hernandez-Alonso¹ (ehernandez_aa@hotmail.com), Barreault Simon¹, Jatteau Pierre¹, Allouche Kahina², Augusto Luis¹, Tissieres Pierre¹, Doucet-Populaire Florence^{1,2}, Bourgeois-Nicolaos Nadege^{1,2}

¹ Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), CEA, CNRS, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France

² Hôpital Antoine Béchère, Service de Microbiologie, AP-HP Paris Saclay, Clamart, France

Background:

Enterobacter cloacae complex (ECC) has emerged as an important pathogen responsible for neonatal nosocomial sepsis. However, the taxonomy is remaining a challenge. Species-identification in the genus *Enterobacter* is crucial for epidemiology, patient prognosis, and antibiotic treatment. The objectives of our research are to identify the epidemiology of the different ECC species, to characterize the antibiotic resistance, virulence and disease severity related to lipid A endotoxin.

Material and methods:

88 strains of ECC isolated from blood cultures of 83 premature neonates, from 2013 to 2019, were collected from 12 French hospitals. A PCR-sequencing approach was developed for species identification using the *dnaJ* gene, which was validated by Whole-Genome Sequencing. The antibiotic resistance profile was determined by EUCAST method. The virulence associated with 2-hydroxymyristic acid (2HM) as a secondary substituent in lipid A was studied using MALDI-TOF and Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS).

Results:

Ten different species (*E. xiangfangensis*, *E. bugandensis*, *E. hoffmannii*, *E. quasihormaechei*, *E. kobei*, *E. cloacae*, *E. dissolvens*, *E. mori*, *E. ludwigii*, *E. cancerogenus*) were identified with a high prevalence of *E. xiangfangensis* (42%, 37/88) followed by *E. bugandensis* (34%, 30/88). We identified for the first time 4 *E. quasihormaechei* strains responsible of neonatal sepsis. Twenty-two strains (25%) were cefotaxime resistant, and all strains were imipenem, meropenem, and amikacin susceptible.

The global mortality rate in our neonatal sepsis population studied was 36.1% (30/83) with 32.0% (12/37) *E. xiangfangensis* and 60.0% (18/30) *E. bugandensis* sepsis strains cases ($p=0.02$). We identified 15 newborns with ECC (*E. bugandensis*, $n=13$) carrying 2HM (ECC/2HM) of which 11 died (73.3%). The presence of the 2HM was associated with an increased risk of death.

Conclusions:

Using *dnaJ* gene phylogenetic analysis, we assigned the precise species in our clinical ECC strains. The presence of 2HM in lipid A could be associated with and the severity in neonatal sepsis. Studies focused on the role of 2HM in *Enterobacter* are necessary to understand its role in virulence. Finally, correct species assignment and understanding of virulence mechanisms in the ECC can improve the infection prognosis, facilitate the management of nosocomial outbreaks, and promotes rapid environmental monitoring.

Mots clés : Enterobacter - MALDI-TOF - Neonatal - Sepsis - Nosocomial.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P11

Pathogénie et réponse de l'hôte

Bovine and Porcine epithelial cells cross-present *Salmonella*-derived antigenic peptidesM. Nivard (sebastien.holbert@inrae.fr), P. Cunha, R. Prado-Martins, Sébastien Holbert

ISP, INRAe, Université de Tours, Nouzilly, France

Introduction and objectives:

Epithelial cells are the first barrier to infection. Pathogens such as *Salmonella* and mastitis-causing *S. aureus* strains can penetrate these cells and survive in the intracellular milieu. Although the cross-presentation of bacterial antigens on MHC class I has been observed in dendritic cells, the role of epithelial cells in the process is still unclear. Based on this, we aimed to verify the capacity of swine gut epithelial cells and bovine mammary epithelial cells to present bacterial antigens and stimulate cytotoxic T lymphocytes.

Materials and methods:

Bovine and porcine epithelial cells transiently transfected with murine MHC-I were exposed to strains of *Salmonella* carrying genes involved in the invasion and intracellular fate of *Salmonella* tagged with the peptide SIINFEKL (OVA 256-264). A murine CD8+ T lymphocyte clone (B3Z) was then brought into contact with infected epithelial cells and the release of IL2 was quantified by ELISA.

Results, discussion and conclusion:

We observed that swine and bovine epithelial cells have the ability to cross-present antigens derived from the degradation of bacterial proteins. The intensity of CD8+ T cells responses varied depending on the tagged bacterial factor and suggested a more efficient presentation of antigens derived of *Salmonella* factors involved in intracellular survival and late replication. These preliminary data indicate the role of epithelial cells in the induction of adaptive immune response and our experimental strategy might be applied to pathogens other than *Salmonella*. We believe that a better understanding of the mechanisms regulating the host cytotoxic response and the fate of pathogens in the intracellular niche might provide new avenues to fight persistent bacterial infections, meeting a major animal and public health concern.

Mots clés : Antigen cross-presentation - Salmonella - Epithelial cells - CD8+ T-lymphocytes - CMH-I.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P12

The *Salmonella* containing vacuole is an environment adequate for the outer membrane protein PagN expression: PagN reveals its evasin function

Sébastien Holbert (sebastien.holbert@inrae.fr), E. Barilleau, M. Koczerka, O. Grepinet, I. Virlogeux-Payant, Ph. Velge, A. Wiedemann

ISP, INRAe, Université de Tours, Nouzilly, France

Introduction and objectives:

Salmonella Typhimurium is a facultative intracellular entero-pathogen that remains a risk to public health worldwide. The tools and strategies allowing it to invade and survive in host cells are numerous. Nowadays, it is the only pathogen able to invade host cells using both a trigger and a zipper mechanism, respectively depending on the Type 3 secretion system-1, encoded mainly on *Salmonella* pathogenicity island I, and of the two invasins Rck (Wiedemann et al. 2016) and PagN (Barilleau et al. 2021). Intracellularly, *Salmonella* are contained in a *Salmonella* containing vacuole (SCV) whose maturation leads to an acidic and low divalent-cation environment. Nevertheless, in the last decades several studies gave some evidence for a *Salmonella* escape from the early SCV, leading to cytosolic hyper replication of the pathogen. As PagN expression was previously shown to dependent on acidic pH and low divalent cation concentration (Lambert and Smith 2008), we explored the potential role of PagN in the SCV.

Materials and methods:

Gentamicin protection assays to determine adhesion, invasion and multiplication were performed in chinese hamster ovary epithelial cell line. PagN expression was evaluated at several time post-infection by western blot. SCV escaping was considered by two ways to discriminate cytosolic vs vacuolar *Salmonella*: 1) a gentamicine / chloroquine assay, 2) cytometry and microscopy based on a localization-reporting dual color fluorescent plasmid expressed by *Salmonella* (Noster et al 2019). *Salmonella* wild-type, *pagN* mutant and the complemented strain were used. Lastly, intracellular expression of PagN was imaged through confocal microscopy.

Results, discussion and conclusion:

PagN is highly expressed by *Salmonella* Typhimurium in the SCV and a reduced escape of the *pagN* mutant was observed compared to the wild-type strain leading to a reduced replication of the mutant in the cytosol. The impact of these cytosolic replicative bacteria on reinfection *in vivo* remains to be evaluated as described recently (Chong et al 2021).

Mots clés : Salmonella - PagN - Evasin - Cytosolic replication.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P13

The original and multiple roles of FIS paralogs in *Legionella pneumophila*

Claire Andréa¹ (claire.andrea@univ-lyon1.fr), Christophe Ginévra^{1,2}, Tobias Sahr³, Carmen Buchrieser³, Elisabeth Kay¹

¹ Pathogénèse des Légionelles, CIRI U1111, Villeurbanne, France

² Hospices Civils (HCL), Lyon, France

³ Institut Pasteur, Paris, France

Introduction and objectives:

Factor for Inversion Stimulation (FIS) are versatile DNA-binding proteins (NAPs) that play a crucial role in coordinating virulence gene expression in response to growth phases and environmental stresses in many bacterial pathogens. The opportunistic human pathogen *Legionella pneumophila*, responsible for severe pneumonia called Legionnaires' disease, is an original and attractive model organism to dissect the FIS regulatory network. Indeed, *L. pneumophila* possesses three copies of *fis* genes, encoding proteins that share less than 40% identity, which is unique among bacteria. Our objective was to decipher the function of *L. pneumophila* FIS proteins, that may differ in substantial ways from other pathogens.

Methods:

RNAseq analyses and intracellular replication in various host cells were done with mutant strains lacking either *fis1*, *fis2* or both *fis1* and *fis2*. We performed bioinformatic search of FIS consensus binding sites on promoter regions of target genes and site-directed mutagenesis of these regulatory sequences to confirm the direct relation of FIS proteins with these elements.

Results and discussion:

We obtained the *fis1* and *fis2* single mutants as well as the *fis1-fis2* double mutant but we failed to delete *fis3*, despite repeated attempts. This suggests that this gene is essential, at least in this genetic context. The *fis1-fis2* double mutant was defective in motility and strongly impaired in invasion, replication and survival in host cells compared to single mutants and the wild type. Distinct but overlapping patterns of gene expression were detected for each of the three mutants, revealing three regulons controlled by the FIS proteins. The expression of genes coding for the type 4 secretion system (T4SS) Dot/Icm and its effectors, essential for the establishment of the replicative vacuole inside host cells, were strongly affected in *fis* mutants, highlighting the role of FIS proteins in virulence. Interestingly, transcriptome data also revealed that Fis1 and Fis2 simultaneously repressed the expression of many genes within pathogenicity islands or plasmids. In conclusion, our results establish that FIS paralogs can function coordinately to regulate expression of the same target genes and suggest that they are involved in the silencing of laterally acquired genes in *L. pneumophila*.

Mots clés : Legionella - NAPs - Virulence - Gene silencing.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P15

Rôle des ARN non codants dans la pathogénèse des infections liées à un entéropathogène humain émergent, *Clostridioides difficile*

Victor Kreis¹ (victor.kreis@i2bc.paris-saclay.fr), Cécile Larrazet², Jean-Christophe Marvaud², Claire Toffano-Nioche³, Daniel Gautheret³, Imad Kansau², Claire Janoir-Jouveshomme², Olga Soutourina¹

¹ UMR9198/ARNCLO, CNRS/i2bc, Orsay, France

² EA7359/UBAPS, INRA/MICALIS, Chatenay-Malabry, France

³ Séquence, Structure et Fonction des ARN, CNRS/i2bc, Orsay, France

Clostridium (Clostridioides) difficile est la principale cause de diarrhées associées aux soins chez les adultes dans les pays industrialisés. L'incidence de ces infections continue d'augmenter, et cette tendance est accentuée par le vieillissement global de la population. *C. difficile* représente aujourd'hui un réel danger pour la santé humaine et animale. Mieux comprendre la régulation des processus de colonisation du tube digestif semble donc essentiel pour lutter efficacement contre ce pathogène émergent. Au cours de l'infection, les bactéries reprogramment l'expression de leurs gènes en réponse aux stress environnementaux, et il est maintenant bien décrit dans la littérature que les ARN non codants jouent un rôle clé dans la régulation des réponses adaptatives bactériennes. Les Clostridies utilisent des mécanismes complexes basés sur l'action des ARNs. Afin d'analyser simultanément les changements d'expression génique chez l'agent pathogène et chez l'hôte lors d'une infection à *C. difficile*, nous avons eu recours à une approche transcriptomique haut débit appelée dual RNA-seq. L'analyse de ces données a permis de révéler, d'une part chez *C. difficile*, plusieurs gènes différentiellement exprimés dans des conditions infectieuses par rapport à des conditions de laboratoire, dont des marqueurs de pathogénèse mais également un certain nombre d'ARN non codant qui pourraient jouer un rôle dans la régulation des processus critiques liés au développement et à l'adaptation du pathogène lors de l'infection. D'autre part, chez l'hôte de nombreux ARNnc différentiellement exprimés entre des conditions infectieuses et contrôles (non infecté) et pouvant être impliqués dans la réponse immunitaire de l'hôte lors de l'infection ont également été mis en évidence.

Mots clés : ARNs régulateurs - *Clostridium difficile* - Interaction hôte pathogène - RNA seq - Bactérie pathogène.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P16

Investigation of *Clostridium novyi sensu lato* CRISPR-Cas systems

Thibault Le Gratiet¹ (thibault.legratiet@anses.fr), Caroline Le Marechal¹, Marie Devaere¹, Marianne Chemaly¹, Cedric Woudstra²

¹ Hygiène et qualité des produits avicoles et porcins, ANSES Ploufragan-Plouzane-Niort, Ploufragan, France

² Department of Veterinary and Animal Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark

Introduction and objectives:

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-CRISPR-associated proteins (CRISPR-Cas) system is an adaptive immune system present in archaea and bacteria providing defense against the invasion of foreign mobile genetic elements (MGE) such as phages or plasmids. Genomes of *Clostridium novyi sensu lato* genospecies (comprising entwined species *C. botulinum* group III, *C. novyi* and *C. haemolyticum*) is characterized by a high diversity in its MGE content. The mechanisms behind the dynamic of MGEs' exchange in this genospecies have not been elucidated yet. The aim of this study was to investigate the CRISPR-Cas systems of *C. novyi sensu lato* and how they could affect MGEs diversity.

Material and methods:

In this study, 58 genomes of *C. novyi sensu lato* (45 *C. botulinum* group III, 10 *C. novyi* and 3 *C. haemolyticum*) were selected from public database to investigate their CRISPR-Cas systems using CRISPRCas++ server and CRISPRCasFinder tool. Spacers were extracted using CRISPR Recognition Tool and protospacers were identified using CRISPRTarget Tool.

Results, conclusions and discussion :

Six types of CRISPR-Cas systems were detected in 55 out of 58 genomes. Type I-B was predominant, followed by type I-D, II-C and III-B. Complete and partial CRISPR loci were located in the chromosome and in MGEs. Protospacers' origin showed equal distribution between plasmids and phages and was mainly from *Clostridium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Borrelia* and *Staphylococcus* MGE. One fifth of all targets originated from 6 MGEs commonly found in *C. novyi sensu lato* genomes.

This study showed the crucial role of CRISPR-Cas systems in the diversity of *C. novyi sensu lato* mobilome and confirmed the existence of active and frequent exchanges of MGEs among this genospecies.

Mots clés : CRISPR-cas system - *Clostridium novyi sensu lato* - Mobile genetic element.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P17

Brucella suis* and *Brucella microti* acid stress responses at pH 4.5: Participation of cold shock protein CspA and DNA-binding protein from starved cells (Dps) in increased acid resistance of *B. microti

Jorge De la Garza-García¹ (jorge_delag@hotmail.com), Safia Ouahrani-Bettache¹, Luca Freddi¹, Sascha Al Dahouk², [Alessandra Occhialini](#)¹, Stephan Köhler¹

¹ IRIM, Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, UMR 9004, CNRS et Université Montpellier, Montpellier, France

² German Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, Allemagne

Brucellae are non-motile, Gram-negative and facultative intracellular coccobacilli causing brucellosis, the most widespread bacterial zoonosis infecting wildlife animals, livestock and humans. The genus *Brucella* comprises classical and new and atypical species, among which *Brucella suis* and *Brucella microti*, respectively. The latter is characterized by increased metabolic activity, faster growth rate, and extreme acid resistance at pH 2.5, suggesting an advantage in environmental survival. In addition, *B. microti* was more acid-tolerant than *B. suis* at pH 4.5. The acid-resistant phenotype of *B. microti* may have major implications in fitness and virulence, affecting bacterial survival in soil and in the host.

This study focused on the identification and characterization of acid resistance determinants of *B. suis* and *B. microti* by *in vitro* comparative RNA-Seq-based transcriptome analysis in Gerhardt's minimal medium at pH 4.5 and 7.0 for 20 min. and 2 h, validated by RT-qPCR.

Results yielded a common core response in both species with a total of 150 differentially expressed genes, and acid pH-dependent genes regulated specifically in each species. The identified core response mechanisms have in common proton neutralization or extrusion from the cytosol, participating in maintaining physiological intracellular pH values. Differential expression of 441 genes revealed species-specific mechanisms in *B. microti* with rapid physiological adaptation to acid stress, anticipating potential damage to cellular components and critical energy conditions. Acid stress-induced genes encoding cold shock protein CspA, pseudogene in *B. suis*, and stress protein Dps were associated to survival of *B. microti* at pH 4.5. *B. suis* response with 284 specifically regulated genes suggested increased acid stress-mediated protein misfolding or damaging, triggering the set-up of repair strategies countering the consequences rather than the origins of acid stress and leading to subsequent loss of viability.

In conclusion, our work supported the hypothesis that increased acid stress resistance of *B. microti* was based on selective pressure for the maintenance of functionality of critical genes, and on specific differential gene expression, resulting in rapid adaptation.

Mots clés : Brucella - Acid stress - Transcriptome - Cold shock protein - Dps.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P18

Étude du régulon SarA chez le pathogène *Staphylococcus aureus* : Implication dans les systèmes toxine-antitoxine de type I

Charlotte Oriol¹ (charlotte.oriol@univ-rennes1.fr), Liviu Cengher², Adhar Manna², Tony Mauro¹, Marie-Laure Pinel-Marie¹, Brice Feldent¹, Ambrose Cheung², Astrid Rouillon¹

¹ INSERM U1230 ARN Régulateurs Bactériens et Médecine, Université Rennes 1, Rennes, France

² Department of Microbiology, Dartmouth Medical School, Hanover, États-Unis

Introduction et objectifs :

Staphylococcus aureus est un pathogène opportuniste de l'Homme, responsable d'infections communautaires et nosocomiales. Ces infections sont conduites grâce aux facteurs de virulence régulés par des facteurs de transcription (FT) comme le FT majeur SarA, et par des ARN régulateurs (sARNs). SarA est connue pour jouer un rôle clé dans la virulence et dans la formation de biofilms. Une vingtaine de ses cibles directes ont déjà été caractérisées dont deux sARNs. En parallèle, une étude de puce à ADN a révélé que l'expression de 120 gènes était affectée dans une souche $\Delta sarA$. Cette étude a donc pour objectif d'aller plus loin dans la caractérisation du régulon SarA chez *S. aureus*, et surtout de l'étendre à l'étude des sARNs.

Matériels et méthodes :

Un RNA-Seq réalisé avec les souches sauvage et $\Delta sarA$ et un CHIP-Seq dirigé contre la protéine SarA, ont permis de dresser une liste de cibles pour chaque expérience. Le RNA-Seq révèle les cibles directes et indirectes de SarA alors que l'expérience de CHIP-Seq révèle les zones de fixation directes de SarA sur le chromosome. L'ensemble des données a été combiné révélant une centaine de gènes communs aux deux expériences. Une vingtaine de ces cibles ont été validées par des expériences de Northern Blot et de retard sur gel.

Résultats, discussion et conclusion :

Parmi les cibles identifiées, nous avons montré que deux sARNs régulées par SarA appartiennent à deux systèmes toxine-antitoxine (TA) de type I, le premier *sprG2*, gène codant la toxine du système SprG2/SprF2 et le second *sprA2_{AS'}*, gène de l'ARN antitoxine du système SprA2/SprA2_{AS'}. Dans les systèmes TA, la balance entre la présence de l'ARN toxine et l'ARN antitoxine est cruciale pour permettre la production de la toxine. Ces systèmes sont connus pour induire la bactériostase ou la mort intracellulaire chez *S. aureus*. Ces cibles révèlent une nouvelle fonction du régulateur SarA dont le rôle semble influencer sur les systèmes TA au travers de la régulation de l'expression des toxines ou antitoxines. Ces observations accentuent la complexité concernant la régulation interne des systèmes TA, en rajoutant l'aspect régulation par les facteurs de transcription.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* - RNA-Seq - CHIP-Seq - Régulation - Système toxine-antitoxine de type I.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P19

***Clostridioides difficile* chez des équidés autopsiés, Constitution et caractérisation de la collection de souches CloDifEqui**

Sandrine Petry¹ (Sandrine.PETRY@anses.fr), Jackie Tapprest², Karine Maillard³, Fabien Duquesne², Sofia Kozak², Killian Le Neindre⁴, Frédéric Barbut⁴, Ludovic Bridoux⁵, Isabelle Poquet⁵

¹ Santé animale, site de Normandie, UPEED, Anses, Goustrainville, France

² Santé animale, site de Normandie, UPEED, Anses, Dozulé, France

³ LABEO Frank Duncombe, Caen, France

⁴ CNR *C. difficile*, APHP, Paris, France

⁵ Micalis, INRAe, Jouy-en-Josas, France

Clostridioides difficile est un entéro-pathogène majeur, anaérobie et sporulant. Il provoque, par ses toxines, des diarrhées post-antibiotiques difficiles à traiter et des récurrences fréquentes dans lesquelles les biofilms pourraient jouer un rôle. Le portage asymptomatique de souches toxinogènes qui n'expriment pas les gènes de toxines participe à leur persistance et leur virulence pourra s'exprimer chez un autre hôte. *C. difficile* pose un problème de santé humaine, à l'hôpital et dans la communauté, mais aussi vétérinaire. Chez les animaux qui peuvent disséminer des spores et contaminer l'homme, l'importance de *C. difficile* reste mal évaluée : sa recherche n'est pas systématique, et celle de ses toxines encore plus rare.

Le projet CloDifEqui de l'Anses et l'INRAe, qui est financé notamment par l'Institut Français du Cheval et de l'Équitation, consiste à évaluer la fréquence de *C. difficile* chez les équidés autopsiés de 2019 à 2021 à l'Anses quelle que soit la cause de la mort.

A chaque autopsie, les données de l'animal (individuelles, cliniques, épidémiologiques) sont enregistrées et du contenu intestinal est prélevé pour rechercher *C. difficile*. Les souches isolées d'espèce confirmée constituent la collection CloDifEqui. Leurs principaux caractères génotypiques (gènes des toxines, ribotype ...) et phénotypiques (sporulation, mobilité, résistance aux antibiotiques, formation de biofilm ...) sont en cours d'étude et seront comparés à ceux de souches d'origine humaine ou animale. En parallèle, un diagnostic d'infection est établi en collaboration avec le CNR *C. difficile* par la recherche des toxines dans les contenus intestinaux présentant *C. difficile* et provenant d'équidés avec des signes d'infection intestinale. Cela permettra d'établir la fréquence de *C. difficile* chez les équidés, à la fois en cas d'infection et de portage asymptomatique. Les résultats de caractérisation des souches seront croisés avec les données individuelles et cliniques des animaux autopsiés, notamment leurs traitements antibiotiques antérieurs éventuels.

Après 80 autopsies, la collection CloDifEqui comprend 20 souches isolées d'animaux différents et caractérisées. L'analyse croisée de l'ensemble des données et résultats est en cours. Le projet devrait contribuer à mieux comprendre l'épidémiologie de *C. difficile* chez les équidés et à évaluer la circulation des souches, leur potentiel de transmission zoonotique et de persistance.

Mots clés : Clostridioides difficile - Equidés - Collection de souches - Géotypage - Phénotypage.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P20

Interaction of *Cutibacterium acnes* and bone cells

Fany Reffuveille¹ (fany.reffuveille@univ-reims.fr), Xavier Ohl^{1,2}, Jennifer Varin-Simon¹, Fabien Lamret¹, Lucien Brasme³, Véronique Vernet-Garnier³, Sophie C. Gangloff¹, Céline Mongaret^{1,4}

¹ EA 4691 BIOS, Université de Reims Champagne Ardenne, Reims, France

² Service d'Orthopédie et Traumatologie, CHU Reims, Reims, France

³ Laboratoire Bactériologie-Hygiène, CHU Reims, Reims, France

⁴ Service Pharmacie, CHU Reims, Reims, France

Background:

Cutibacterium acnes Bone Joint Infections (BJIs) are difficult to identify because of the absence of important clinical signs like inflammation. This commensal "bacteria" turns to be pathogenic thanks to its capacities to escape the immune system.

Objectives:

Our hypothesis is that this silent infection is caused by bacterial internalization in cells and/or biofilm formation and to go further, intracellular *C. acnes* develop virulent factors like biofilm abilities.

Methods and results:

We compared *C. acnes* clinical isolates from BJIs and from healthy patient (commensal). Internalization rate in osteoblast-like cells, biofilm formation (on plastic and titanium) and MLST profile were evaluated but it did not reveal any link between clinical origin, phylotype and phenotype.

After bacterial internalization by osteoblast-like cells, less than 1% of commensal bacteria were internalized and about $32.7 \pm 3.9\%$ persisted intracellularly for up to 48h without detection of cytotoxic effect. Surprisingly, we noticed that 50 % of the strains showed a significant increase in biofilm formation after osteoblast-like internalization (2.8-fold increase; $p < 0.05$; Mann Whitney test). BJI strains did not show the same phenomenon. Preliminary data have shown a difference in gene expression during biofilm formation between clinical isolates and post-internalization. Independently of the strain origins, live bacteria proportion within biofilm was revealed to increase thanks to fluorescent staining and biofilm formation was exacerbated on titanium.

We are analyzing our results to detect any link between *C. acnes* phenotype and clinical data.

Discussion and conclusion:

The interaction of naive-bone infection *C. acnes* with bone cells led to a change of the commensal strain phenotype. Some of them acquired a resistant behaviour to the host in forming biofilm with a strong attraction for titanium. These results reinforced the hypothesis of the hidden pathogenicity of these commensal bacteria.

References and acknowledgements: Project supported by AOL CHU Reims. Fabien Lamret supported by the French Region Grand Est and the Fondation URCA.

Mots clés : *Cutibacterium acnes* - Internalization - Bone and joint infection - Biofilm.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P21

Functional characterization of the ankyrin domain of the secreted *Legionella pneumophila* effector RomA

Monica Rolando^{1,2} (mrolando@pasteur.fr), Chung Ivy Yeuk Wah³, Miroslaw Cygler³, Carmen Buchrieser^{1,2}

¹ BBI, Institut Pasteur, Paris, France

² UMR 3525, CNRS, Paris, France

³ Department of Biochemistry, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada

Legionella pneumophila is a Gram-negative intracellular pathogen ubiquitous in natural environments and man-made water systems, where it replicates in numerous protozoa. Its intracellular life cycle depends on the establishment of a *Legionella* containing vacuole (LCV) through the remodeling of host vesicles and organelles, where the bacteria can safely replicate. The ability of the bacterium to set up the LCV depends on an efficient type-4 secretion system, secreting more than 300 effectors in the host cell. Among them RomA, encoding two domains: a N-terminal catalytic methyltransferase domain with SET fold, and a C-terminal domain with six ankyrin repeats. Previously we showed that the SET domain has histone methyltransferase activity and specifically methylates Lysine 14 of histone H3 *in vitro* and *in vivo*, in human macrophages. Here we investigated the function of the ANK domain present in RomA. We solved its crystal structure to understand how the effector recognizes Lys14 and what role the ankyrin repeats play in peptide binding.

Our preliminary data have shown that the ankyrin repeats located in the C-terminal part of RomA play a role in its enzymatic activity. Here we have co-crystallized RomA with a 15-mer peptide corresponding to the N-terminal tail of H3 at 2.2 Å resolution to understand the interplay of the SET and ANK domains. We observed, in the concave surface of the ankyrin domain, a deep tunnel with a slight hydrophobic character that recognized a specific sidechain. The N-terminal arm of the peptide, Thr3-Ala7, binds to the ankyrin repeat domain and the C-terminal arm, Gly13-Arg17, interacts with the SET domain, inserting Lys14 into the active site for methylation. Importantly, interactions of the five N-terminal residues with the ANK domain account for ~50% of the peptide-RomA contacts, suggesting that the ankyrin domain of RomA is essential for the N-terminus of histone H3 binding and subsequent lysine methylation. We confirmed these observations by *in vitro* enzymatic activities and binding assays, showing thereby that the ankyrin repeats in the C-terminal part of RomA are indeed essential for substrate binding.

Mots clés : *Legionella pneumophila* - Bacterial effectors - Epigenetics - SET-methyltransferase activity - Crystal structure.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P22

Identification of bacterial strains using ORI (Oxford nanopore Reads Identification)

Grégoire Siekaniec¹ (gregoire.siekaniec@inria.fr), Rania Ouazahrou², Gaëlle Boudry², Eric Guédon³, Emeline Roux¹, Jacques Nicolas¹

¹ Univ Rennes, Inria, CNRS, IRISA, Rennes, France

² NuMeCan, INRAE, INSERM, Univ Rennes, Saint-Gilles, France

³ STLO, INRAE, Agrocampus Ouest, Rennes, France

Introduction:

Bacterial taxonomic assignment is usually based on few ubiquitous genes (partial 16S rRNA sequence, MLST, ...). However, these approaches do not allow distinguishing them at the strain level. Thanks to the reduction in sequencing costs, it is now possible to consider a fine identification based on whole genome sequencing. Our project is based on the Oxford Nanopore technology (MinION device) generating long DNA sequences, but having a high error level (about 6% on raw reads). The main existing identification software are very efficient but stop at the genus or species level. We used *Streptococcus thermophilus*, a species with low genetic diversity, to develop and validate our bioinformatics tool allowing a rapid strain identification. We also extended our tool to other bacterial genus/species in more complex samples.

Material and methods:

Our software called ORI[1] [1] was used to identify bacterial strains or small cluster of "sibling strains" (which share the same genes content) on the following samples sequenced on MinION: *S. thermophilus* CIRM-BIA67 and JIM 8232 strains isolated or in a mix containing 4 or 6 *S. thermophilus* strains; *Lactobacillus delbrueckii* CIRM-BIA658; *Streptococcus pyogenes* STAB14018; a complex intestinal microbiota from piglet. Kraken2 was used to preselect *Escherichia coli* reads, then strains identification was performed by ORI.

Results and discussion:

ORI gave very good results on the identification of *S. thermophilus* strains mixtures and isolates at the level of strain or cluster of "sibling strains". *S. pyogenes* STAB14018 and *L. delbrueckii* CIRM-BIA658 were identified at the "sibling strain" level with two other close strains each. In the piglet intestinal microbiota, 8 different strains of *E. coli* were identified, 5 of them having been previously isolated from a piglet intestinal microbiota [2]. ORI proved to be efficient for strain(s) or small cluster(s) of "sibling strains" identification by Nanopore sequencing on different bacterial species, and can be extended by user to its favorite bacterial species.

[1] available at <https://github.com/gsiekaniec/ORI>

Mots clés : MinION - Oxford Nanopore Technologies (ONT) - Bacterial strain identification.

Références :

1. Grégoire Siekaniec, Emeline Roux, Eric Guedon, Jacques Nicolas. Bacterial strains identification using Oxford Nanopore sequencing. JOBIM2020, Jun 2020, Montpellier, France. hal-03121440
2. Poulain-Laparde D, Brouard JS, Gagnon N, Turcotte A, Langlois A, Matte JJ, et al. 2021. Resistance determinants and their genetic context in enterobacteria from a longitudinal study of pigs reared under various husbandry conditions. Appl Environ Microbiol. 87(8):e02612-20

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P23

In vitro study of the crosstalk between immune host cells and *Cutibacterium acnes* in bone and joint infections

Léa Thoraval¹ (lea.thoraval@univ-reims.fr), Frédéric Velard¹, Alexis Ferrari¹, Jenifer Varin-Simon¹, Sophie C. Gangloff¹, Céline Mongaret^{1,2}, Fany Reffuveille¹

¹ EA4691 "Biomatériaux et inflammation en site osseux" BIOS, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

² Service pharmacie, Centre Hospitalier Universitaire de Reims (CHU Reims), Reims, France

Introduction:

Cutibacterium acnes is a human skin commensal bacterium, regularly implicated in shoulder prosthesis infection [1]. The microorganism could hide from the immune system thanks to its internalization in host cells [2-3], explaining the low-grade clinical symptoms and consequently the delayed diagnosis [4]. This work aims to study the reciprocal behavioral changes between host inflammatory cells and *C. acnes* strains.

Methods:

C. acnes from the Pasteur Institute Collection (CIP 53.117, facial acne) and two clinical strains isolated from a bone prosthesis infection or not (pathogenic -Ep4- and commensal -C5-), were studied. Human primary neutrophils (PMNs) were cultivated with 96-hour planktonic bacterial cultures at MOI of 20:1 and 2:1, during 4 hours. IL-8 and TNF- α concentrations and MMP-9-related gelatinolytic activity were determined in culture supernatants by ELISA and zymography respectively. Expression of inflammatory mediators mRNA and stress-related bacterial genes were determined by RT-qPCR. Cell viability was assessed by measuring lactate-dehydrogenase activity. Host/pathogen interactions were imaged thanks to Scanning Electron Microscopy.

Results:

Interaction of PMNs and *C. acnes* induced a significant increase in IL-8 concentration in culture supernatants, responding in MOI dependent way, whatever the bacterial strain. Both clinical strains triggered higher PMNs response than the CIP strain. Only the MOI 20:1 allowed the production of TNF- α by PMNs. These results were in accordance with mRNA expression pattern in PMNs. Data showed a significant increase in MMP-9 activity at the highest MOI. A high gelatinolytic activity was noted for Ep4, even at 2:1. Otherwise, the mRNA of stress-related bacterial genes appeared to be more expressed in Ep4 than in the other strains in contact with PMNs. *C. acnes* infection seemed to have no cytotoxic effect on immune cells as detected by LDH assay. Scanning electron microscopy evidenced Neutrophils Extracellular Traps networks formation during cell/bacteria interaction.

Conclusion:

These first results suggest that *C. acnes* did not escape the PMN-mediated acute inflammation during inflammation set-up. The Ep4 strain seemed to generate a higher inflammatory reaction. To further investigate these results, we studied interactions between PMNs and *C. acnes* biofilms.

Mots clés : *Cutibacterium acnes* - Human primary neutrophils - Bone and joint infection - Inflammation.

Références :

1. Boisrenoult P et al. 2018. *Cutibacterium acnes* prosthetic joint infection: Diagnosis and treatment. *Orthop Traumatol Surg Res.* 104, S19-S24.
2. Coenye T et al. 2017. Biofilm formation by *Propionibacterium acnes* is associated with increased resistance to antimicrobial agents and increased production of putative virulence factors. *Res Microbiol.* 158, 386-392.
3. Mongaret C et al. 2020. *Cutibacterium acnes* biofilm study during bone cells interaction. *Microorganisms.* 8, 1409.
4. Portillo ME et al. 2013. *Propionibacterium acnes* : an underestimated pathogen in implant-associated infections. *Biomed Res Int.* 2013, 804-391.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P24

Les cellules cytotoxiques productrices de granzymes sont délétères pour la survie de l'hôte lors de l'infection par *Mycobacterium abscessus*

Hamadoun Touré¹ (hamadoun.toure@uvsq.fr), Lee Ann Galindo¹, Marion Lagune¹, Simon Glatigny¹, Isabelle Guéna², Jean-Louis Herrmann^{1,3}, Fabienne Girard-Misguich¹, Sébastien Szuplewski²

¹ U1173 Infection et Inflammation, Inserm/UVSQ, Montigny-le-Brétonneux, France

² Laboratoire de Génétique et Biologie Cellulaire, UVSQ, Versailles, France

³ GHU Paris-Saclay, Hôpital Raymond Poincaré, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Garches, France

Introduction et objectifs :

Mycobacterium abscessus (Mabs) est un pathogène opportuniste et multirésistant aux antibiotiques. Mabs est capable de survivre et se multiplier dans les phagocytes. Elle peut être retrouvée sous deux morphotypes : rugueux (R-Mabs) et lisse (S-Mabs), cette dernière étant considérée comme infectante chez l'Homme. Parmi les principaux modèles animaux utilisés pour l'étude de la physiopathologie de l'infection à Mabs, seule la drosophile est sensible à l'infection par S-Mabs. Au cours de ce travail, nous avons pu élucider les rôles respectifs des acteurs de la réponse innée de l'hôte mise en place lors de l'infection par S-Mabs.

Matériels et méthodes :

Des drosophiles femelles, de différents génotypes, âgées de 5 à 7 jours, ont été individuellement infectées par 10 CFU de S-Mabs contenues dans 50 nL de manière systémique, puis leur survie a été quotidiennement suivie.

Résultats, discussion et conclusion :

Après injection intrathoracique, S-Mabs est rapidement internalisé par les cellules phagocytaires de la drosophile, appelés plasmatocytes. La bactérie se multiplie dans ces cellules puis se propage de manière systémique, entraînant une mortalité dose-dépendante des mouches. Au cours de cette infection, les peptides antimicrobiens sont induits mais ne sont pas nécessaires à son contrôle. Comparativement, les drosophiles sans plasmatocytes ont une mortalité accrue. Nous avons mis en évidence le rôle d'une sous population de plasmatocytes, les thanacytes, dont la déplétion entraîne une résistance à l'infection par Mabs. En effet, les thanacytes altèrent la réponse des plasmatocytes par le biais d'enzymes induisant la mort cellulaire par cytotoxicité (granzymes B et H), déplaçant ainsi le seul réservoir cellulaire capable de contrôler l'infection. Ces résultats suggèrent que les thanacytes seraient les équivalents fonctionnels de cellules cytotoxiques chez les vertébrés tels que les « Natural killers (NK) cells ». Nous avons pu confirmer cette hypothèse chez la souris, en confirmant cet effet cytotoxique des NK sur les macrophages autologues infectés par S-Mabs

En conclusion, ces observations suggèrent que les cellules cytotoxiques (thanacytes, NK) éliminent les macrophages (plasmatocytes) infectés par l'intermédiaire des granzymes, sans pour autant altérer la croissance de Mabs, et sont donc délétères pour la survie de l'hôte face à l'infection par S-Mabs.

Mots clés : *Mycobacterium abscessus* - *Drosophila melanogaster* - Macrophages - Cellules cytotoxiques - Granzymes.

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

PR-P25

***In vitro* and *in vivo* study of pathophysiology of Usutu virus skin infection**

Axelle Vouillon¹ (axelle.vouillon@univ-poitiers.fr), Nicolas Lévêque^{1,2}, Yannick Simonin³, Magali GARCIA^{1,2}, Charles Bodet¹

¹ Laboratoire Inflammation, Tissus Épithéliaux et Cytokines, EA 4331, Université de Poitiers, Poitiers, France

² Laboratoire de virologie et mycobactériologie, CHU de Poitiers, Poitiers, France

³ UMR 1058 Pathogenesis and Control of Chronic Infections - Inserm, Université de Montpellier, Montpellier, France

Introduction and objectives:

Usutu virus (USUV) is an emerging arbovirus, closed to Dengue, Zika or West Nile viruses, transmitted to the host during the blood meal of a mosquito. Involved in many avian epizooties in Europe, human infection with USUV can be asymptomatic or lead to meningoencephalitis. The skin, mainly composed of keratinocytes, fibroblasts and immune cells, represents the initial site of this mosquito-borne virus inoculation and replication. Moreover, these skin cells express highly conserved pathogen-recognition receptors (PRRs) responsible for the recognition of pathogens and the initiation of the innate immune response. Currently, there is no published data concerning the skin innate immune response against USUV and targeted cells. The objectives of this work are to characterize (i) the permissiveness of primary human and mouse skin cells, (ii) the antiviral response induced and (iii) to identify PRRs leading to the viral sensing.

Material and method:

In order to better understand the pathophysiology of the skin infection by USUV, this work consisted in infecting *in vitro* primary human skin cells (keratinocytes, fibroblasts) and *in vivo* suckling mice with relevant USUV strains. Then, in a second part, recognition of USUV by innate immune receptors was assessed using CRISPR-Cas9 cell-lines. In both cases, viral replication in cell monolayers, supernatants or skin samples was analyzed by qRT-PCR and by immunolabelling and, production of infectious particles was quantified by titration. Finally, inflammatory and antiviral responses were characterized by using transcriptomic and proteomic analysis.

Results, discussion and conclusion:

Results showed an efficient replication of USUV in keratinocytes and fibroblasts *in vitro* responsible for a strong immune response. Skin infection, viral persistence and dissemination to distal cutaneous tissues have been observed in the mouse model. Finally, using the CRISPR Cas9 cell line one of the main innate immune receptor involved in USUV recognition and in the induction of the innate immune response has been identified. All together the results of this project allow a better understanding of the pathophysiology of early steps of USUV infection within the skin.

Mots clés : Usutu virus - Skin - Innate immunity - PRR - Persistence.

RS-P Risques et sécurité biologiques

RS-P01

Apport de la caractérisation des communautés microbiennes dans l'air dans un contexte de polyexposition à la prévention des risques professionnels: exemple des centres de tri de déchets ménagers recyclablesPhilippe Duquenne¹ (philippe.duquenne@inrs.fr), Xavier Simon¹, Jodelle Degois²¹ INRS, Vandoeuvre, France² IUCPQ – U. Laval, Québec, Canada

Une étude a été menée dans des centres de tri des déchets ménagers recyclables en vue d'étudier les populations microbiennes émises dans l'air par les activités de travail. Il s'agissait notamment d'étudier les concentrations (microorganismes cultivables, endotoxines), la diversité et la distribution granulométrique des microorganismes dans l'air au cours du temps et en fonction des zones de travail. Une campagne de mesure menée sur une année en France a permis de collecter 140 échantillons pour la mesure des microorganismes cultivables dans l'air et 112 autres pour les poussières inhalables. Par ailleurs, 44 mesures ont été effectuées avec l'impacteur en cascade Marple (22 échantillons pour les bactéries et les champignons cultivables et 21 échantillons pour les poussières). De même, un total de 84 échantillons de bioaérosols a été collecté pour l'analyse de la biodiversité.

Les résultats indiquent que les activités de tri génèrent des concentrations en poussières, en bactéries et moisissures cultivables pouvant atteindre des niveaux élevés (10 mg/m^3 ; $1 \times 10^6 \text{ UFC/m}^3$ et $5 \times 10^7 \text{ UFC/m}^3$, respectivement) et qui évoluent au cours du temps. Les mesures effectuées révèlent que les bioaérosols sont dominés par des particules de tailles supérieures à $10 \mu\text{m}$ pour les poussières inhalables et les entités bactériennes cultivables. Au contraire, les particules portant des entités fongiques cultivables sont majoritairement de tailles inférieures à $5 \mu\text{m}$. Ces données apportent des informations utiles pour éliminer les particules de l'air contaminé et pour prédire le dépôt des particules dans les voies respiratoires. Les résultats relatifs à la biodiversité révèlent la composition complexe des bioaérosols émis et ce, tout au long de l'année (phyla et genres dominants détaillés lors de la présentation). Une analyse avec un réseau Bayésien indique un effet significatif de la saison sur les aérosols fongiques mais aucun facteur n'a été identifié pour les bactéries.

Les données collectées apportent des informations nouvelles pour ces activités. Dans ce secteur d'activité, les travailleurs peuvent être exposés à d'autres nuisances, notamment chimiques (COV, etc.) ; l'exposé précise la contribution de données obtenues à la prévention dans ce contexte de polyexposition.

Mots clés : Bioaérosol - Tri des déchets - Communautés microbiennes - Biodiversité - Prévention des risques.

RS-P Risques et sécurité biologiques

RS-P02

GENBIO : une installation de laboratoire pour le développement de méthodes de prélèvement et d'analyses des bioaérosols

Pauline Loison (pauline.loison@inrs.fr), Lise Alonso, Catherine Coulais, Cécile Dziurla, Xavier Simon

Laboratoire de Métrologie des Aérosols, INRS, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

Introduction :

Les bioaérosols sont des particules en suspensions dans l'air constituées en tout ou partie d'entités et de composés d'origine biologique. Dans le domaine de la santé au travail, de nombreux secteurs professionnels sont concernés par les risques biologiques et la survenue d'affections respiratoires chez les travailleurs en lien avec l'inhalation de bioaérosols. L'évaluation de l'exposition des travailleurs aux agents biologiques par une approche métrologique apporte des informations utiles pour la prévention. Le développement de ces méthodes de mesure repose sur des expérimentations avec des bioaérosols modèles produits au laboratoire dans des conditions contrôlées et des travaux complémentaires dans les atmosphères professionnelles.

Matériels et méthodes :

Un banc d'essais de génération GENBIO composé d'un générateur bulleur conçu et réalisé par l'INRS et d'une enceinte permettant le conditionnement et le prélèvement du bioaérosol a été développé [1, 2]. L'aérosolisation des microorganismes s'effectue par bullage d'air comprimé à travers un film de culture liquide microbienne. Le passage d'air à travers ce film permet la formation de gouttelettes et de particules biologiques isolées qui sont ensuite entraînés par un flux d'air ascendant vers la sortie du générateur et l'enceinte de prélèvement. Les suspensions microbiennes utilisées pour les générations sont réalisées afin d'être le plus homogène possible d'un essai à un autre. Pendant la génération et suite au prélèvement, plusieurs paramètres microbiens (microorganismes cultivables, totaux, endotoxines, etc.) et physiques (nombre de particules, distribution granulométrique, etc.) peuvent être mesurés permettant de caractériser de manière complète l'aérosol d'essai.

Résultats et conclusion :

L'utilisation de ce banc a permis de générer et caractériser des bioaérosols constitués de différents microorganismes, bactéries (e.g. *Thermoactinomyces vulgaris*, *Geobacillus stearothermophilus*) ; spores de moisissures (e.g. *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*) et plus récemment bactériophages (Φ X174), seuls ou en mélange. Ces essais ont des applications multiples dont la comparaison des performances de biocollecteurs ou la production simultanée d'échantillons contaminés de manière homogène et maîtrisée. Une suspension microbienne constituée de 3 bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Serratia marcescens*) nous a permis de générer par exemple des concentrations en endotoxines d'~ 50 à 10000UE/m³ d'air couvrant ce qui peut être rencontré en atmosphère professionnelle.

Mots clés : Génération - Bioaérosols - Métrologie.

Références :

1. Simon X, Duquenne P, Jeandidier V. Dépôt de brevet français n°09 59364 «Cellule de génération d'aérosols et générateur d'aérosols pourvu d'une telle cellule». 2009:20p.
2. Simon X, Duquenne P, Koehler V, Piernot C, Coulais C, Faure M. Aerosolisation of *Escherichia coli* and associated endotoxin using an improved bubbling bioaerosol generator. *Journal of Aerosol Science*. 2011;42(8):517-31.

RS-P Risques et sécurité biologiques

RS-P03

Characterization of the cytosolic innate immune response during *Francisella tularensis* subsp *holarctica* infectionLéa Ponderand^{1,2} (lponderand@chu-grenoble.fr), Sandrine Boisset^{1,2}, Gabrielle Gay³, Thomas Henry³¹ Bactériologie, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France² Bacterial Pathogenesis and Cellular Responses, Institut de Biologie Structurale, Grenoble, France³ Inflammasome, infections bactériennes et autoinflammation, Centre International de Recherche en Infectiologie, Lyon, France**Introduction:**

Francisella tularensis is a Gram negative, intracellular pathogen responsible of tularemia and is classified as a potential biological weapon¹. The tularemia clinical presentation is most often a chronic lymphadenopathy, however severe systemic diseases with high mortality are also described². The high virulence of this pathogen is linked to its capacity to replicate within macrophages and escape the immune response³. IFN γ has been described as playing a major role in the control of intra-cytosolic bacterial proliferation⁴. More particularly, Reactive Nitrite oxide or Oxygen Species (RNS/ROS) induced by IFN γ , can block the bacterial growth⁵. These results have mostly been published with non-virulent *Francisella* strains.

Material and methods:

The intracellular bacterial replication is evaluated with Bones Marrow Derived Macrophages (BMDMs). Macrophages are distributed in 24 well-plates, and when applicable are pre-stimulated by IFN γ . *Francisella* strains are then added to the culture at the indicated MOI. The *Francisella* strains used are virulent clinical strains collected by the CNR and responsible of different clinical forms: a typhoid fever, an otomastoidite or an ulceroganglionar form. Because of the A classification of *Francisella tularensis*, every experiment has been realized in NSB3 laboratory.

At indicated time, macrophages are washed and lysed to collect the intracellular bacteria. The supernatant is then diluted and spread on agar plate and a colony count is realized 72h after.

The NO dosage was realized using the Griess Reagent Reaction on the culture media before macrophages lysis.

Results and discussion:

We describe here that a virulent strain, *Francisella tularensis* subsp *holarctica* (Fth) manage to escape the IFN γ response in a **medium-dependent manner**:

- in **CO2i medium**, IFN γ -stimulated macrophages significantly reduced Fth growth with a 4 Log10 reduction
- in **DMEM medium**, no robust growth restriction of Fth was observed

More particularly, the **NO concentrations** measured in both media showed concentrations 5-10 times higher in CO2i medium than in DMEM.

These results show that the ROS and RNS are likely part of effectors involved in the virulent *Francisella* strain replication restriction mediated by IFN γ . However, others effectors are under investigation with an RNaseq method.

Mots clés : *Francisella tularensis* - Innate immunity - ROS, RNS - IFN γ .

Références :

1. Oyston, P. C. F.; Sjostedt, A.; Titball, R. W. Tularemia: Bioterrorism Defence Renews Interest in *Francisella Tularensis*. Nat. Rev. Microbiol. 2004, 2 (12), 967–978. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1045>
2. Maurin, M.; Pelloux, I.; Brion, J. P.; Del Banõ, J.-N.; Picard, A. Human Tularemia in France, 2006–2010. Clin. Infect. Dis. 2011, 53 (10), e133–e141. <https://doi.org/10.1093/cid/cir612>.
3. Wallet, P.; Lagrange, B.; Henry, T. *Francisella* Inflammasomes: Integrated Responses to a Cytosolic Stealth Bacterium. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2016, 397, 229–256. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41171-2_12.
4. Nallaparaju, K. C.; Yu, J.-J.; Rodriguez, S. A.; Zogaj, X.; Manam, S.; Guentzel, M. N.; Seshu, J.; Murthy, A. K.; Chambers, J. P.; Klose, K. E.; Arulanandam, B. P. Evasion of IFN- γ Signaling by *Francisella Novicida* Is Dependent upon *Francisella* Outer Membrane Protein C. PloS One 2011, 6 (3), e18201. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018201>.
5. Lindgren, H.; Stenman, L.; Tärnvik, A.; Sjöstedt, A. The Contribution of Reactive Nitrogen and Oxygen Species to the Killing of *Francisella Tularensis* LVS by Murine Macrophages. Microbes Infect. 2005, 7 (3), 467–475. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2004.11.020>.

RS-P Risques et sécurité biologiques

RS-P04

Impact du procédé de dépôt et des produits chimiques employés en spectrométrie de masse MALDI-TOF sur l'inactivation de différents germes bactérien

Amandine Wilhelm (amandine.wilhelm@anses.fr), Laurine Couturier, Benoit Gassilloud

Laboratoire d'Hydrologie de Nancy, unité de microbiologie, Anses, Nancy, France

La spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight) est une méthode d'identification qui présente de nombreux avantages. Elle permet d'identifier rapidement, de manière robuste et répétable le genre et l'espèce d'une bactérie isolée d'un échantillon. La méthodologie est simple et peu coûteuse dans son application ce qui constitue ainsi une véritable alternative à l'emploi des méthodes biochimiques, sérologiques voir moléculaires (PCR ou de séquençage).

Cependant il faut garder en tête que l'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF nécessite de travailler avec une biomasse importante (10^5 à 10^7 CFU) ce qui peut générer un risque pour l'opérateur. Le positionnement du spectromètre de masse ainsi que son entretien sont également des points de vigilance à prendre en considération d'autant plus que ces automates sont pour certains, pour des raisons pratiques, placés à l'interface de différents laboratoires sous forme de plateformes ou plateaux techniques qui prennent en charge l'analyse de plaques sur lesquelles ont été déposées des échantillons biologiques provenant du domaine vétérinaire, du domaine alimentaire ou du domaine de l'environnement. L'utilisation de produits chimiques tels que la matrice HCCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acide) en association ou non avec de l'acide formique lors du dépôt des micro-organismes sur les plaques avant analyse ou bien encore l'extraction et la purification des protéines préalablement à leurs dépôts permettraient de limiter le risque de contamination. Les différents produits cités ci-dessus provoqueraient en effet une inactivation des microorganismes déposés.

Dans le cadre de ce travail nous avons vérifié, sur un panel représentatif de micro-organismes manipulés (bacilles, coques, gram positifs ou négatifs), que les différents procédés et produits chimiques employés produisaient un effet inactivant. La méthodologie suivie ainsi que les résultats et conclusions obtenus seront détaillés sur le poster affiché et présentés en public.

Mots clés : Bactérie - MALDI-TOF - Inactivation - Biosécurité.

SC-P SARS-CoV-2

SC-P01

SARS-CoV-2

Comparison of rapid and automated antigen detection tests for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection

Dorian Petonnet¹ (petonnet.dorian@gmail.com), Stéphane Marot^{1,2}, Isabelle Leroy¹, Julien Cohier¹, Charline Ramahefasolo¹, Safietou Mansaly¹, Vincent Calvez^{1,2}, Anne-Geneviève Marcelin^{1,2}, Sonia Burrel^{1,2}

¹ Service de Virologie, APHP.SU GHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France

² Sorbonne Université, INSERM U1136, IPLESP, Paris, France

Aim:

Viral RNA detection in nasopharyngeal samples (NPS) through RT-PCR is considered the standard gold method for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Viral antigen detection may be an interesting alternative as less laborious or expensive methods but require validation. This study aimed to compare the performance of the DiaSorin™ LiaisonXL automated quantitative antigen test (QAT) and the AAZ™ rapid antigen test (RAT) to the DiaSorin™ MDX RT-PCR assay.

Methods:

A total of 87 positive and 155 negative left-over NPS were consecutively selected among fresh routine samples collected from individuals tested at La Pitié-Salpêtrière University Hospital (Paris, France) between December 1, 2020 and January 18, 2021. Performances for the detection of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 and B.1.351 variants were further investigated from viral culture supernatants. Samples were analyzed according to manufacturer's instructions and equivocal results were considered positive. RATs were visually read for qualitative results and band intensity was determined using ImageJ® tool. Antigen concentration measured using QAT and RAT band positivity were compared.

Results:

Overall sensibility was 63.2% (95% confidence interval [CI]: 54.5%-74.9%) for QAT and 58.6% (48.3%-70.0%) for RAT with a specificity of 100% for both tests. For RT-PCR crossing threshold (Ct) value <25, sensitivity was 89.8% (89.7%-89.9%) and 88.6% (88.5%-88.7%) for QAT and RAT, respectively. Both tests showed comparable sensitivity for detection of variants. There was a good relationship between antigen concentration and band positivity.

Conclusion:

These results are comparable with previous published studies and show on a same set of samples that these tests share similar performances.

Mots clés : COVID-19; SARS-CoV-2 - Antigen testing - Manual assay - Automated assay.

SC-P SARS-CoV-2

SC-P02

SARS-CoV-2

Utiliser les coquillages pour surveiller la contamination du littoral par SARS-CoV-2 : mise au point de méthodes et suivi sur un an

Marion Desdouits¹ (marion.desdouits@ifremer.fr), Jean-Côme Piquet¹, Candice Wacrenier¹, Cécile Le Mennec¹, Sylvain Parnaudeau¹, Sarah Jousse¹, Sophie Rocq¹, Lionel Bigault², Maud Contrant², Pascal Garry¹, Yannick Blanchard², Françoise S. Le Guyader¹

¹ Laboratoire Santé Environnement Microbiologie, Ifremer, Nantes, France

² Génétique Virale et Biosécurité, ANSES, Ploufragan, France

Introduction et objectifs :

L'environnement littoral peut être contaminé par des virus présents dans les eaux usées, comme les norovirus qui sont ensuite bio-accumulés par les coquillages bivalves filtreurs. L'excrétion fécale du SARS-CoV-2 et sa détection dans les eaux usées ont donc suggéré une possible contamination du littoral par ce virus selon le même mécanisme. Des méthodes normalisées existent pour la détection de virus non enveloppés comme les norovirus mais celle des coronavirus, enveloppés, pouvait nécessiter une optimisation.

Nos objectifs étaient de :

- tester des méthodes permettant la détection des coronavirus dans l'eau de mer et les coquillages ;
- vérifier si les coronavirus (notamment le SARS-CoV-2) peuvent contaminer les huîtres ;
- surveiller la présence de SARS-CoV-2 dans des échantillons du littoral français.

Matériel et méthodes :

De l'eau de mer côtière et des huîtres commerciales ont été contaminées en laboratoire par un coronavirus porcine de substitution (PEDV), un virus contrôle proche des norovirus (virus Tulane) ou du SARS-CoV-2 inactivé thermiquement. Différentes méthodes d'éluion, de concentration et d'extraction ont été comparées pour leur rendement en génome viral, quantifié par RT-PCR quantitative. Ces méthodes ont été appliquées à 420 échantillons de coquillages et d'eau de mer collectés entre avril 2020 et mai 2021 sur des sites côtiers sélectionnés pour leur potentielle contamination fécale.

Résultats, discussion et conclusion :

Sur l'eau de mer, les méthodes ont montré une faible efficacité et une forte variabilité. Sur les huîtres, la norme actuelle de détection des norovirus s'est avérée efficace pour les coronavirus. Des huîtres ont pu être contaminées par du SARS-CoV-2 inactivé, avec une efficacité réduite par rapport au virus Tulane. Sur le littoral français, si les norovirus ont pu être détectés avec une prévalence moyenne de 25%, aucun échantillon ne s'est révélé positif pour le SARS-CoV-2.

Nos résultats ont permis d'identifier des méthodes efficaces pour la détection de SARS-CoV-2 dans le littoral, en utilisant les coquillages comme sentinelles de la qualité microbiologique de leur milieu. L'absence de détection du SARS-CoV-2 dans les échantillons collectés sur les côtes suggère que le littoral français n'a pas été contaminé par ce virus à des niveaux significatifs.

Mots clés : SARS-CoV-2 - Environnement - Coquillage - Eau de mer - Méthode de détection.

SC-P SARS-CoV-2

SC-P03

SARS-CoV-2

Intérêt des essais interlaboratoires dans la validation d'un indicateur national de suivi épidémiologique de l'épidémie de SARS-COV-2 par les eaux usées (en France)

Pascal Garry (pascal.garry@ifremer.fr), Joanna Ollivier, Julien Shaeffer, Sarah Jousse, Soizick F. Le Guyader

Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie, Ifremer, Nantes, France

Introduction et objectifs :

Le consortium Obépine (Observatoire épidémiologique dans les eaux usées) a développé un outil de surveillance épidémiologique de la circulation du SARS-CoV-2 dans les eaux usées. Cet outil est un indicateur basé sur la quantification du virus RT-qPCR dans les eaux usées prélevées dans 168 stations couvrant le territoire national et l'outre-mer. L'utilisation opérationnelle, dans la surveillance épidémiologique de l'épidémie, de l'indicateur de tendances construit selon des modèles mathématiques nécessite de s'assurer que les laboratoires du réseau sont en capacité de rendre des résultats homogènes et justes. L'organisation de comparaisons inter-laboratoires (CIL) est un moyen permettant de s'en assurer. Plusieurs CIL ont été réalisées, seule la dernière fait l'objet de cette présentation.

Matériels et méthodes :

Cinq échantillons d'eau usée identiques et naturellement contaminés par du SARS-CoV-2 ont été envoyés aux laboratoires participants, ainsi qu'un sixième non contaminé afin de vérifier la spécificité des méthodes appliquées. Chacun des laboratoires a été évalué selon deux paramètres : la fidélité et la justesse respectivement évaluées par la statistique χ^2 de Mendel et le score Z. En l'absence méthode normalisée, les participants ont appliqué l'approche quantitative utilisée au sein de leur laboratoire. Les séquences cibles de la RT-qPCR pour cet essai étaient le gène RdRp IP4, le gène CoV E.

Résultats, discussion et conclusion :

Vingt-trois laboratoires ont participé à l'essai. Les valeurs assignées (calculées à partir des résultats de l'ensemble des participants) étaient de 4,79 et 4,67 unités Log cRNA/L respectivement pour le gène RdRp IP4 et le gène CoV E. Pour le gène RdRp IP4, huit laboratoires ont obtenu des résultats non satisfaisants et deux laboratoires des résultats discutables. Pour le gène CoV E, cinq laboratoires ont obtenu des résultats non satisfaisants et deux laboratoires des résultats discutables. Un laboratoire a détecté le virus dans l'échantillon négatif.

La majorité des résultats non satisfaisants est liée à un problème de fidélité (dispersion importante des valeurs obtenues par le laboratoire pour un même échantillon). Un travail pour identifier et comprendre l'origine des différences entre laboratoires a été initié. L'amélioration de la performance des laboratoires passe également par la standardisation de la méthode (normalisation).

Mots clés : SARS-CoV-2 - Comparaison inter-laboratoire - Eaux usées - RT-qPCR.

SC-P SARS-CoV-2

SC-P04

SARS-CoV-2

Suivie du SARS-Cov-2 dans les eaux résiduaires des stations d'épuration en zones rurales et corrélation avec les données sanitaires

Dolores Montiel¹ (dolores.montiel@cd31.fr), Sarah Ghuione¹, Dimeglio Chloé^{2,3}, Abravanel Florence^{2,3}, Yann Oudard⁴, Jacques Izopet^{2,3}

¹ LD31 EVA, Launaguet, France

² Laboratoire Virologie, CHU Toulouse Purpan, Toulouse, France

³ INSERM UMR 1291CNRS UMR51, Institute for Infectious and Inflammatory Diseases, Toulouse, France

⁴ Réseau31, Toulouse, France

Introduction et objectifs :

Le Syndicat Mixte RESEAU31 en partenariat avec le LD31 EVA, a mis à point un système de vigilance et alerte précoce sur le territoire de la Haute Garonne sur des petites stations d'épuration.

Sur une période de prélèvements continue des eaux usées, nous avons cherché à déterminer s'il existait un lien entre les charges virales retrouvées dans les eaux usées, et le taux de positivité au SARS-CoV-2 retrouvé sur les centres de prélèvements des CHU de Toulouse (Drives).

Matériels et méthodes :

Une trentaine de stations d'entre 2 000 à 30 000 EqH ont été suivies depuis août 2020 avec une fréquence bimensuelle et deux stations ont été sélectionnées pour un suivi hebdomadaire de Mars à Mai. Les prélèvements sont réalisés par RESEAU31 en entrée de STEP sur 24h à l'aide d'un échantillonneur asservi au volume et les analyses sont effectuées au LD31 EVA dans les eaux usées et boues en appliquant des méthodes de RT-PCR.

Les données consolidées chaque semaine sont ensuite diffusées aux services de l'Etat et au CHU de Toulouse afin de les guider dans leurs actions. Elles sont également mises en ligne depuis mai 2021.

Nous avons exploité les données sur les charges virales retrouvées dans les eaux usées de la commune de Plaisance-du-Touch entre le 30/03/2021 et le 09/04/2021. Nous avons cherché à établir s'il existait une corrélation (test de Spearman) entre ces charges virales et les taux de positivité des tests RT-PCR sur la même commune pour des délais variant de j+0 à j+19.

Résultats, discussion et conclusion :

Des données préliminaires locales établissent un délai de 9 jours d'écart entre la détection de la charge virale dans les eaux résiduelles et le taux de positivité RT-PCR retrouvé chez les patients de la même localité. Mais ces premiers résultats nécessitent une validation complémentaire sur d'autres localités.

D'autres résultats hebdomadaires ont mis en évidence de brutales augmentations de charges virales et ils ont également permis d'évaluer localement l'effet des politiques publiques. L'identification de boues sans SRAS-CoV2 peut être une solution pour un retour à la terre des boues liquides non-hygiénisées pour l'instant proscrit.

Mots clés : SARS-CoV-2 - STEP - RT-PCR.

SC-P SARS-CoV-2

SC-P05

SARS-CoV-2

Gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de COVID-19 au Laboratoire de Microbiologie du CHU Mohammed VI d'Oujda

Abderrazak Saddari (saddariabderrazak@gmail.com), Adnane Aarab, Adil Maleb

Laboratoire Central, CHU Mohammed VI, Oujda, Faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed Premier, Oujda, Oujda, Maroc

Introduction :

L'objectif de notre étude était de démontrer l'impact positif du respect des recommandations de sécurité ainsi que la mise en œuvre des circuits sur la prévention des contaminations professionnelles par le SARS-CoV-2.

Matériels et méthode :

Il s'agit d'une étude rétrospective allant du 09/04/2020 au 27/03/2021, incluant toutes les demandes de RT-PCR SARS-CoV-2 ainsi que les demandes d'examen bactériologiques reçus au laboratoire de microbiologie du CHU Mohammed VI d'Oujda. Un logigramme des circuits des différents prélèvements a été mis en œuvre pour prévenir les contaminations chez le personnel du laboratoire.

Résultats :

Nous avons traité 148265 échantillons nasopharyngés. Les échantillons positifs (nouveau cas, contrôles de guérison) représentaient 13,6% (n=20168). Parallèlement à ceci, le laboratoire recevait des demandes d'examen bactériologiques de différents niveaux de risque. Aucun cas de contamination professionnelle n'a été signalé chez le personnel du laboratoire.

Conclusion :

Le laboratoire a instauré une procédure rigoureuse avec l'installation d'un circuit dédié pour chaque type de prélèvements : «circuit A» pour les prélèvements nasopharyngés dirigés vers le laboratoire de biologie moléculaire et traités par RT-PCR, «circuit B» pour les autres prélèvements à risque (liquide pleural, PDP...) venants de patients confirmés positifs, dans les deux circuits le port d'équipement de protection individuel et le respect des mesures de sécurité biologique niveau 2 était obligatoire. Le troisième «circuit C» était destiné aux échantillons sans ou à faible risque de contamination. Ainsi, le laboratoire a pu minimiser et contrôler tout risque de dissémination pour assurer la protection du personnel durant la pandémie.

Mots clés : SARS-CoV-2 - RT-PCR - Gestion des prélèvements - Sécurité biologique.

SC-P SARS-CoV-2

SC-P06

SARS-CoV-2

Séroprévalence du SARS-COV-2 chez le personnel du centre hospitalier universitaire Mohammed vi d'Oujda-Maroc

Abderrazak Saddari (saddariabderrazak@gmail.com), Adnane Aarab, Adil Maleb

Laboratoire Central, CHU Mohammed VI, Oujda, Faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed Premier, Oujda, Oujda, Maroc

Introduction :

Dans le cadre d'une stratégie globale préconisée par le Centres pour le contrôle et la prévention des maladies (CDC), le Ministère de la santé au Maroc a lancé une initiative de mise en place de séro-surveillance de SARS-CoV-2 chez la population marocaine, cette étude avait comme objectifs: Suivre le degré de propagation du virus dans la population, mesurer le taux d'immunisation contre l'infection COVID-19 et évaluer l'impact des mesures de riposte nationale sur la progression de l'épidémie.

Materiels et méthode :

Le personnel du CHU Mohammed VI d'Oujda était en tête des populations ciblées par cette étude rétrospective allant du 15/12/2020 au 31/12/2020, une fiche d'exploitation a permis de collecter les données personnelles et cliniques. La recherche qualitative des anticorps IgG anti-SARS-COV-2 était réalisée sur ARCHITECT-i1000SR Abbott. Les prélèvements non conformes étaient exclus.

Résultats et discussion :

Le laboratoire de microbiologie a colligé 1335 prélèvements de sang, le sexe féminin était predominant avec un sexe ratio de (f/m=1,65), l'âge moyen était 30 ans. La recherche sérologique a trouvé 400 (30%) cas positifs, dont (n=216;54%) qui étaient des anciens cas de covid-19 et (n=110;27,5%) avaient un contact positif, tandis que (n=74;18,5%) n'avaient aucun antécédent lié à covid-19. Parmi ces cas positifs, 2% (n=8) avaient comme antécédent une maladie respiratoire, (n=9;2,25%) avaient un diabète ou hypertension artérielle et (n=9;2,25%) sont suivis pour autres maladies chroniques. Les résultats négatifs étaient au nombre de 935 (70%) dont 94 étaient testés précédemment positifs à SARS-COV-2.

Conclusion :

La séro-surveillance de SARS-CoV-2 qui est toujours en cours a donné une idée sur le vrai taux d'atteinte du personnel du CHU d'Oujda par le virus, et permettra à sa fin de bien comprendre le profil épidémiologique de la pandémie.

Mots clés : Séroprévalence - SARS-CoV-2 - Covid-19.

SP26-P Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-P01

Mobile Genetic Element drives diversification of T4SS effectors in the pathogenic *L. pneumophila*

Juliette Bougnon^{1,2} (juliette.bougnon@univ-lyon1.fr), Guillaume Carrillo^{1,2}, Vincent Daubin², Patricia Doublet¹, Elisabeth Kay^{1,3}

¹ Pathogénèse des Légionelles, CIRI U1111, Villeurbanne, France

² LBBE UMR5558, Villeurbanne, France

³ CNRS, Villeurbanne, France

Introduction and objectives:

Legionella pneumophila is a facultative intracellular bacterium capable of invasion and replication in a large variety of protists (natural host) and in human alveolar macrophages, resulting in a potentially fatal pneumonia called Legionnaire's disease. To successfully infect host cells and hijack the cellular metabolism, *L. pneumophila* secretes more than 300 proteins called effectors, through its Type IV-Secretion System (T4SS). In our laboratory, we characterized an attenuated clinical isolate of *L. pneumophila* affected in major virulence-associated phenotypes. Comparative genomic and transcriptomic analyses with the parental strain revealed that insertion of a mobile genetic element (MGE) disrupted a gene coding for a T4SS effector and strongly affected the expression level of other neighboring effector-encoding genes. Our objective was to determine how this MGE impacts virulence in this isolate by focusing on the role of the impacted effectors in the replication cycle of *L. pneumophila*.

Material and method:

We investigated the expression level of these effectors encoding-genes during the replicative cycle of *L. pneumophila* using Northern Blot and RT-PCR analyses. Then, to determine their role, we compared intracellular replication kinetics of wild type and mutant strains in both macrophages and amoebas and performed heterologous expression in yeast. Protein-protein interactions and effector translocation inside host cells were also investigated.

Results, discussion and conclusion:

MGE integration into the chromosome of *L. pneumophila* disrupts an effector gene in two parts, each encoding distinct mRNA. Heterologous expression in yeast of each part resulted in no or little growth defect. However, concomitant expression of both parts restored the strong growth defect phenotype observed when the entire gene sequence of the parental strain is expressed. We then demonstrated that each part of the protein possesses a specific protein domain activity: one is responsible for yeast toxicity and interaction with a neighboring effector while the other is involved in effector translocation inside the host cell through T4SS. In conclusion, our results demonstrated that, even disrupted, this effector retains its specific activity in host cells and underlined the role of MGE and intermolecular recombination events in the diversification of the repertoire of effectors in *L. pneumophila*.

Mots clés : Legionella pneumophila - MGE - Virulence factor.

SP26-P Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-P02

Etude comparative de méthodes d'extraction d'ADN bactérien à partir d'échantillons du milieu marin

Erwan Bourdonnais¹ (erwan.bourdonnais@anses.fr), Thomas Brauge¹, Cédric Le Bris², Sabine Debuiche¹, Graziella Midelet¹

¹ Bactériologie et Parasitologie des Produits de la Pêche et de l'Aquaculture, ANSES - Laboratoire de Sécurité des Aliments, Boulogne-sur-Mer, France

² Université Littoral Côte d'Opale, Boulogne-sur-Mer, France

L'extraction d'ADN de haute qualité à partir d'échantillons environnementaux est une étape cruciale pour une analyse moléculaire réussie, comme la qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction) ou une approche de métagénomique. Néanmoins, extraire de l'ADN bactérien à partir d'échantillons issus de l'environnement marin peut être un défi en raison de la présence d'inhibiteurs et de contaminants. L'objectif de cette étude a été de comparer 7 techniques d'extraction à partir d'échantillons marins (phytoplancton, zooplancton, mollusques bivalves et poissons plats) afin d'obtenir de l'ADN bactérien de bonne qualité et en quantité suffisante pour être amplifié par qPCR.

L'ADN bactérien a été extrait d'échantillons de phytoplancton, de zooplancton, de mollusques bivalves, de peau, branchies et viscères de poissons plats avec 6 kits d'extraction: DNeasy Blood and Tissue (Qiagen), PowerBiofilm (Qiagen), PowerSoil (Qiagen), GenElute Stool (Sigma), PureLink Microbiome (Invitrogen), Wizard Genomic (Promega) et une méthode de lyse cellulaire par choc thermique. L'estimation de la pureté (ratio A260nm/A280nm) et la concentration d'ADN extrait ont été déterminées par spectrophotométrie. L'ADN bactérien a été quantifié par qPCR en ciblant les gènes *tuf* (gène de ménage bactérien, présent en monocopie) et *hlyA* (gène de virulence spécifique de notre contrôle interne d'extraction, *Listeria monocytogenes*).

La concentration d'ADN la plus élevée avec une pureté satisfaisante a été obtenue en utilisant le kit PowerBiofilm pour la majorité des échantillons étudiés. Par ailleurs, les résultats de qPCR démontrent que ce sont les ADN bactériens extraits avec les kits PowerBiofilm et PureLink Microbiome qui ont été les plus amplifiés. Pour les différents échantillons issus du milieu marin, le kit PowerBiofilm a permis la meilleure extraction d'ADN bactérien en termes de quantité et de qualité, et était amplifiable par qPCR. Il était important de disposer d'une méthode d'extraction d'ADN unique pour l'étude de différents échantillons afin de développer par la suite une approche de métagénomique pour l'étude de la résistance aux antibiotiques au sein d'un réseau trophique marin.

Mots clés : Extraction d'ADN - qPCR - Écologie microbienne marine.

SP26-P Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-P03

Évaluation des capacités de résistance et de dégradation de fongicide par des champignons filamenteux

Augustin Dunand-Alm (augustin.dunand-alm@cpe.fr), Pierre-Xavier Maziani, Heidi Böhnert, Abdelkader Selmi

Biofactory, CPE Lyon FCR, Villeurbanne, France

Objectif de l'étude :

Le tébuconazole et le pyriméthanil sont deux molécules organiques fongicides utilisées dans l'agriculture qui possèdent des effets toxiques sur le vivant ainsi qu'une grande persistance dans les sols et milieux naturels. Les champignons filamenteux sont importants dans la biodégradation des molécules organiques grâce au riche arsenal enzymatique qu'ils sont capables de sécréter. Cette étude vise à caractériser les capacités de résistance de souches sauvages de champignons filamenteux prélevés sur des sols contaminés par de fortes teneurs en polluants organiques et évaluer leurs potentiels de dégradation du tébuconazole et du pyriméthanil. En parallèle, des essais de cultures sur support solide à cellule ouverte seront réalisés pour évaluer leur effet sur la croissance des champignons et leur potentiel de bioremédiation.

Matériel et méthodes :

7 souches de champignons filamenteux extraites de sols contaminés par des polluants organiques ou possédants une capacité de dégradation de la cellulose ou de la lignine sont testées. Leurs capacités de résistance sont évaluées par la concentration minimum de tébuconazole ou pyriméthanil permettant d'inhiber leur croissance. Les essais de dégradations sont réalisés en milieu liquide en présence et en absence d'une autre source de carbone, en présence ou en absence de support solide, et à une concentration en fongicide permettant une croissance des champignons. Le déroulement du processus de dégradation est étudié à l'aide de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Résultats et conclusion :

Les résultats préliminaires de résistance indiquent une résistance au tébuconazole et au pyriméthanil pour certaines souches. Les essais de dégradations du tébuconazole et du pyriméthanil (en milieu liquide ou sur support immergé) sont en cours. Ces travaux amèneront à identifier le mécanisme de résistance et de caractériser les éventuelles voies métaboliques responsables de la bioremédiation de ces molécules : identifier les produits de dégradation, ainsi que les enzymes impliquées et leurs modes d'induction. Il s'agira enfin de créer un modèle de dégradation utilisable à l'échelle d'un bioréacteur.

Mots clés : Champignon filamenteux - Biorémédiation - Biodégradation - Support solide - Fongicide.

SP26-P Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-P04

Caractérisation des glycanes impliqués dans les interactions entre huître et virus entériques humains

Gabriel Euler¹ (gabriel.euler@ifremer.fr), Audrey Auger², Adrien Breiman³, Jennifer Jazat³, Béatrice Le Moullac-Vaidye³, Frédéric Chirat², Marion Desdouts¹, Jacques Le Pendu³, Yann Guerardel², Françoise S. Le Guyader¹

¹ Laboratoire Santé Environnement Microbiologie, Ifremer, Nantes, France

² Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle UMR 8576, CNRS - Université de Lille, Villeneuve-d'Ascq, France

³ CRCINA, UMR 1232, INSERM CNRS, Nantes, France

Introduction et objectifs :

Les norovirus et rotavirus sont les principaux responsables des gastro-entérites virales chez l'Homme. Présents dans les eaux usées, ils peuvent contaminer l'environnement. Dans le milieu littoral, ils peuvent être bio-accumulés par des mollusques filtreurs et entraîner des toxi-infections alimentaires chez les consommateurs de coquillages. Ces deux virus ont comme point commun d'interagir avec les antigènes tissulaires de groupe sanguin (HBGA) à la surface de l'épithélium intestinal de l'Homme. De précédentes études ont montré qu'au moins une molécule similaire est exprimée par les huîtres, mais sa nature exacte et son rôle dans l'accumulation des virus humains restent mal connus. L'objectif de cette étude est donc de caractériser la structure des glycanes HBGA de l'huître, d'identifier les cellules qui les expriment et d'étudier leur impact sur les interactions huîtres – virus humains.

Matériel et méthodes :

Des huîtres (*Crassostrea gigas*) ont été prélevées et disséquées, et les N-glycanes des différents tissus analysés par spectrométrie de masse pour identifier leur structure. Un protocole de dissociation douce a été mis au point pour isoler les cellules d'huîtres et observer l'expression de différents glycanes HBGA par immunomarquage et cytométrie en flux. Des particules pseudovirales (VLP) fluorescentes de différentes souches de norovirus ou portant la protéine VP8* de rotavirus ont été utilisées pour observer les interactions cellules d'huîtres – virus par immunohistologie et cytométrie en flux.

Résultats, discussion et conclusion :

Des analogues glycaniques partiellement méthylés des HBGA humains de type A et ALeb ont été caractérisés dans différents tissus d'huître. En parallèle, des antigènes glycaniques ont été détectés par des anticorps anti-A et anti-Leb dans les tissus d'huître et sur des populations de cellules issues de ces tissus. Ces cellules peuvent également interagir avec des VLP de norovirus GI.1 et GI.4 *in vitro*. Ces résultats suggèrent que les glycanes méthylés exprimés par l'huître lui permettent de lier les norovirus. Des HBGA synthétiques, méthylés ou non, permettront de confirmer ce mécanisme. Les cellules exprimant ces glycanes seront caractérisées afin d'identifier les gènes responsables de leur expression qui pourraient constituer des cibles pour lutter contre la contamination.

Mots clés : Norovirus - Rotavirus - Glycane - Huîtres - HBGA.

SP26-P Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-P05

Resistance to antibiotics by efflux in multidrug resistant *Enterobacteriaceae*: detection, prevalence and development of a technique allowing use for diagnostic purposes

Aurélie Ferrand (ferrand.aurelie@hotmail.fr), Anne Davin-Regli, Jean-Marie Pagès, Julia Vergalli

Faculté de Pharmacie - MCT-UMR MD1, Marseille, France

Introduction and objectives:

The emergence of multidrug-resistant clinical strains is a public health problem in the management and treatment of associated infections. Several resistance mechanisms are present in a single strain, and antibiotic efflux is often found at the same time as enzyme resistance and / or target mutations. RND (Resistance Nodulation cell Division) efflux pumps, with AcrAB as the leader, are the pumps mainly involved in *Enterobacteriaceae*. Routinely in the laboratory, only enzyme resistance and target mutations can be identified. The development of a diagnostic system to detect the presence of efflux could help in improving the management of infected patients.

Materials and methods:

Clinical strains of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. aerogenes*, *K. oxytoca*, *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter koseri* were used in our study.

Fluoroquinolones and chloramphenicol were used to perform antibiotic sensitivity tests to determine the minimum inhibitory concentrations (MIC) in the presence or absence of a pump inhibitor, phenylalanine arginine β -naphthylamide (PA β N) at 20 μ g / mL. Broth microdilution in Mueller Hinton II, in the presence of iodinitrotetrazolium chloride (INT) after an incubation of 18 hours at 37° C, make it possible to obtain the different MICs.

Enrofloxacin at a concentration of 3 μ g / mL was used to perform intracellular accumulation tests in intact *Enterobacteriaceae* with or without carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP) at 20 μ M (collapsing pump energy). The results were monitored by spectrofluorimetry after incubation at 25° C., overnight, in 0.1M glycine-HCl lysis buffer.

Results discussion and conclusion:

The determination of MICs with or without PA β N makes it possible to discriminate the strains according to this phenotype. Optimization of the spectrofluorimetric determination of intracellular accumulation level of enrofloxacin has enabled us to refine a reproducible protocol for routine use. The availability of a semi-quantitative efflux threshold makes it possible to consider the application of this test for diagnostic purposes in the laboratory.

Mots clés : *Enterobacteriaceae* - Efflux pumps - Multidrug resistance - Clinical strains - Fluoroquinolones.

SP26-P Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-P06

Characterization of key enzymes involved in mycobacterial survival in the host

Dimitri Leonelli (dimitri.leonelli@ipbs.fr), Hédia Marrakchi, Anne Lemassu

IPBS, Toulouse, France

Introduction and objectives:

Mycobacterium tuberculosis (*Mtu*), the etiological agent of tuberculosis, causes more than one million deaths each year despite antibiotic therapy and an available vaccine. The resurgence of multidrug-resistant strains to many drugs highlight the urgent need to develop new antituberculous molecules. In hostile conditions, *Mtu* is able to adapt its metabolism and its unique cell wall composition to survive. The pathways involved in this ability of *Mtu* to persist in host macrophages constitute new anti-virulence potential targets.

Materials and methods:

Proteins involved in stress responses have been identified. Deletion and overexpression mutants of pertinent candidates have been constructed in *Mycobacterium smegmatis* and the pathogenic species *Mtu*. Analyzing the response to several extrem environments of those mutants allowed us to understand their role in this adaptation process. Candidates were also expressed and purified and their enzymatic activity tested *in vitro* on various molecules to investigate their substrate selectivity. One of the candidate being in an operon, our anti-virulent strategy consisted to identify its protein interactants to better understand in which pathways they are involved. Purification of this potential interactome will allow us to test their enzymatic activity with different substrates.

Conclusion:

Understanding the role of candidates in environmental stress adaptation and identification and characterization of their interactants will allow a better understanding of survival's mechanisms of *Mtu* in the host and offer novel potential target in the fight against *Mtu* and mycobacterial infections.

Mots clés : *Mycobacterium tuberculosis* - Lipid metabolism - Stress environment adaptation - Enzymatic assay.

SP26-P Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-P07

Identification de gènes impliqués dans la vie intracellulaire et la persistance de *Listeria monocytogenes* par phénotypage à grande échelle et génomique comparative

Auréli Lotoux¹ (aurelie.lotoux@inrae.fr), Federica Palma², Edward M Fox³, Laurent Guillier⁴, Pierre-Emmanuel Douarre², Mounia Kortebi¹, Natalie Descoedres¹, Thilo M Fuchs⁵, P.Scott Chandry⁶, Sophie Roussel², Eliane Milohanic¹, Hélène Bierne¹

¹ Equipe Epigenetics and Cellular Microbiology, Institut MICALIS, AgroParisTech, INRAE, Université Paris Saclay, Jouy-en-Josas, France

² Salmonella and Listeria Unit, Laboratory for Food Safety, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES), Maisons-Alfort, France

³ Department of Applied Sciences, Northumbria University, Newcastle, Royaume-Uni

⁴ Risk Assessment Department, French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES), Maisons-Alfort, France

⁵ Institute for Food and Health, Freising, Allemagne

⁶ CSIRO Agriculture and Food, Werribee, Australie

Listeria monocytogenes est un pathogène des aliments, responsable de la listériose, une maladie particulièrement grave chez les personnes immunodéprimées, les fœtus et les nouveau-nés. Cette bactérie est capable d'envahir les cellules épithéliales selon plusieurs étapes bien connues : l'entrée, la réplication dans le cytosol et la dissémination intercellulaire. Récemment, nous avons identifié une étape plus tardive, au cours de laquelle *L. monocytogenes* entre dans un état métabolique ralenti au sein de vacuoles (ou «LisCV») (1,2). Cette phase de persistance vacuolaire a été observée avec deux souches de laboratoire dans un modèle d'infection de trois jours de cellules placentaires JEG3. Dans le but de mieux caractériser la persistance vacuolaire de *Listeria*, nous avons criblé, dans le modèle JEG3, 100 souches choisies pour représenter la diversité génétique et écologique de l'espèce *L. monocytogenes* ou des complexes clonaux sous-représentés dans les cas cliniques. Les résultats ont montré que la majorité des souches atteignaient l'étape LisCV avec la même efficacité, quelle que soit leur origine. Toutefois, parmi le groupe de 30 souches peu associées aux cas de listériose, quatre présentaient des phénotypes intracellulaires altérés. Trois d'entre elles (V1, V2, V3) montraient des défauts dès les phases précoces de l'infection. La quatrième (V4) présentait des phénotypes spécifiquement modifiés lors de la phase tardive de persistance, avec un changement morphologique des bactéries et une diminution du nombre de bactéries associées aux LisCV. Des analyses génomiques ont révélé des mutations dans des gènes de virulence connus chez V1 et V3, tandis que V2 et V4 présentaient des variations génétiques dans plusieurs gènes de fonction peu ou pas connue. Nous nous sommes particulièrement intéressés au gène *persA*, qui présente un codon stop prématuré chez le variant V4. Après inactivation de *persA* dans la souche de laboratoire EGDe, l'étude du mutant EGDe- Δ *persA* a montré qu'il phénocopiait l'isolat V4. En conclusion, ce travail révèle que la persistance vacuolaire est une propriété générale de l'espèce *L. monocytogenes* et met en lumière un gène impliqué dans cette phase peu caractérisée et qui pourrait jouer un rôle important dans le portage asymptomatique de ce pathogène.

Mots clés : Listeria - Persistance - Pathogène intracellulaire - Génomique comparative.

Références :

1. Kortebi M, Milohanic E, Mitchell G, Péchoux C, Prevost MC, Cossart P, Bierne H. *Listeria monocytogenes* switches from dissemination to persistence by adopting a vacuolar lifestyle in epithelial cells. *PLoS Pathog.* 2017. 30;13(11):e1006734.
2. Bierne H, Milohanic E, Kortebi M. To Be Cytosolic or Vacuolar: The Double Life of *Listeria monocytogenes*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018. 15;8:136.

SP26-P Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-P08

Spectral Confocal Laser Scanning Microscopy as an innovative tool to investigate the hygienic risk of *Staphylococcus aureus* on wooden contact surfaces

Nattar Maneewan¹ (nattar.maneewan@gmail.com), Muhammad Tanveer Munir², Michel Federighi³,
Christophe Belloncle², Laurence Dubreil¹

¹ APEX, ONIRIS, Nantes, France

² LIMBHA, Ecole supérieure du Bois, Nantes, France

³ SECALIM, Onir, Nantes, France

Introduction:

Wood is abundantly used in the food and construction industries as a contact surface. However, the microbial contamination on wood is a big concern regarding the hygienic risk. Therefore the development of new microscopy techniques to visualize microorganisms on wood surfaces can address this issue. This investigation aimed to study the bacterial distribution on and inside different wooden surfaces.

Material and methods:

A plasmidic fluorescent mCherry *Staphylococcus aureus* strain was used. Three types of wood (poplar, oak and Douglas fir) were used which were cut according to the two anatomical plans, transversal (TR) and tangential (LT), because they are used for different applications in wood processing for food packaging, home equipment or building construction.

The bacterial suspension was prepared from the fresh cultures. They were deposited onto wood with specific concentrations. Auto-fluorescence of wood was used to image the surface of wood pieces. mCherry bacterial fluorescence was specifically separated from endogenous fluorescence of wood by using spectral confocal laser scanning microscopy (CLSM) and linear unmixing analyses. Dispersion, penetration and viability of bacteria were analyzed 1 hour and 24 hours after the incubation of bacteria on wood surface.

Results:

The experiments showed the importance of the sample preparation to get reliable results and particularly the importance of the pH value control to investigate bacteria on oak pieces. Distribution of microbes inside the wooden structures (up to 4000 µm) was dependent, on incubation time, cutting plans and wood species. From these experiments using a model fluorescent bacteria and spectral imaging method, we have developed an innovative tool to assess the hygienic risk of wood.

Mots clés : Contact surfaces - mCherry - Confocal microscopy - Wood - Hygiene.

SP26-P Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-P09

Screen for efflux Pump Inhibitors and Chemical Engineering to upraise antibiotic efficiency

Marine Novelli¹ (marine.novelli@etu.univ-amu.fr), Jacques Siad¹, Jean-Michel Brunel¹, Martin Picard², Jean-Michel Bolla¹

¹ UMR-MD1, U-1261, MCT, INSERM, IRBA, Aix-Marseille Universités, Marseille, France

² UMR 7099, LBPCPM, CNRS, IBPC, Université Paris Diderot - Paris 7, Paris, France

Introduction and objectives:

Infections caused by multidrug-resistant (MDR) bacteria are a serious threat to human health due to the lack of effective treatments [1]. Overexpression of efflux systems is one of the major mechanisms associated with the MDR phenotype. Efflux pumps allow to release of compounds considered toxic by bacteria to the outside environment, leaving an intracellular concentration level below the efficiency threshold. RND (Resistance-Nodulation-cell Division) pumps, found only in Gram-negative bacteria, release a wide range of substrates including all families of antibiotics [2]. Our project consists in developing efflux pump inhibitors as adjuvants to antibiotics already on the market to restore their efficacy on MDR bacteria.

Materials and methods:

The in-house chemical library, consisting of many polyamine derivatives, is tested against wild type, knock-out- or overexpressing-efflux systems, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* strains. First, potentialization tests of efflux pump substrate antibiotics are performed using the BAC-Screen platform of the laboratory. When they show a presumed inhibitory activity of the pumps, structure-activity relationships allow us to guide the synthesis of new derivatives. In a second step, their mechanism of action is determined on whole bacteria [3] and on *E. coli* AcrAB-TolC and *P. aeruginosa* MexAB-OprM pumps reconstituted into proteoliposomes [4].

Results, discussion and conclusion:

Of the 160 compounds screened, 7 showed potentiating activity on *E. coli* and 4 on *P. aeruginosa*. Two molecules derived from ianthelliformisamines [5] have shown activity on both species. The first pharmacomodulations were then performed on one of them, resulting in more than 21 derivatives tested as previously. The most efficient compounds are currently being studied to determine their mechanism of action and thus validate their specificity towards efflux pumps. At the term of this work, a scale-up synthesis program will be developed for the compound(s) corresponding to all the criteria implemented that will allow to consider toxicity tests prior to the tests on infected animals.

Mots clés : Gram-negative bacteria - Multidrug-resistance - Efflux pump inhibitors - Polyamines derivatives.

Références :

1. O'Neil J. 2016. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. Review on Antimicrobial Resistance, 84.
2. Masi M, Réfregiers M, Pos KM, Pagès JM. 2017. Mechanisms of envelope permeability and antibiotic influx and efflux in Gram-negative bacteria. Nat. Microbiol. 2, 17001.
3. Lieutaud A, Pieri C, Bolla JM, Brunel JM. 2020. New Polyaminoisoprenyl Antibiotics Enhancers against Two Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria from Enterobacter and Salmonella Species. J Med Chem. 63, 10496-10508.
4. Verchère A, Dezi M, Adrien V, Broutin I, Picard M. 2015. In vitro transport activity of the fully assembled MexAB-OprM efflux pump from *Pseudomonas aeruginosa*. Nat Comm. 22, 6890.
5. Pieri C, Borselli D, Di Giorgio C, De Méo M, Bolla JM, Vidal N, Combes S, Brunel JM. 2014. New Ianthelliformisamine derivatives as antibiotic enhancers against resistant Gram-negative bacteria. J Med Chem. 22, 4263-72.

SP26-P Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

SP26-P10

Effect of heavy water incorporation on the viability of *Listeria innocua*

Sylvain Trigueros^{1,2} (sylvain.trigueros@anses.fr), Thomas Brauge², Sabine Debuiche², Véronique Rebuffel¹, Pierre Marcoux¹, Graziella Midelet²

¹ DTBS - LSIV, CEA, Grenoble, France

² LSAL - UB3PA, ANSES, Boulogne-sur-Mer, France

Listeria innocua is a Gram-positive ubiquitous bacterium, widely distributed in a range of environments (vegetation, water, soil) and in food-processing environments. *L. innocua* has the phenotypic characteristic close of *Listeria monocytogenes* specie, an important foodborne pathogen and the etiological agent of human listeriosis, a rare but frequently fatal disease. *L. innocua* is non-pathogenic bacteria although excessively rare cases of *L. innocua* septicemia and meningitis infections have been reported in human and ruminants. Bacteria in the viable but non culturable (VBNC) state have very low metabolic activity and do not divide. Consequently, VBNC cells do not grow on standard microbiological media but retain the ability to recover and become culturable under favourable conditions (ie. resuscitation). Different environmental stresses can induce the VBNC state during food processing, such as starvation, oxidative stress, temperature changes and disinfection.. An innovative approach is to use mass spectrometry, Raman spectroscopy coupled with heavy water labelling of metabolism appears to be an innovative technique for the study of bacterial metabolism and spectral changes. We evaluated the impact of heavy water incorporation on the viability state of *L. innocua* cells (Viable Cultivable (VC) or VBNC) by Raman spectroscopy. We exposed the *L. innocua* bacterial suspension to different heavy water concentrations (0%, 25%, 50% and 75%) during 0h30, 1h00, 1h30, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h and 96h. For each conditions, 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 spectroscopy. The results of the quantification showed that exposure to deuterium does not affect the viability of *L. innocua* cells.

Mots clés : Listeria - Heavy water - Metabolism - VBNC - PMA-qPCR.

V-P Virologie

V-P01

Virologie

Caractéristiques épidémiologiques, cliniques et biologiques des infections du système nerveux central dues aux alphaherpèsvirus en France entre 2014 et 2018 : résultats de l'étude rétrospective multicentrique RetroAlpha 14-18

David Boutolleau^{1,2} (david.boutolleau@aphp.fr), Hélène Faury², Mathilde Payen², Sonia Burrel^{1,2},
au nom du groupe d'étude français HSV VZV

¹ Service de Virologie - CNR Herpèsvirus, AP-HP-Sorbonne Université - Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

² INSERM, Sorbonne Université, Paris, France

Introduction et objectifs :

Les virus herpes simplex 1 et 2 (HSV-1 et HSV-2) et le virus varicelle-zona (VZV) sont des agents étiologiques majeurs des méningoencéphalites infectieuses dans le monde. Notre objectif était de décrire les caractéristiques de ces infections du système nerveux central (SNC) en France entre 2014 et 2018.

Matériels et méthodes :

Les 48 laboratoires participant ont indiqué le nombre total de liquides cébrospinaux (LCS) testés en PCR HSV et VZV. Pour les patients positifs, les données démographiques et clinico-biologiques ont été collectées.

Résultats, discussion et conclusion :

Parmi 181555 patients inclus, 3842 (2,12%) avaient un résultat positif : 1237 (0,68%) pour HSV-1, 819 (0,45%) pour HSV-2, 1786 (0,98%) pour VZV. Les incidences correspondantes étaient de 3,7, 2,5 et 5,4 cas/million d'habitants/an pour HSV-1, HSV-2 et VZV, respectivement. Les informations étaient disponibles pour 3196 patients : 49,7% d'hommes, 50,3% de femmes, âge médian de 57 ans. La majorité des patients (71,4%) n'avaient pas d'immunodépression identifiée. La fréquence de détection du HSV-1 et du VZV dans le LCS était équivalente chez les hommes et les femmes, alors que celle du HSV-2 était significativement plus élevée chez les femmes que chez les hommes (63,9% versus 36,1% ; $P < 0,0001$). L'âge médian des patients était 63 ans pour HSV-1, 41 ans pour HSV-2, 60 ans pour VZV. Le pic de détection était observé chez les patients âgés de 60-69 ans pour le HSV-1 et de 20-49 ans pour le HSV-2. La fréquence de détection était plus élevée en automne/hiver pour HSV-1 et au printemps/été pour HSV-2 et VZV. Le HSV-1 et le HSV-2 était respectivement responsables d'encéphalite et de méningite, alors que le VZV était à l'origine des deux pathologies. La leucorachie et la protéinorachie étaient statistiquement plus élevées dans les LCS positifs pour HSV-2 (270/mm³, 1,0g/L) que dans ceux positifs pour HSV-1 (37/mm³, 0,68g/L) ou VZV (78/mm³, 0,84g/L; $P < 0,001$). A noter que 14,6%, 4,4% et 9,9% des LCS positifs pour HSV-1, HSV-2 et VZV, respectivement, ne présentaient ni pléiocytose (≥ 5 leucocytes/mm³), ni hyperprotéinorachie ($> 0,5$ g/L). Cette étude va permettre d'améliorer nos connaissances sur les infections du SNC par les alphaherpèsvirus en France.

Mots clés : Virus herpes simplex - Virus varicelle-zona - Encéphalite - Méningite - Épidémiologie.

V-P Virologie

V-P02

Virologie

Stronger together: Antibiotics that enhance phage effectivityJulián Bulssico (jbulssico@imm.cnrs.fr), Mireille Ansaldo*Laboratoire de Chimie Bactérienne, UMR7283, Centre National de la Recherche Scientifique, Marseille, France*

Phage-antibiotic synergy (PAS) is the increased reduction in bacterial viability that takes place when both agents are administered together, rather than separately [1]. Subinhibitory concentrations of antibiotics induce changes in cell physiology [2], leading to a more efficient phage propagation. In practice, this usually translates as larger lysis plaques and faster clearing of liquid cultures. Previously PAS phenomenon was exclusively studied from the point of view of the reproductive parameters of the phage, such as the time between adsorption and lysis (latent period) and the number of virions produced in that interval (burst size). An intriguing aspect of PAS is the different effects reported for different bacteriophages. Although they almost invariably increase the burst size, the effect on the latent period seems to be contradictory ranging between delayed and early lysis [1,3]. In most cases antibiotic induced filamentation was reported, hinting at its relevance for PAS.

In our lab, we work with bacteriophage T7 and *E. coli* MG1655 as its host. Our results show that in presence of filamentation-inducing antibiotics, phage latent period delays between two and four minutes and burst size increases. This effect was replicated in antibiotic-free conditions with a protein that induces filamentation. To assess a possible correlation between cell length and individual latent period, a microscopy time-lapse of T7 infection in *E. coli* under PAS condition was performed. No correlation between the two parameters was observed. Tracking of bacteriophage with fluorescence microscopy was performed by fusing a fluorescent protein to the gene that codes for a capsid protein. For phages T5 and HK620, we determined that the number of fluorescent foci in elongated cells was higher, indicating increased susceptibility to phage infection. These results were supported by flow cytometry analysis in which the filamenting population was the most affected by infection.

These observations suggest multiple mechanisms in which antibiotics can contribute synergistically to phage propagation for the control of bacteria. Both increased susceptibility of elongated cells to phage infection and increased burst size due to a yet undetermined mechanism seem to be the key factors, highlighting potential benefits of combination therapy in medicine and industry.

Mots clés : Bacteriophage - Antibiotics - Synergy - Phage Therapy - Fluorescence Microscopy.

Références :

- 1- Comeau AM, Tétart F, Trojet SN, Prère MF, Krisch HM. 2007. Phage-Antibiotic Synergy (PAS): β -Lactam and Quinolone Antibiotics Stimulate Virulent Phage Growth. PLOS ONE 2(8): e799.
- 2- Buijs J, Dofferhoff ASM, Mouton JW, Wagenvoort JHT, van der Meer JWM. 2008. Concentration-dependency of β -lactam-induced filament formation in Gram-negative bacteria. Clinical Microbiology and Infection, Volume 14, Issue 4,
- 3- Kim M., Jo Y, Hwang YJ, Hong HW, Hong SS, Park K, Myung H. 2018. Phage-Antibiotic Synergy via Delayed Lysis. Appl Environ Microbiol.;84(22):e02085-18.

V-P Virologie

V-P03

Virologie

Utilisation de la capsid du bactériophage T5 comme nanoparticule fonctionnalisable

Nicolas Ducrot¹ (nicolas.ducrot@i2bc.paris-saclay.fr), Emeline Vernhes¹, Malika Ouldali¹, Linda Ramdani², Karim Benihoud², Pascale Boulanger¹

¹ Institut de Biologie Intégrative de la Cellule, Gif-sur-Yvette, France

² Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

La capsid du bactériophage T5 est une structure icosaédrique de 90nm de diamètre. Cette capsid s'auto-assemble à partir d'une protéine majeure qui forme les faces et les sommets de l'icosaèdre, d'une protéine portale qui forme un pore d'entrée pour l'ADN au niveau d'un sommet unique et d'une protéase de maturation. Après l'assemblage et l'encapsidation de l'ADN, une protéine de décoration se fixe sur 120 sites à la surface externe de l'icosaèdre. Dans le but d'élucider les mécanismes qui régulent l'assemblage de la capsid du phage T5 nous avons développé différents systèmes d'assemblage de capsid en absence du cycle infectieux, en exprimant les gènes codant pour les protéines de capsid chez *E. coli*. Ces systèmes permettent ainsi d'obtenir des *Capsid Like Particles* (CLP), présentant des caractéristiques similaires à celles de la capsid assemblée lors de l'infection. Ces CLPs sont fonctionnalisables grâce aux propriétés de la protéine de décoration, qui peut être fusionnée à des peptides ou protéines d'intérêt, permettant ainsi leur exposition à la surface de la capsid. La fixation quasi irréversible de ces protéines de fusion est médiée par des interactions protéine/protéine à haute affinité et ne nécessite aucune liaison covalente. Pour évaluer le potentiel de ces capsides fonctionnalisées comme plateforme de vaccination, nous avons exposé à leur surface l'antigène modèle Ovalbumine fusionné à la protéine de décoration et immunisé des souris. Cette immunisation, faite sans ajout d'adjuvant, a généré une forte réponse immunitaire, comparable à celle observée chez des souris immunisées avec la même dose d'ovalbumine associée avec de l'adjuvant complet de Freund, et très supérieure à la réponse induite par la même dose d'Ovalbumine libre. Ces résultats suggèrent un effet auto-adjuvant naturel des capsides et montre le fort pouvoir immunogène de l'ovalbumine multimérisée sur la capsid. Ces essais d'immunisation seront répétés avec les CLP et diversifiés en utilisant de nouvelles constructions basées sur la protéine de décoration.

Par leur capacité à exposer une protéine de décoration « modulable », les CLP dérivées du phage T5 constituent donc une plateforme polyvalente privilégiée pour le développement de diverses applications thérapeutiques, en particulier en vaccination.

Mots clés : Bactériophage T5 - Capsid - Nanoparticule - Présentation de protéines - Vaccin.

V-P Virologie

V-P04

Virologie

Analyses virologiques réalisées lors des investigations de toxi infection alimentaire d'origine virale en restauration collective, en France, entre 2012 et 2017

Catherine Hennechart (catherine.hennechart-collette@anses.fr), Audrey Fraisse, Sandra Martin-Latil, Sylvie Perelle

Laboratoire de sécurité des aliments - Unité des Virus Entériques, Anses, Maisons-Alfort, France

Introduction et objectifs :

Les virus alimentaires sont des virus entériques à transmission féco-orale directe par contacts interhumains ou indirecte par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. A l'heure actuelle, les deux principaux virus impliqués dans des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) sont les norovirus de génogroupe I et II (NoV GI, NoV GII) et le virus de l'hépatite (VHA et VHE) qui sont respectivement responsables de gastro-entérites et d'hépatites aiguës. L'objectif de cette étude est de présenter les différentes méthodes qui ont permis d'analyser 246 aliments dans le cadre de 56 TIAC suspectées d'être d'origine virale en France entre 2012 et 2017.

Matériels et méthodes :

Les virus entériques humains (NoV GI et NoV GII, ou VHA ou VHE) ont été recherchés en fonction du contexte épidémiologique en utilisant des méthodes décrites dans la norme EN ISO 15216-1 ou en utilisant des méthodes développées en interne. Pour chacune des analyses, un virus contrôle de processus et un contrôle externe d'amplification a été utilisé conformément aux recommandations de la norme EN ISO 15216.

Résultats et conclusion :

Dix-huit investigations virales sur les 56 comprenaient au moins un échantillon positif (16/18 NoV, 1/18 VHA et 1/18 VHE). La quantité de virus détecté dans les échantillons était comprise entre $< 10^2$ et 10^7 copies génomes par g ou par L. En conclusion, cette étude a montré l'intérêt de développer des méthodes d'extraction de virus à partir de différentes matrices alimentaires afin d'améliorer le diagnostic viral et de mieux identifier le lien entre la maladie virale et les aliments consommés.

Mots clés : TIAC - Norovirus - VHE - VHA - RT-qPCR.

V-P Virologie

V-P05

Virologie

Développement de mesures automatisées des indicateurs de bien-être et de santé des volailles : cas particulier de la bronchite infectieuse aviaire

Mickaël Riou¹ (mickael.riou@inrae.fr), Nicolas Pasjusco², Angélique Travel³, Mariette Ducatez⁴, Christelle Rossignol⁵, Breton Sylvain¹, Alexis Pléau¹, Laura Warin³, Christophe Souchet³, Laurence Mérat¹, Adam JBENYENI⁴, Jean-Luc Guérin⁴, Laurent Simon², Bruno Brouard², Pauline Creach³

¹ UE-1277 Plateforme d'Infectiologie expérimentale, INRAE, Nouzilly, France

² Laboratoire d'Acoustique de l'Université du Mans - UMR 6613 CNRS, Université du Mans, Le Mans, France

³ l'Institut Technique de l'Aviculture, Centre Val de Loire, ITAVI, Nouzilly, France

⁴ IHAP, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, Toulouse, France

⁵ UMR - 1282 Infectiologie et Santé publique, INRAE, Nouzilly, France

Garantir aux consommateurs une production respectueuse du bien-être animal est l'une des exigences sociétales civiles, notamment pour les productions avicoles en forte croissance (1). La méthode EBENE[®], développée par l'ITAVI, couplée aux nouvelles technologies de l'image et du son doit permettre des analyses plus fines et complémentaires à celles réalisées par l'homme, et encore mieux de gérer la santé des volailles. Des méthodes/outils de vidéosurveillance sont proposés pour mesurer les variations générales de l'activité des poulets mais aucun d'entre eux ne peut être utilisé pour mesurer les principes de bien-être animal proposés par l'OIE. Un des objectifs du projet est de démontrer la faisabilité d'associer des mesures sonores à l'échelle du groupe signant l'état de bien-être et de santé des volailles au cours d'une pathologie respiratoire soutenu financièrement par le ministère français de l'agriculture (CAS DAR). La première partie de cette étude a consisté à collecter des données sur le bien-être après l'introduction d'une maladie infectieuse dans des conditions expérimentales contrôlées. Différents protocoles ont évalué le bien-être avec la méthode EBENE[®] et les signes cliniques ont été mesurés pendant l'infection par le virus de la bronchite infectieuse (IBV, coronavirus aviaire). Après l'infection, les poulets (30/30) de toutes souches confondues (EOPS PA12 et ROSS 308) ont développé des signes cliniques respiratoires. 100 % des écouvillons trachéaux ont été positif à l'IBV à J4 post-infection (p.i.). Les lésions trachéales (7/7 poulets autopsiés à J7 p.i.) ont confirmé l'infection par IBV, par rapport au groupe témoin. Les râles, toux et éternuements des poulets ont donc été caractérisés et analysés à l'aide d'un algorithme développé pour ce projet. Les 2/3 des sons enregistrés étaient des toux et des éternuements et 1/3 des râles chez les poulets infectés. Ces premiers résultats ont permis de mieux caractériser la physiopathologie de l'IBV d'un point de vue zootechnique, comportemental, acoustique et histologique. L'approche acoustique est innovante et a permis de développer de nouveaux algorithmes et analyses sonores pour différencier les poulets sains des poulets malades. Ces résultats nous ont notamment fourni des données pour une information prédictive précoce d'une infection potentielle.

Mots clés : Virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV, coronavirus) - Bien-être - Acoustique - Histologie lésionnelle - Physiopathologie.

Références :

1. (1) Dawkins MS. Evolution and Animal Welfare. The Quarterly Review of Biology. 1998;73(3):305-28.

V-P Virologie

V-P06

Virologie

Diversité des virus entériques dans les palourdes du fleuve SANAGA au Cameroun ?

Julien Schaeffer¹ (Julien.schaeffer@ifremer.fr), Patrice Bonny¹, Alban Besnard¹, Marion Desdout¹, Jean Justin Essia Ngang², Soizick Le Guyader¹

¹ Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie (LSEM), Ifremer, Nantes, France

² Département de Microbiologie, Faculté des Sciences/Université de Yaoundé 1, Yaoundé, Cameroun

Introduction :

Les palourdes comme tous les coquillages filtreurs peuvent concentrer les microorganismes présents dans la colonne d'eau ou le sédiment. Ces palourdes représentent une part importante de l'alimentation des populations vivant en bordure du fleuve Sanaga, mais le plus souvent après une cuisson prolongée, limitant ainsi le risque sanitaire. Cependant, l'étude du virome de ces « sentinelles de l'environnement » avec des outils de métagénomique apporterait des connaissances sur la diversité des virus entériques rejetés dans le milieu aquatique.

Matériels et méthodes :

Entre février 2018 et février 2020, 45 prélèvements de palourdes (*Galatea paradoxa*) ont été collectés sur deux sites. Dans un premier temps, les échantillons ont été analysés par RT-qPCR pour la présence de norovirus et virus de l'hépatite A. Ensuite, 22 prélèvements ont été retenus pour l'approche métagénomique. Après une extraction ciblant les virus à ARN, la synthèse des ADNc lors de la préparation des bibliothèques a été réalisée sous forme de triplicat pour chaque échantillon. Une capture (VirCapSeq panel, Roche) a été réalisée pour l'enrichissement en séquences virales avant le séquençage (Illumina). Les premières étapes de l'analyse bio-informatique ont inclus le cumul des données d'un même réplica, un filtrage qualité et l'élimination des séquences correspondant aux bactéries et à l'hôte. Une étape de déduplication a été ajoutée avant l'assemblage *de novo*. L'assignation taxonomique des contigs a été réalisée par blastn et blastx suivi d'un tri des séquences avec entrez direct en fonction du numéro d'identification taxonomique (taxid). L'examen des séquences présentes dans les différentes familles s'est focalisé sur les virus humains ou présentant des homologies de séquences avec des virus connus.

Résultats, discussion et conclusion :

La fraction virale n'a représenté qu'une faible proportion des séquences (0,8-15%) et la majorité des séquences obtenues (68-87%) n'a pu être assignée. Cependant des séquences de virus appartenant à plusieurs familles virales (*Caliciviridae*, *Picobirnaviridae*, *Hepeviridae*, *Picornaviridae*, *Astroviridae*) et infectant aussi bien les humains que d'autres mammifères ont été identifiées. L'analyse phylogénétique de séquences d'*Astroviridae* a montré une proximité avec des souches de Bastrovirus présentant des similitudes génomiques aussi bien avec les astrovirus que le VHE.

Mots clés : Métagénomique - Virome - Palourdes.

VR-P Vaccination et réponse immune

VR-P01

Comment la cytométrie en flux contribue à la recherche vaccinale contre des cibles bactériennes

Sandrine Deloire (sandrine.deloire@sanofi.com), David Poncet

R&D, Sanofi Pasteur, Marcy-l'Etoile, France

Au cours de la dernière décennie, la cytométrie en flux (FCM) est devenue un outil essentiel pour les microbiologistes. Dans le domaine de la recherche sur les vaccins, et plus particulièrement en bactériologie, nous avons développé différentes applications liées à l'avantage majeur de la FCM, à savoir sa capacité à analyser individuellement des cellules vivantes en suspension.

Dans les différentes étapes de développement d'un vaccin, les études précliniques permettent de sélectionner des candidats sur la base de données d'immunogénicité évaluée dans des modèles animaux. Pour qualifier la réponse immune humorale, en parallèle de l'ELISA standard, la FCM permet de documenter la capacité des anticorps induits par le candidat vaccin à reconnaître la forme native de l'antigène exprimée à la surface du pathogène.

L'utilisation de marqueurs de l'état physiologique des bactéries, associée à la détection de surface, permet d'étudier plus précisément la cinétique d'expression de l'antigène cible en lien avec la biologie du pathogène. Ceci permet d'adapter les conditions de croissance à une expression optimale de cet antigène.

Enfin, en lien avec les interactions hôte-pathogène, de nombreux tests *in vitro* utilisant la FCM sont développés pour documenter la fonctionnalité des anticorps induits (ex : opsonophagocytose, inhibition d'invasion de cellules épithéliales, inhibition de croissance bactérienne, ...). Les données générées contribuent à documenter la performance *in vitro* du candidat vaccin en complément des données de protection préclinique *in vivo* en amont des premiers essais chez l'Homme.

Les évolutions à venir en termes de débit, sensibilité, automatisation, capacité à trier différentes populations sont autant d'atouts qui vont accélérer l'utilisation de cette technologie au sein de la R&D de l'industrie pharmaceutique.

Mots clés : Cytométrie en flux - Pathogènes - Antigènes - Anticorps - In vitro.

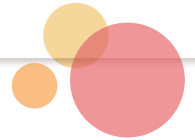


Société Française
de Microbiologie

MICROBES 2021

16^e Congrès National de la SFM

22-24
SEPT



LISTE DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES

MICROBES 2021

...mille lieux
au cœur de la
microbiologie

A-P **Autres**

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
BERNARD	Charles	Identification in silico d'une cinquantaine de nouvelles familles de systèmes de quorum sensing chez les bactéries gram-positives et leur MGEs, dont de nouveaux systèmes de communication phage-phage impliqués dans la manipulation de l'hôte	A-P01
CARLONI	Mara Emilia	Role of flagellin in the recognition of Yersinia pestis by its host during plague and contribution to virulence	A-P02
CHAMARANDE	Jordan	Application de la méthode « vapeur » pour nettoyer et quantifier des biofilms de bactéries anaérobies et de champignons	A-P03
FORTIER	Emma	Etude du rôle du facteur RpoS et de sa régulation par le système chimiosenseur Che1 chez Shewanella oneidensis	A-P04
GHRIB	Mohammed	Etude du rôle de la cycline D3 et de la régulation de son expression par le butyrate dans des lignées cellulaires	A-P05
GIARD	Jean-Christophe	Study of antimicrobial properties of marine algae polysaccharides	A-P06
GUEUDET	Thomas	Recherche des causes de faux positifs sur l'automate ID NOW SARS-COV-2 Abbott-Alère	A-P07
MISTOU	Michel-Yves	Le Centre International de Ressources Microbiennes (CIRM), une infrastructure de Centres de Ressources microBiologique (mCRB) aux dimensions nationales et européenne au service de la recherche agronomique et environnementale	A-P08
MUNIR	Muhammad Tanveer	Factors influencing the observed antimicrobial behaviour of oak wood	A-P09
NADHUMA	Youssef	Staphylococcus aureus Decreases SUMOylation Host Response to Promote Intramacrophage Survival	A-P10
PAILHORIÈS	Hélène	Wood materials for limiting the bacterial reservoir on surfaces in the hospital setting: would it be worthwhile to go further?	A-P11
WOLLENS	Malin	Performance clinique de la PCR/du séquençage à large spectre des gènes de l'ARNr 16S et 18S comparée à la culture : revue systématique et méta-analyse portant sur 4 419 échantillons cliniques	A-P12
YASSINE	Iman	Analyse de la structure des populations et surveillance génomique des Shigella à l'aide d'une technique standardisée de core-genome multilocus sequence typing (cgMLST)	A-P13

AR-P **Anti-microbiens & résistance**

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
ALLAIN	Margaux	Détection de KPC, NDM et OXA-23 chez une même patiente de retour d'Egypte	AR-P01
BAQUER	Florian	Dépistage simplifié des entérobactéries multi-résistantes sur antibiogramme : deux boîtes valent-elles mieux qu'une ?	AR-P02
BAUCHERON	Sylvie	Transmission horizontale de Escherichia coli multirésistants favorisée via l'environnement sans transmission verticale directe dans la pyramide de l'élevage de poulets	AR-P03
BELLANGER	Tiffany	Interaction entre la membrane cellulaire de Oenococcus oeni et la protéine Lo18	AR-P04
BRAUGE	Thomas	Tracking antibioresistance in a North Sea largely harvested fish species: origin, drivers and human health issues	AR-P05
COUVÉ-DEACON	Elodie	Eva-BHRe : outil de prévention de la transmission des BHRe en établissement de santé de SPARES	AR-P06
DECHENE-TEMPIER	Manon	Resistance to macrolides-lincosamides and tetracyclines of Streptococcus suis strains isolated from swine in France	AR-P07

HAMAME	Afaf	Genomic characterization of a mcr-1 and mcr-3-producing <i>Escherichia coli</i> strain isolated from pig in France	AR-P08
HANIN	Aurélie	Impact of the physiological state of mold spores on their resistance to chlorinated disinfectant	AR-P09
HERNANDEZ ALONSO	Enrique	Emergence of plasmid-mediated AmpC genes in <i>Enterobacter cloacae</i> complex strains from a sepsis outbreak in a neonatal intensive care unit	AR-P10
LAROUSI	Haifa	Analysis of the binding and nicking-closing activities of a MOB _T relaxase reveals unusual features	AR-P11
LORIOT	Cecilia	Air sampling protocol for SARS-CoV-2 detection in healthcare settings	AR-P12
MADI MOUSSA	Désiré	Expression et mise en évidence d'une activité anti- <i>Escherichia coli</i> y compris <i>E. coli</i> résistant à la colistine, d'une nouvelle bactériocine de classe II, produite par <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> CNCM I-5369	AR-P13
MARRAKCHI	Hedia	Understanding and exploiting bioactivation enzymes in <i>Mycobacterium tuberculosis</i> as a non-canonical anti-TB strategy	AR-P14
MOYEN	Rachel	Antibiotic Resistance Phenotypes of Enterobacteriaceae Isolated from Household Wastewater in Brazzaville, Republic of Congo	AR-P15
ONTSIRA NGOYI	Esther Nina	First description of Extended-Spectrum β -lactamases and OXA-48 carbapenemase in Enterobacteriaceae isolates in Brazzaville, Congo	AR-P16
PEREZ RAMOS	Adrian	A new transport pathway for the leaderless bacteriocin EntDD14 based on PH domain-containing proteins	AR-P17
PETRY	Sandrine	<i>Rhodococcus equi</i> résistant à la rifampicine chez les équidés	AR-P18
PICHON	Maxime	La présence de l'antigène K1 est associé à un profil d'antibiorésistance différent chez <i>Escherichia coli</i>	AR-P19
		Impact d'une pré-exposition aux antiseptiques sur l'émergence de l'antibiorésistance	AR-P20
REVOL-TISSOT	Johan	New fluorescent chemical probes targeting bacterial efflux to early detect and fight the first barrier in gram-negative bacteria antibiotic resistance	AR-P21
ROUXEL	Meg	Purification de peptides antimicrobiens naturels à partir des barbes et des branchies de <i>Pecten maximus</i>	AR-P22
TELHIG	Soufiane	Evaluation phénotypique et génomique de l'efficacité de microcines vis-à-vis de bactéries multirésistantes aux antibiotiques	AR-P23
TREILLES	Michael	ABSCOPE : indicateur de résistance antibiotique en élevage	AR-P24
TROIA	Thomas	Design and synthesis of new Thomamine antibiotic enhancers to fight resistant Gram-negative bacteria	AR-P25
ZERROUKI	Hanane	High frequency and diversity of Vancomycin-Resistant Enterococci in Algerian healthcare settings	AR-P26
		High prevalence of <i>Paenoclostridium sordellii</i> strains in hospital settings: First report in Algeria	AR-P27

BM-P Biotechnologies microbiennes

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
AUTRÉAU	Caroline	Caractérisation de Lactobacillaceae et fermentation de macro-algues marines	BM-P01
CHOUDHURY	Alaksh	Deep mutational scanning of essential genes in bacteria using Cas9-mediated recombineering	BM-P02
CORNELOUP	Thibault	Mélanger les génomes : une méthode de conjugaison bactérienne assistée par CRISPR cas-9	BM-P03
DUSSAUT	Cédric	Modélisation de la croissance microbienne de <i>Carnobacterium maltaromaticum</i> avec l'approche thermodynamique MTS	BM-P04
HOCQUELLET	Agnès	Suivi en ligne de cultures de micro-organismes par cytométrie en flux	BM-P05

KATIPOGLU-YAZAN	Tugce	What is the link between T, μ_{max} and dissipation as heat during microbial growth?	BM-P06
PASSERINI	Delphine	Etude de la bioluminescence de <i>Photobacterium phosphoreum</i> - Application pour la biopréservation des produits de la mer	BM-P07
WIESER	Wiviane	Suivi en Ligne du Bioprocédé des Microalgues par Spectroscopie Raman	BM-P08

EE-P Environnement et Écologie

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
ALONSO	Lise	Etude de l'exposition professionnelle aux bioaérosols dans une fromagerie	EE-P01
ANDONIAN	Clément	Comparaison de 3 techniques de mise en culture pour la recherche ciblée de bactéries dans le lait humain	EE-P02
BÄRENSTRAUCH	Margot	Hydrological factors and metal contamination shape groundwater microbial communities in an industrial area	EE-P03
		Qualité des eaux destinées à la consommation humaine, dynamique des légionelles dans le contexte particulier stéphanois	EE-P04
BEN YOUSSEF	Wafa	Oxygen spatio-temporal distribution in a 4-species adherent community of bacteria	EE-P05
CONRAD	Arnaud	Regulatory environmental risk assessment related to the use of microorganisms as plant protection products	EE-P06
ETIENNE	Stéphanie	Occurrence des e. Coli pathogènes pour l'homme dans les eaux de surface de deux rivières situés dans le nord est de la France (Moselle et Orne)	EE-P07
HAMMER-DEDET	Florence	Entérobactéries productrices de carbapénémases dans les eaux-urbaines et péri-urbaines en Côte d'Ivoire : une approche environnementale de l'épidémiologie de la résistance	EE-P08
JESSU	Amélie	Détection de <i>Mycobacterium bovis</i> et <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> par qPCR nichée à partir d'amibes isolées de l'environnement	EE-P09
JUMAS-BILAK	Estelle	Antibiorésistance dans l'eau destinée à la consommation humaine : étude sur le site atelier RABLez	EE-P10
KUBINA	Sophie	Insight into molecular interaction between <i>Cryptosporidium parvum</i> and the lamb's lettuce	EE-P11
LE NEINDRE	Killian	Evaluation de l'impact de la présence de Calbénium dans les eaux de fauteuils dentaires sur la recherche de légionelles	EE-P12
LEPREVOST	Laura	Détermination du rôle biologique d'une nouvelle famille de peptides modifiés chez <i>Caulobacter crescentus</i>	EE-P13
MAZIÈRE	Camille	Impact du changement climatique sur les tapis microbiens de l'île de Ré (France)	EE-P14
MOUMENI	Lyès	Isolation and identification of xylophagous fungi hosted by bark beetles	EE-P15
MOYEN	Rachel	Study of the Physico-Chemical and Microbiological Parameters of Household Wastewater in Brazzaville	EE-P16
NDIONE	Mery	Spectrométrie de masse MALDI-TOF pour caractériser l'origine des indicateurs de contamination fécale dans un écosystème côtier	EE-P17
PAVLOU	Antrea	Insights into bacterial resource allocation in dynamically changing environments using a combination of experimental and mathematical approaches	EE-P18
PORTIER	Perrine	Updated taxonomy of <i>Pectobacterium</i> genus in the CIRM-CFBP bacterial collection: when newly described species reveal "old" endemic population	EE-P19
RAVENEL	Kévin	Lower funneling pathway in <i>Scedosporium</i> species	EE-P20

M-P Mycologie

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
DELLIÈRE	Sarah	Diagnostic de la fusariose invasive par détection d'ADN circulant : analyse rétrospective de 9 cas prouvés	M-P01
ROSSO	Marie-Noëlle	Genomic signatures for fungal adaptations to wood decay	M-P02

MA-P Microbiologie des aliments

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
BALESWARAN	Abirami	Development of a cheese model in laboratory conditions to study the limitation of <i>Pseudomonas fluorescens</i> spoilage in cheese	MA-P01
BENHAMED	Nadjia	Detection of enterotoxin potential of staphylococcus aureus involved in bovines mastitis cases in Oran, Algeria	MA-P02
		Study of genetics characteristics of <i>Staphylococcus aureus</i> (t267) isolated from bovines mastitis clinicals cases, Algeria	MA-P03
BOUJU	Agnès	Le microbiote de filets de truite arc-en-ciel : quels profils de communautés et d'antibiorésistance d'une flore dominante, les <i>Pseudomonas</i> ?	MA-P04
BRAUGE	Thomas	Impact of disinfectant stress on the viability of <i>Listeria monocytogenes</i> cells in biofilm and on their transfer from surfaces to food	MA-P05
BRULÉ	Lenaïg	Profil microbiologique de trois espèces d'insectes comestibles : <i>Tenebrio molitor</i> (TM), <i>Acheta domesticus</i> (AD) et <i>Hermetia illucens</i> (HI)	MA-P06
CANON	Fanny	Positive interactions between lactic acid bacteria promoted by nitrogen-based nutritional dependencies	MA-P07
		Positive interactions between lactic acid bacteria: from simplified medium to novel yoghurt-like products	MA-P17
COPIN	Stéphanie	Evaluation de la contamination des mollusques bivalves vivants et des produits de la pêche prélevés au stade de la distribution en France par des <i>Vibrio</i> potentiellement entéropathogènes	MA-P08
		Performance de trois systèmes de PCR quantitative pour la recherche de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	MA-P09
DAVERAN-MINGOT	Marie-Line	L'utilisation de la digital droplet PCR comme outil de suivi des populations de lactocoques lors de procédés fermentaires	MA-P10
DAWOD	Lina	Adaptation de la mesure de vitalité des levures à la routine de production œnologique	MA-P11
		La cytométrie pour l'évaluation d'une nouvelle méthode de nettoyage des barriques par micro-ondes	MA-P12
DENIS	Catherine	Modélisation de l'impact d'un consortium microbien de fromages à pâte molle sur la croissance de <i>L. monocytogenes</i> et <i>E. coli</i> O157 :H7	MA-P13
DESMONTS	Marie-Hélène	Sève de bouleau fermentée : caractérisation de la dynamique microbienne en lien avec les changements physico-chimiques au cours de la fermentation	MA-P14
		Altération des saucisses de porc et de volaille : corrélations entre sensoriel et volatilome	MA-P15
DIB	Omar	Chemometrics Tools for the non-Targeted Research of Microorganisms in Food Samples by Raman Spectroscopy	MA-P16
GASSER	Cécile	Diversity of carbohydrate utilization and regulation in <i>Streptococcus thermophilus</i>	MA-P18
GRANGÉ	Émilie	Evaluation de l'impact des conditions de stockage sur la qualité de la viande de poulet par Spectroscopie Raman	MA-P19
KEROUANTON	Annaëlle	Salmonella en élevage de porcs : évaluation quantitative de la variabilité d'excrétion et état des lieux des sérovars présents et de leur résistance aux antibiotiques	MA-P21

LEDORMAND	Pierre	Le cidre est une matrice délicate pour l'étude des bactériophages et des phageomes	MA-P22
LEGRAS	Jean-Luc	Microflora variability among grape must in Languedoc: the case of two grape varieties during two years	MA-P23
LEGROS	Julie	Impact of the degree of ovotransferrin iron saturation on the growth of Salmonella Enteritidis in egg white	MA-P24
MACÉ	Sabrina	Development of a Rapid Real-Time PCR Method to Quantify Lactic Acid Bacteria in Cold-Smoked Salmon	MA-P25
MISTOU	Michel-Yves	EUROpanel OH: Construction of a catalogue of food-borne pathogenic bacterial strains that can be used as reference materials in the European Union	MA-P26
OMHOVER	Lysiane	Listeria monocytogenes exposed to stressful conditions: what impacts on its physiological state and what consequences of these states on the growth of the pathogen?	MA-P27
PIQUET	Jean-Come	Un outil statistique pour mieux anticiper les contaminations microbiologiques des coquillages liées à la pluviométrie	MA-P28
RUL	Françoise	Streptococcus thermophilus in soya milk: growth and metabolic activity	MA-P30
SORÉE	Marion	Suivi de l'accumulation et la dépuraison de souches de Vibrio parahaemolyticus chez l'huître creuse (Crassostrea gigas) par cytométrie en flux	MA-P31
TAREB	Raouf	The type VII secretion system and LXG proteins of Lactococcus piscium suggest a role in interbacterial antagonism requiring cell-to-cell contact	MA-P32
TEYSSIER	Corinne	Analyse des communautés bactériennes et des mycotoxines dans des laits de chamelle provenant d'Espagne et de France	MA-P33
THERY	Thibaut	Lumière bleue à très haute puissance : promesses d'une technologie dans la préservation d'aliments ?	MA-P34
THIERRY	Anne	Microbial communities of home-made fermented vegetables	MA-P35
TORMO	Hélène	Caractérisation globale de l'Ambaris, produit fermenté traditionnel Libanais, sur les plans microbiologiques, physico-chimiques et sensoriels	MA-P36
VILLENA	Isabelle	Evaluation par CC-qPCR de l'infectiosité et de la viabilité des oocystes de Toxoplasma gondii en matrice complexe végétale	MA-P37
WEIDMANN	Stephanie	Biofilms positifs en œnologie et impact sur la qualité des vins	MA-P38
ZAGOREC	Monique	La biopréservation : une alternative à la diminution des nitrites pour garantir la qualité sanitaire du foie gras ?	MA-P39
GONÇALVES TEIXEIRA	Camila	Brazilian Weissella strains with antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative foodborne pathogens	MA-P40

MC-P **Microbiologie clinique**

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
ABID	Maryam	Evaluation de la PCR quantitative Pseudomonas aeruginosa dans la mucoviscidose	MC-P01
BEAUDRON	Aurélié	Roseomonas mucosa : an emerging pathogen ?	MC-P02
		Tularémie, pathologie sous-diagnostiquée	MC-P03
BEN DHAOU	Wiem	Flow cytometry cytobacteriological examination of biological fluids	MC-P04
CHARLES	Ciriac	Distribution la séquence d'insertion IS6110 révélé par le séquençage complet de génome de souches de Mycobacterium bovis appartenant aux génotypes majoritaires en France	MC-P05
CHAVIGNON	Marie	Characterisation of the nsr gene specific to the Staphylococcus capitis NRCS-A clone involved in neonatal sepsis	MC-P06
		Environmental persistence of the Staphylococcus capitis NRCS-A clone in neonatal units: role of the biofilm formation and tolerance to desiccation	MC-P07
ECKERT	Catherine	Description d'une potentielle nouvelle espèce de Campylobacter sp	MC-P08

GOURBANOVA	Nara	Inhaled liposomal amikacin (ALIS) targeting Mycobacterium avium Complex pulmonary disease	MC-P09
ELOY	Odile	Premier cas d'infection ostéo-articulaire fongique à Trichosporon inkin	MC-P10
JEHANNE	Quentin	First description of Erythromycin Resistance Methyltransferases in Campylobacter coli strains in France	MC-P11
LAVOLLAY	Marie	Impact de l'épidémie de Covid-19 sur les bonnes pratiques de prélèvement des hémocultures et les espèces isolées	MC-P12
MALERGUE	Fabrice	CD169 and CD64 could help differentiate bacterial from CoVID-19 or other viral infections in the Emergency Department	MC-P13
PANAGER	Baptiste	Comment gagner du temps en permanence de soins par une adaptation de méthode sur VITEK-2 ?	MC-P14
PAQUIN	Paul	Real-time micro colonies detection and identification using lens less imaging and deep learning techniques	MC-P15
PETERSEN	Tania	Etude de la tolérance aux antibiotiques chez Escherichia coli ST131	MC-P16
PETRY	Sandrine	Utilisation de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF comme test de diagnostic différentiel pour la métrite contagieuse équine	MC-P17
ROBERT	David	Place du milieu chromogène chromID CPS Elite Agar dans la détection des uropathogènes émergents	MC-P18
SADDARI	Abderrazak	Profil épidéiologique des bactériémies associées aux soins au niveau du CHU Mohamed VI d'Oujda-Maroc	MC-P19
		Sensibilité des Entérobactéries productrices de bêta lactamases à spectre étendue à la Fosfomycine, Nitrofurantoïne, et Sulfaméthoxazole-triméthoprim	MC-P20

MI-P Microbiotes et interactions microbiennes

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
BOTCHORICHVILI	Hélène	Contribution of Type VI Secretion System in Adherent-Invasive Escherichia coli to compete with intestinal microbiota	MI-P01
DJERMOUN	Sarah	Dynamics of conjugation within bacterial biofilms	MI-P02
EVEN	Sergine	New insights into cow holobiont in relation to health	MI-P03
		Bovine mammary gland microbiota et immune response	MI-P04
MARTIN-GALLAUSIAUX	Camille	Fusobacterium nucleatum Extracellular Vesicles Modulate Gut Epithelial Cell Innate Immunity via FomA and TLR2	MI-P05
PILET	Marie-France	Sélection de bactéries productrices d'auto-inducteurs de type AI-2 et optimisation de la production dans des aliments modèles	MI-P06
SARNIGUET	Alain	Transmission of Seed Microbiota to Seedling and Contribution to Plant Response to a Soilborne Fungal Pathogen	MI-P07
SAUGUES	Audrey	Interactions between S. aureus and Candida: impact on TSST-1 production	MI-P08
TEULIÈRE	Jérôme	Interspecific interactions that affect ageing: introducing the concept of age-distorters	MI-P09
THIROUX	Audrey	Etude de l'impact des perturbateurs endocriniens sur la survie et la virulence de pathogènes bactériens	MI-P10

OM-P Omic(s) et autres méthodes d'études

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
ADAMUZ	Jérémy	A new method for analyzing the dynamics of individual responses in a stressed yeast population by coupling microscopy video sequence acquisition and image analysis	OM-P01
CAMBAU	Emmanuelle	Etude GWAS de Mycobacterium abscessus dans les infections respiratoires et extra-respiratoires	OM-P02

COHU	Thibaut	La détection électrochimique des métabolites de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	OM-P03
CONDE	Cyril	Genetic features of strains of <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> circulating in the West of France deciphered by Whole-Genome Sequencing	OM-P04
		Whole-Genome Analysis of <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> IS900 distribution reveals strain type-specific modalities	OM-P05
HAUGUEL	Lysiane	Biogenesis: une startup spécialisée dans la création et le développement d'outils bioinformatiques au service de la recherche microbiologique	OM-P06
LAURENTIE	Jeanne	Analysis of French Isolates of <i>Enterococcus cecorum</i> : antimicrobial resistance and potential of pathogenicity	OM-P07
LE GUEN	Ronan	Mise au point d'une base spectrale permettant l'identification spécifique du génogroupe 6 / <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> sensu stricto par MALDI TOF	OM-P08
LEHOURS	Philippe	Deux cas d'infections humaines à <i>Helicobacter caesarodunensis</i> : un nouveau pathogène ?	OM-P09
		Adaptation d'une PCR maison de détection de <i>Helicobacter pylori</i> et des mutations associées à la résistance aux macrolides, en barrettes PCR prêtes à l'emploi	OM-P10
LUPO	Valérian	Contamination in reference sequence databases: time for divide-and-rule tactics	OM-P11
MARSAUD	Nathalie	La plateforme Génome et Transcriptome (GeT): des applications en génomique et transcriptomique pour l'étude des micro-organismes	OM-P12
MAS FIOL	Guillem	Caractérisation et cartographie de la diversité génétique de <i>Yersinia pestis</i>	OM-P13
PLAZY	Caroline	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> -derived metabolites modulate immunity and correlate with respiratory functions in Cystic Fibrosis patients	OM-P14
PLOURDE-OWOBI	Lucile	Red One™: new generation of solid-phase cytometry for rapid microbiology testing based on staining kinetics	OM-P15

PR-P Pathogénie et réponse de l'hôte

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
BERKOVA	Nadia Nadejda	Key role of caspase-1 in bacterial clearance during <i>S. aureus</i> infection of osteoblasts-like cells.	PR-P01
CARA	Andréa	Internalisation et survie intracellulaire du biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i> dans les ostéoblastes	PR-P02
CAUTY	Axel	Impact du traitement au paracétamol sur le bien-être et la physiopathologie des souris infectées par <i>Toxoplasma gondii</i> .	PR-P03
DUBUS	Marie	Pathogenicity of <i>C. acnes</i> following the interaction with human mesenchymal stem cells	PR-P04
FAYET	Maurine	Caractérisation de protéines de tube polaire chez l'espèce microsporidienne <i>Anncaliia algerae</i> et étude de leur(s) rôle(s) dans les processus d'invasion	PR-P05
FERMON	Laurence	Insights into the structure, the mechanism of action and the expression of two type I toxins expressed by <i>Staphylococcus aureus</i>	PR-P06
FOULON	Mélanie	Host-derived lipids: what impact on <i>Mycobacterium marinum</i> growth in defined conditions – establishment for further characterization in the alternative experimental model <i>Dictyostellium discoideum</i>	PR-P07
GENESTET	Charlotte	Within-host genetic micro-diversity of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> and the link with tuberculosis disease features	PR-P08
GERGES	Elias	Rôle de la protéine associée au nucléoïde Lsr2 lors de la transition entre morphotypes lisses et rugueux chez <i>Mycobacterium abscessus</i>	PR-P09
HERNANDEZ ALONSO	Enrique	Epidemiology and characterization of <i>Enterobacter</i> strains associated with neonatal nosocomial sepsis	PR-P10
HOLBERT	Sébastien	Bovine and Porcine epithelial cells cross-present <i>Salmonella</i> -derived antigenic peptides	PR-P11
		The <i>Salmonella</i> containing vacuole is an environment adequate for the outer membrane protein PagN expression: PagN reveals its evasin function	PR-P12

KAY	Elisabeth	The original and multiple roles of FIS paralogs in Legionella pneumophila	PR-P13
KREIS	Victor	Rôle des ARN non codants dans la pathogénèse des infections liées à un entéropathogène humain émergent, Clostridioides difficile	PR-P15
LE GRATIET	Thibault	Investigation of Clostridium novyi sensu lato CRISPR-Cas systems	PR-P16
OCCHIALINI	Alessandra	Brucella suis and Brucella microti acid stress responses at pH 4.5: Participation of cold shock protein CspA and DNA-binding protein from starved cells (Dps) in increased acid resistance of B. microti	PR-P17
ORIOI	Charlotte	Étude du régulon SarA chez le pathogène Staphylococcus aureus : Implication dans les systèmes toxine-antitoxine de type I	PR-P18
PETRY	Sandrine	Clostridioides difficile chez des équidés autopsiés, Constitution et caractérisation de la collection de souches CloDifEqui	PR-P19
REFFUVEILLE	Fany	Interaction of Cutibacterium acnes and bone cells	PR-P20
ROLANDO	Monica	Functional characterization of the ankyrin domain of the secreted Legionella pneumophila effector RomA	PR-P21
ROUX	Emeline	Identification of bacterial strains using ORI (Oxford nanopore Reads Identification)	PR-P22
THORAVAL	Léa	In vitro study of the crosstalk between immune host cells and cutibacterium acnes in bone and joint infections	PR-P23
TOURÉ	Hamadoun	Les cellules cytotoxiques productrices de granzymes sont délétères pour la survie de l'hôte lors de l'infection par Mycobacterium abscessus	PR-P24
VOUILLON	Axelle	In vitro and in vivo study of pathophysiology of Usutu virus skin infection	PR-P25

RS-P Risques et sécurité biologiques

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
DUQUENNE	Philippe	Apport de la caractérisation des communautés microbiennes dans l'air dans un contexte de polyexposition à la prévention des risques professionnels : exemple des centres de tri de déchets ménagers recyclables	RS-P01
LOISON	Pauline	GENBIO : une installation de laboratoire pour le développement de méthodes de prélèvement et d'analyses des bioaérosols	RS-P02
PONDERAND	Léa	Characterization of the cytosolic innate immune response during Francisella tularensis subsp holarctica infection	RS-P03
WILHELM	Amandine	Impact du procédé de dépôt et des produits chimiques employés en spectrométrie de masse MALDI-TOF sur l'inactivation de différents germes bactérien	RS-P04

SC-P SARS-CoV-2

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
BURREL	Sonia	Comparison of rapid and automated antigen detection tests for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection	SC-P01
DESDOITS	Marion	Utiliser les coquillages pour surveiller la contamination du littoral par SARS-CoV-2 : mise au point de méthodes et suivi sur un an	SC-P02
GARRY	Pascal	Intérêt des essais interlaboratoires dans la validation d'un indicateur national de suivi épidémiologique de l'épidémie de SARS-COV-2 par les eaux usées (en France)	SC-P03
MONTIEL	Dolores	Suivie du SARS-Cov-2 dans les eaux résiduaires des stations d'épuration en zones rurales et corrélation avec les données sanitaires	SC-P04
SADDARI	Abderrazak	Gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de COVID-19 au Laboratoire de Microbiologie du CHU Mohammed VI d'Oujda	SC-P05
		Séroprévalence du SARS-COV-2 chez le personnel du Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI d'Oujda-Maroc	SC-P06

SP26-P Session Prix poster Jeunes Microbiologistes

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
BOUGNON	Juliette	Mobile Genetic Element drives diversification of T4SS effectors in the pathogenic <i>L. pneumophila</i>	SP26-P01
BOURDONNAIS	Erwan	Etude comparative de méthodes d'extraction d'ADN bactérien à partir d'échantillons du milieu marin	SP26-P02
DUNAND-ALM	Augustin	Évaluation des capacités de résistance et de dégradation de fongicide par des champignons filamenteux	SP26-P03
EULLER	Gabriel	Caractérisation des glycanes impliqués dans les interactions entre huître et virus entériques humains	SP26-P04
FERRAND	Aurélié	Resistance to antibiotics by efflux in multidrug resistant <i>Enterobacteriaceae</i> : detection, prevalence and development of a technique allowing use for diagnostic purposes	SP26-P05
LEONELLI	Dimitri	Characterization of key enzymes involved in mycobacterial survival in the host	SP26-P06
LOTOUX	Aurélié	Identification de gènes impliqués dans la vie intracellulaire et la persistance de <i>Listeria monocytogenes</i> par phénotypage à grande échelle et génomique comparative	SP26-P07
MUNIR	Muhammad T.	Spectral Confocal Laser Scanning Microscopy as an innovative tool to investigate the hygienic risk of <i>Staphylococcus aureus</i> on wooden contact surfaces	SP26-P08
NOVELLI	Marine	Screen for efflux Pump Inhibitors and Chemical Engineering to upraise antibiotic efficiency	SP26-P09
TRIGUEROS	Sylvain	Effect of heavy water incorporation on the viability of <i>Listeria innocua</i>	SP26-P10

V-P Virologie

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
BOUTOLLEAU	David	Caractéristiques épidémiologiques, cliniques et biologiques des infections du système nerveux central dues aux alphaherpèsvirus en France entre 2014 et 2018 : résultats de l'étude rétrospective multicentrique RetroAlpha 14-18	V-P01
BULSSICO	Julián	Stronger together: Antibiotics that enhance phage effectivity	V-P02
DUCROT	Nicolas	Utilisation de la capsid du bactériophage T5 comme nanoparticule fonctionnalisable	V-P03
HENNECHART	Catherine	Analyses virologiques réalisées lors des investigations de toxico-infection alimentaire d'origine virale en restauration collective, en France, entre 2012 et 2017	V-P04
RIOU	Mickaël	Développement de mesures automatisées des indicateurs de bien-être et de santé des volailles : cas particulier de la bronchite infectieuse aviaire	V-P05
SCHAEFFER	Julien	Diversité des virus entériques dans les palourdes du fleuve SANAGA au Cameroun ?	V-P06

VR-P Vaccination et réponse immune

Nom	Prénom	Titre de la communication affichées	N° poster
DELOIRE	Sandrine	Comment la cytométrie en flux contribue à la recherche vaccinale contre des cibles bactériennes	VR-P01

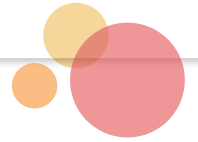


Société Française
de Microbiologie

MICROBES 2021

16^e Congrès National de la SFM

22-24
SEPT



LISTE DES PARTICIPANTS

MICROBES 2021

...mille lieux
au cœur de la
microbiologie

ABDEL NOUR Afif

Qiagen
COURTABOEUF – FRANCE
+33 1 60 92 09 20
afif.abdelnour@qiagen.com

ABID Maryam

Bactériologie
CHRU Trousseau
TOURS – FRANCE
maryamabid@hotmail.fr

ADAMUZ Jérémy

Université de Bourgogne Franche-Comté
Agrosup Dijon
DIJON – FRANCE
jeremy.adamuz@agrosupdijon.fr

AGAPE Lorna

INRAe
TOURS – FRANCE
lorna.agape@inrae.fr

AGOGUÉ Hélène

UMR LIENSs
CNRS
LA ROCHELLE – FRANCE
+33 5 46 50 76 50
helene.agogue@univ-lr.fr

AKSOY Melike

Direction Commerciale et Marketing
Biocentric
BANDOL – FRANCE
+33 4 94 29 06 30
melike.aksoy@bruker.com

ALAIN Karine

Microbiologie des environnements
extrêmes
CNRS
LE CONQUET – FRANCE
+33 2 98 45 72 05
karine.alain@univ-brest.fr

ALLAIN Margaux

UMR 1137 IAME
Hopital Louis Mourier
COLOMBES – FRANCE
margaux.allain2@aphp.fr

ALLIX Sébastien

Lab'Science
AMBOISE – FRANCE
s.allix-leguen@lab-science.eu

ALONSO Lise

INRS
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
+33 3 83 50 21 31
lise.alonso@inrs.fr

AMOUYAL Jane

Cepheid Europe
FRANCE
jane.amouyal@cepheid.com

ANDONIAN Clément

CH Metropole Savoie
DRUMETTAZ CLARAFOND – FRANCE
clement.andonian@ch-metropole-savoie.fr

ANDRÉ Gwenaëlle

MaIAGE
INRAe
PARIS – FRANCE
gwenaëlle.andre-leroux@inrae.fr

ANDREMONT Antoine

Retraité
MALAKOFF – FRANCE
antoine.andremont@gmail.com

ANDREOLETTI Laurent

Virologie
CHU - Faculté de Médecine
REIMS – FRANCE
+33 3 26 78 77 02
landreoletti@chu-reims.fr

ANGELE Alain

Nikon
FRANCE
alain.angele@nikon.com

ANTHOINE Valerie

Secalim
INRAe - Oniris
NANTES – FRANCE
valerie.anthoine@oniris-nantes.fr

ARCHAMBAUD Cristel

Micalis
INRAe
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
+33 1 34 65 22 65
cristel.archambaud@inrae.fr

ARMENGAUD Jean

Li2D - ProGénoMix platform
CEA Marcoule
BAGNOLS-SUR-CÈZE – FRANCE
+33 4 66 79 62 77
jean.armengaud@cea.fr

ARNAL Charlotte

Direction des Expertise Scientifique
et Technique
Veolia Recherche et Innovation
MAISONS LAFFITTE – FRANCE
charlotte.arnal@veolia.com

ARZUL Vincent

PARIS – FRANCE
vincenarzul@gmail.com

ASSAF Antony Ali

Université de Nantes
LA ROCHE-SUR-YON – FRANCE
+33 2 53 80 41 57
ali.assaf1@univ-nantes.fr

ATTAIECH Laetitia

Équipe Horigene - Pl: X. Charpentier
CIRI - UMR 5308
VILLEURBANNE – FRANCE
+33 4 72 44 79 37
laetitia.attaiech@univ-lyon1.fr

AUBOURG Marion

U2RM
CHU Côte de Nacre
CAEN – FRANCE
+33 2 31 06 33 28
marion.aubourg@unicaen.fr

AUFORT Isabelle

Marketing
Ozyme
SAINT-CYR-L'ÉCOLE – FRANCE
+33 1 34 60 24 24
iaufort@ozyme.fr

AUGAGNEUR Yoann

Inserm U1230 BRM
Université Rennes 1
RENNES – FRANCE
+33 2 23 23 46 31
yoann.augagneur@univ-rennes1.fr

AUTRÉAU Caroline

EA 4651 ABTE - Équipe MALIM
Université de Caen
CAEN – FRANCE
caroline.autreau@unicaen.fr

AYMERIC Laëtitia

UMR1235 TENS
Inserm - Université d'Angers
NANTES – FRANCE
+33 2 40 41 11 23
laetitia.aymeric@univ-nantes.fr

BABIN François-Xavier

Fondation Mérieux
LYON – FRANCE
fx.babin@fondation-merieux.org

BADIOU Cédric

U1111 - CIRI
Inserm
LYON – FRANCE
+33 4 78 77 86 57
cedric.badiou@univ-lyon1.fr

BAERT Emmanuel

Menarini
RUNGIS – FRANCE
emmanuel.baert@pharmafield.fr

BALESWARAN Abirami

École d'Ingenieur de Purpan
TOULOUSE – FRANCE
abirami.baleswaran@purpan.fr

BALTAZAR LEPINE Emilie

Marketing et communication
bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
+33 4 78 87 20 00
emilie.baltazarlepine@biomerieux.com

BAQUÉ MéliSSa

Département micro Technologies
pour la Biologie
CEA
GRENOBLE – FRANCE
+33 4 38 78 14 08
melissa.baque@cea.fr

BARBÉ Laure

Ifremer
NANTES – FRANCE
lbarbe@ifremer.fr

BARDET Lucie

Biocentric
BANDOL – FRANCE
+33 4 94 29 06 30
lucie.bardet@bruker.com

BÄRENSTRAUCH Margot

Département Génie biologique
UMR5600 EVS-ISTHME
Université Jean Monnet
SAINT-ÉTIENNE – FRANCE
margot.barenstrauch@gmail.com

BARRAL Carolina

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
+33 4 78 87 20 00
carolina.barral@biomerieux.com

BARRAY Anaïs

U1111 CIRI
Inserm
LYON – FRANCE
anaïs.barray@gmail.com

BARRESI Claire

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
claire.barresi@biomerieux.com

BARTHÉLEMY Amélie

Fluidigm
LES ULIS – FRANCE
amelie.barthelemy@fluidigm.com

BATARD Sandrine

Nikon France
CHAMPIGNY-SUR-MARNE – FRANCE
+33 1 45 16 46 60
sandrine.batard@nikon.fr

BAUBY Hélène

Qiagen
COURTABOEUF – FRANCE
+33 1 60 92 09 20
helene.bauby@qiagen.com

BAUCHERON Sylvie

INRAe
NOUZILLY – FRANCE
+33 2 47 42 77 65
sylvie.baucheron@inrae.fr

BAULARD Alain

Centre d'infection et d'immunité
Inserm - Institut Pasteur de Lille
LILLE – FRANCE
+33 3 20 87 11 53
alain.baulard@pasteur-lille.fr

BAUMAS Emeline

bioMérieux
FRANCE
emelinebaumas@gmail.com

BEAUDRON Aurélie

Microbiologie
CH
LE MANS – FRANCE
+33 2 43 43 27 40
abeaudron@ch-lemans.fr

BELLANGER Tiffany

UMR PAM
Université de Bourgogne-Franche-Comté
DIJON – FRANCE
+33 3 80 39 62 67
tiffany.bellanger@u-bourgogne.fr

BELZ Jean-Marc

Olmix
BREHAN – FRANCE
jmbelz@olmix.com

BEN DHAOU Wiem

Bactériologie
Pitié-salpêtrière
PARIS – FRANCE
wiem.ben-dhaou@aphp.fr

BEN YOUSSEF Wafa

Laboratoire Jean Perrin
Sorbonne Université
PARIS – FRANCE
benyoussef.wafa.insat@gmail.com

BENSAUDE Emmanuelle

BD
FRANCE
emmanuelle.bensaude@bd.com

BERAUD Laetitia

Institut des agents infectieux
Hospices Civils de Lyon
LYON – FRANCE
laetitia.beraud@chu-lyon.fr

BERKOVA Nadia Nadejda

STLO - Microbiologie
INRAe
RENNES – FRANCE
+33 2 23 48 57 41
nadejda.berkova@inrae.fr

BERNARD Charles

UMR 7205 ISYEB
Muséum national d'Histoire naturelle
PARIS – FRANCE
+33 1 44 27 34 70
charles.bernard@cri-paris.org

BERNUT Audrey

2I
Inserm - UVSQ
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE
+33 1 70 42 93 66
audrey.bernut@uvsq.fr

BERRY Vincent

UFR - LLSHS
Sorbonne Université Paris Nord
BESSANCOURT – FRANCE
vincent.berry@protonmail.com

BESCHI Clotilde

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
clotilde.beschi@biomerieux.com

BESSÈDE Emilie

Laboratoire de Bactériologie
CHU
BORDEAUX – FRANCE
emilie.bessede@u-bordeaux.fr

BIET Franck

INRAe
NOUZILLY – FRANCE
+33 2 47 42 78 69
franck.biet@inrae.fr

BIGOT Sarah

CNRS - MMSB - Université Lyon
UMR 5086
LYON – FRANCE
+33 4 72 72 26 89
sarah.bigot@ibcp.fr

BILLARD-POMARES Typhaine

Service de Microbiologie clinique
Hôpital Avicenne
BOBIGNY – FRANCE
+33 1 48 95 59 14
typhaine.billard-pomares@aphp.fr

BISCARRAT Paul

Micalis
INRAe
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
paul.biscarrat@inrae.fr

BLANC-POTARD Anne

UMR 5235
CNRS
MONTPELLIER – FRANCE
+33 4 67 14 47 26
anne.blanc-potard@umontpellier.fr

BLOCH Antoine

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
+33 4 78 87 20 00
antoine.bloch@biomerieux.com

BOISSINOT Dominique

i2a
RENNES – FRANCE
dominique.boissinot@i2a.info

BONHOMME Elodie

Biocentric
BANDOL – FRANCE
+33 4 94 29 06 30
elodie.bonhomme@bruker.com

BONNARME Pascal

UMR SayFood
INRAe
THIVERVAL-GRIGNON – FRANCE
+33 1 30 81 53 98
pascal.bonnarme@inrae.fr

BONNEFOUS Hugo

ISYEB (MNHN)
PARIS – FRANCE
hugo.bonnefous@gmail.com

BONSERGERT Alexandre

Mast Diagnostic
AMIENS – FRANCE
+33 3 22 80 80 67
abonserger@mast-diagnostic.fr

BOTCHORICHVILI Hélène

M2ISH - Inserm UMR1071
Université Clermont Auvergne
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
+33 4 73 17 79 97
helene.botchorichvili@uca.fr

BOUCHARA Jean-Philippe

EA 3142
GEIHP
ANGERS – FRANCE
+33 2 41 35 34 72
jean-philippe.bouchara@univ-angers.fr

BOUCHARAINE Aurélie

Fluidigm
LES ULIS – FRANCE
aurelie.bouchareine@fluidigm.com

BOUCHEZ Théodore

Irstea
ANTONY – FRANCE
+33 1 40 96 60 40
theodore.bouchez@inrae.fr

BOUÉ Geraldine

UMR Sécurité des aliments et microbiologie
Oniris
NANTES – FRANCE
+33 2 40 68 28 01
geraldine.boue@oniris-nantes.fr

BOUGNON Juliette

Équipe Pathogénèse des légionelles
CIRI
VILLEURBANNE – FRANCE
+33 4 72 43 13 67
juliette.bougon@univ-lyon1.fr

BOUIX Marielle

UMR LGMPA (CBAI)
AgroParisTech
THIVERVAL-GRIGNON – FRANCE
marielle.bouix@inrae.fr

BOUJU Agnès

UMR Secalim
Oniris
NANTES – FRANCE
+33 4 40 68 78 70
agnes.bouju@oniris-nantes.fr

BOURDAT Anne-Gaelle

Département des technologies pour
la biologie
CEA
GRENOBLE – FRANCE
+33 4 38 78 44 42
anne-gaelle.bourdat@cea.fr

BOURDONNAIS Erwan

Laboratoire de sécurité des aliments
Université du Littoral Côte d'Opale
BOULOGNE-SUR-MER – FRANCE
+33 3 21 99 25 00
erwan.bourdonnais@anses.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
AVIGNON – FRANCE
+33 4 32 64 24 94
cecile.boutonnet@inrae.fr

BRANTS Jan

Luminex Paris
PARIS – FRANCE
+31 73 800 1900
jbrants@luminexcorp.com

BRAUGE Thomas

Laboratoire de sécurité des aliments
Anses
BOULOGNE-SUR-MER – FRANCE
+33 3 21 99 25 00
thomas.brauge@anses.fr

BRESSOLLETTE-BODIN Céline

Virologie
CHU - Université de Nantes
NANTES – FRANCE
+33 2 40 08 41 22
celine.bressollette@chu-nantes.fr

BRISABOIS Anne

Direction de la stratégie et des programmes
Anses
MAISONS-ALFORT – FRANCE
+33 1 49 77 28 26
anne.brisabois@anses.fr

BRISSE Sylvain

Santé Globale
Unité Biodiversité Épidémiologie
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 45 68 83 34
sylvain.brisse@pasteur.fr

BROCHARD Charlène

UMR1235 TENS
Inserm - CHU
NANTES – FRANCE
+33 2 40 41 11 23
charlene.brochard@chu-rennes.fr

BRODARD Véronique

Microbiologie
CHU
REIMS – FRANCE
+33 3 26 78 77 09
vbrodard@chu-reims.fr

BRUAL Typhaine

UMR5240
Laboratoire MAP
VILLEURBANNE – FRANCE
typhaine.brual@gmail.com

BRUGIER Jean-Christophe

Bio17
LA ROCHELLE – FRANCE
jcbrugier@hotmail.com

BRULÉ Lenaïg

UMR 1014 SECALIM
INRAe - Oniris
NANTES – FRANCE
+33 2 40 68 40 53
lenaig.brule@inrae.fr

BRUNET Philippe

Pfizer
PARIS – FRANCE
philippe.brunet@pfizer.com

BUCHRIESER Carmen

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 45 68 83 72
carmen.buchrieser@pasteur.fr

BUELOW Elena

CNRS, Grenoble INP, TIMC-IMAG
Institut Jean Roget
University Grenoble Alpes
GRENOBLE – FRANCE
+33 5 55 05 61 66
elena.buelow@gmail.com

BUFFET Amandine

Unité génomique évolutive des microbes
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 41 60 36 59
amandine.buffer@pasteur.fr

BURETTE Mélanie

CNRS IRIM
MONTPELLIER – FRANCE
melanie.burette@irim.cnrs.fr

BURREL Sonia

Virologie U1135 CR7 CIMI-UPMC AP-HP
Persistent Viral Infections
Hôpitaux Universitaire
PARIS – FRANCE
+33 1 42 17 74 02
sonia.burrel@aphp.fr

BURSZYKA Julian

PerkinElmer
VILLEBON SUR YVETTE – FRANCE
julian.burszyka@perkinelmer.com

BURUCOA Christophe

Bactériologie
CHU La Miletie
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

CAHON Yohann

Associates of Cape Cod
VERNEUIL-SUR-SEINE – FRANCE
ycahon@accintl.com

CAILLAUD Marie-Aurore

Secrétariat d'État - Économie numérique
Toulouse Biotechnology Institute
TOULOUSE – FRANCE
ma_caill@insa-toulouse.fr

CAILLAUT Amandine

Parasitologie Mycologie
APHP Henri Mondor
CRÉTEIL – FRANCE
+33 1 42 49 94 93
amandine.caillault2@aphp.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

CAMBAU Emmanuelle

Mycobactériologie spécialisée et
de référence
Germfa - Bactériologie
Hôpital Lariboisière
PARIS – FRANCE
+33 1 40 25 80 35
emmanuelle.cambau@aphp.fr

CANON Fanny

UMR STLO
INRAe
RENNES – FRANCE
+33 2 33 48 53 24
fanny.canon@inrae.fr

CAPITAINE Agathe

Laboratoire de microbiologie
CHU Caen
CAEN – FRANCE
+33 2 31 06 58 16
capitaine-a@chu-caen.fr

CARA Andréa

Équipe Pathogénie des staphylocoques
CIRI - HCL
LYON – FRANCE
+33 4 78 78 57 11
andrea.cara@inserm.fr

CARLIN Frédéric

UMR 408 Sécurité et Qualité des produits
INRAe
AVIGNON – FRANCE
+33 4 32 72 25 19
frederic.carlin@inrae.fr

CARLONI Mara Emilia

Unité de recherche Yersinia
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
mara.carloni@pasteur.fr

CATAO Elisa

Équipe MIC
Université de Lorraine - CNRS
NANCY – FRANCE
+33 3 72 74 72 39
elisa.catao@univ-lorraine.fr

CATTOEN Christian

Microbiologie
Centre Hospitalier
VALENCIENNES – FRANCE
+33 3 27 14 33 86
cattoen-c@ch-valenciennes.fr

CATTOIR Vincent

CHU
RENNES – FRANCE
+33 2 99 28 98 28
vincent.cattoir@chu-rennes.fr

CAUCHIE Henry-Michel

Environmental Reseach and Innovation
Luxembourg Institute of Science
and Technology
BELVAUX – LUXEMBOURG
+35 22 75 88 81
henry-michel.cauchie@list.lu

CAUTY Axel

UE-1277 Plateforme d'Infectiologie
INRAe
NOUZILLY – FRANCE
+33 2 47 42 79 45
axel.cauty@inrae.fr

CENAC Nicolas

IRSD
Inserm
TOULOUSE – FRANCE
+33 5 31 54 79 17
nicolas.cenac@inserm.fr

CHAIGNEAU Laurent

Lab'Science
AMBOISE – FRANCE
l.chaigneau@lab-science.eu

CHAMARANDE Jordan

EA 7300 SIMPA
Université de Lorraine
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
+33 3 72 74 62 56
jordan.chamarande@univ-lorraine.fr

CHARDON Hubert

Bactériologie
Centre Hospitalier
AIX-EN-PROVENCE – FRANCE
+33 4 42 33 50 87
hchardon@ch-aix.fr

CHARILLAT Jérôme

Insméd
PARIS – FRANCE
jerome.charillat@insmed.com

CHARLES Ciriac

Unité des zoonoses bactériennes
Anses
MAISONS-ALFORT – FRANCE
+33 1 49 77 46 79
ciriac.charles@anses.fr

CHAT Héloïse

M2ISH - Inserm UMR1071
Université Clermont Auvergne
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
+33 4 73 17 79 97
heloise.chat@uca.fr

CHAUVET Romain

Eurofins
NANTES – FRANCE
+33 2 51 83 21 00
romainchauvet@eurofins.com

CHAVIGNON Marie

Équipe Pathogénie des staphylocoques
CIRI - INSERM U1111
LYON – FRANCE
+33 4 78 78 57 13
marie.chavignon@etu.univ-lyon1.fr

CHOUDHURY Alaksh

UMR 1137 IAME
Inserm
PARIS – FRANCE
alaksh.choudhury@inserm.fr

CHRISTIEANS Souad

BU Techno-Microbio
ADIV
CLERMONT-FERRAND – FRANCE
+33 4 73 98 53 80
souad.christieans@adiv.fr

CICAL Laurene

Shionogi Europe
PUTEAUX – FRANCE
laurene.cical@shionogi.eu

COCAIGN-BOUSQUET Muriel

TBI
TOULOUSE – FRANCE
+33 5 61 55 94 65
cocaign@insa-toulouse.fr

COHU Thibaut

DRT - LETI - DTBS
CEA
GRENOBLE – FRANCE
+33 4 38 78 34 77
thibaut.cohu@cea.fr

COLAS Valérie

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
valerie.colas@biomerieux.com

COLLEMARE Jérôme

Fungal Natural Products
Westerdijk Fungal Biodiversity Institute
UTRECHT – PAYS-BAS
j.collemare@westerdijknstitute.nl

COLLETTE Jordan

Logos Biosystems
Part of Aligned Genetics
VILLENUEVE-D'ASCQ – FRANCE
+33 3 74 09 44 35
jordan.collette@alignedgenetics.com

CONDE Cyril

ISP
INRAe
NOUZILLY – FRANCE
+33 2 47 42 78 69
cyril.conde@inrae.fr

COPIN Stephanie

Unité Bactériologie et Parasitologie
des Produits
Anses
BOULOGNE-SUR-MER – FRANCE
+33 3 21 99 25 00
stephanie.copin@anses.fr

CORDEVANT Christophe

Direction de la stratégie et des programmes
Anses
MAISONS-ALFORT – FRANCE
+33 1 56 29 19 47
christophe.cordevant@anses.fr

CORNELOUP Thibault

Inserm
PARIS – FRANCE
thibault.corneloup@inserm.fr

COSTES Camille

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
camille.costes@biomerieux.com

COTON Monika

Université de Bretagne Occidentale
PLOUZANÉ – FRANCE
+33 2 90 91 51 55
monika.coton@univ-brest.fr

COUVÉ-DEACON Elodie

Laboratoire de Bactériologie-Virologie-
Hygiène
Chu dupuytren
LIMOGES – FRANCE
+33 5 55 05 68 31
elodie.couve-deacon@chu-limoges.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
FRANCE
emmanuel.crenn@biomerieux.com

CRUZ RAMOS Hugo

R&D
CHROMagar
PARIS – FRANCE
+33 1 45 48 25 26
chromagar@chromagar.com

CUNAT Lisiane

EA 7300 SIMPA
Université de Lorraine
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
+33 3 72 74 61 60
lisiane.cunat@univ-lorraine.fr

CUNY Helena

Institut Universitaire Européen de la Mer
Université de Bretagne Occidentale
QUIMPER – FRANCE
+33 2 98 64 19 43
helena.cuny@univ-brest.fr

DALLE Frederic

CHU
DIJON – FRANCE
frederic.dalle@chu-dijon.fr

DALMASSO Marion

ABTE / MALIM
UNIVERSITE DE CAEN NORMANDIE
CAEN – FRANCE
+33 231567219
marielle.lopez-pardo@unicaen.fr

DARAKDJIAN Jérôme

Agilent Technologies
LES ULIS – FRANCE
jerome.darakdjan@agilent.com

DAVERAN-MINGOT Marie-Line

Université Paul Sabatier - LISBP
TOULOUSE – FRANCE
+33 5 61 55 97 21
daveran@insa-toulouse.fr

DAVY Floriane

Équipe Pathogénie des staphylocoques
CIRI
LYON – FRANCE
floriane.davy@univ-lyon1.fr

DAWOD Lina

R&D
Amarok Biotechnologies
SAINT-MALO – FRANCE
+33 2 99 81 08 09
recherche@amarokbiotech.com

DE CAVEL Jean-Pierre

Contrôle OGM
MESRI
PARIS – FRANCE
+33 3 20 87 79 50
jean-pierre.de-cavel@recherche.gouv.fr

DE JESUS RASTEIRO Kevin

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
+33 4 78 87 20 00
kevin.dejesusrasteiro@biomerieux.com

DE LASTOURS Victoire

Inserm
PARIS – FRANCE
victoire.de-lastours@aphp.fr

DE LOVINFOSSE Jean-Yves

Beckman Coulter France
VILLEPINTE – FRANCE
jdelovinfosse@beckman.com

DE PAEPE Marianne

MICALIS
INRAe
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
+33 1 34 65 25 19
marianne.depaepe@inrae.fr

DEBEAUQUENNE Rémy

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
remy.debeauquenne@biomerieux.com

DEBOSCKER Stéphanie

Service d'hygiène hospitalière
Hôpitaux Universitaires de Strasbourg
STRASBOURG – FRANCE
+33 3 69 55 03 10
stephanie.deboscker@chru-strasbourg.fr

DECHENE-TEMPIER Manon

UMBA
Anses
PLOUFRAGAN – FRANCE
manon.dechenetempier@anses.fr

DECOUSSER Jean-Winoc

Laboratoire de Bactériologie-Hygiène
CHU Henri Mondor
CRÉTEIL – FRANCE
+33 1 49 81 21 11
jean-winoc.decousser@aphp.fr

DELATTRE Hadrien

University of warwick
COVENTRY – ROYAUME-UNI
hadrien.delattre@mail.com

DELAUNAY Eva

IUT UMR CNRS GEPEA 6144 CBAC
Université de Nantes
LA ROCHE-SUR-YON – FRANCE
+33 2 53 80 41 64
eva.delaunay@univ-nantes.fr

DELCAMP Sophie

Interscience
FRANCE
sdelcamp@interscience.com

DELLIÈRE Sarah

Hôpital Saint-Louis
PARIS – 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

DELOIRE Sandrine

Research & External Innovation
Sanofi Pasteur
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
+33 4 37 66 8769
sandrine.deloire@sanofi.com

DEMANGE Isabelle

Cepheid Europe
FRANCE
isabelle.demange@cepheid.com

DEMAY Fanny

IGDR
Équipe «Ribosome, Bactérie & Stress»
CNRS - Université de Rennes 1
RENNES – FRANCE
+33 2 23 23 65 67
fanny.demay@univ-rennes1.fr

DENIS Catherine

Actalia
SAINT-LÔ – FRANCE
+33 2 33 06 71 71
c.denis@actalia.eu

DESAINT Stéphane

Microbiologie
Groupe Rocher
ISSY-LES-MOULINEAUX – FRANCE
stephane.desaint@yrnet.com

DESCOURS Ghislaine

Institut des Agents Infectieux
Laboratoire de Bactériologie
Hospices Civils de Lyon
LYON – FRANCE
+33 4 72 07 16 50
ghislaine.descours@univ-lyon1.fr

DESDOITS Marion

Laboratoire Santé-Environnement-
Microbiologie
Ifremer
NANTES – FRANCE
+33 2 40 37 43 92
marion.desdouts@ifremer.fr

DESLYS Jean-Philippe

CEA
FONTENAY-AUX-ROSES – FRANCE
jpdsls@cea.fr

DESMONTS Marie-Hélène

Microbiologie
Aerial
ILLKIRCH – FRANCE
+33 3 88 19 15 15
mh.desmonts@aerial-crt.com

DEUTSCH Stéphanie

STLO (INRAE)
RENNES – FRANCE
stephanie-marie.deutsch@inrae.fr

DHALLUIN anne

Laboratoire de Microbiologie
UFR Santé
CAEN – FRANCE
anne.dhalluin@unicaen.fr

DIALLO Mariame Bailo

Direction Régionale de la Santé
Fondation Mérieux
KINDIA – GUINÉE-CONAKRY
+22 4 62 24 22 34 8
lobai4ever@yahoo.fr

DIB Omar

Université de Nantes
LA ROCHE-SUR-YON – FRANCE
omar.dib@univ-nantes.fr

DJAMALLADINE MAHAMAT Doungous

MIVEGEC
Université de Montpellier
MONTPELLIER – FRANCE
djadas2007@yahoo.fr

DJERMOUN Sarah

CNRS - MMSB UMR 5086
LYON – FRANCE
+33 4 72 72 26 89
sarah.djermoun@ibcp.fr

DOCEUL Virginie

UMR 1161 - Virologie
INRAE - Anses - ENVA
MAISONS-ALFORT – FRANCE
+33 1 43 96 73 72
virginie.doceul@vet-alfort.fr

DORBANI Imed

INRAE - Avignon Université
AVIGNON – FRANCE
+33 4 32 72 24 94
mohamed-imed-eddine.dorbani@inrae.fr

DORE Joël

Micalis & MetaGenoPolis
INRAE
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
joel.dore@inrae.fr

DOUBLET Benoît

Infectiologie et Santé publique
INRAE
NOUZILLY – FRANCE
+33 2 47 42 72 95
benoit.doublet@inrae.fr

DRUMEL Thomas

CHU
NANTES – FRANCE
thomas.drumel@chu-nantes.fr

DU LUONG Ngoc

Evaluation des Risques
ANSES
NANTES – FRANCE
+33 1 49 77 38 94
ngoc-du.luong@anses.fr

DUBAN Livine

Luminex B.V.
S-HERTOGENBOSCH – PAYS-BAS
lduban@luminexcorp.com

DUBREIL Laurence

UMR703 PAnTher APEX
Oniris
NANTES – FRANCE
+33 2 40 68 40 30
laurence.dubreil@oniris-nantes.fr

DUBUS Marie

Université de Reims Champagne Ardenne
REIMS – FRANCE
marie.dubus@hotmail.com

DUCHARD-YAMADA Sophie

ANSES
 MAISONS-ALFORT – FRANCE
 +33 1 49 77 21 16
 sophie.duchard-yamada@anses.fr

DUCHAUD Eric

Virologie
 INRAe
 JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
 eric.duchaud@inra.fr

DUCROT Nicolas

I2BC CNRS UMR 9198
 GIF-SUR-YVETTE – FRANCE
 +33 1 69 82 61 22
 nicolas.ducrot@i2bc.paris-saclay.fr

DUGENY Christophe

Menarini
 RUNGIS – FRANCE
 cdugeny@menarini.fr

DUMONT Yann

Laboratoire de bactériologie
 CHU de Montpellier
 MONTPELLIER – FRANCE
 +33 4 67 33 58 83
 yann.dumont.md@protonmail.com

DUNAND-ALM Augustin

CPE Lyon FCR
 VILLEURBANNE – FRANCE
 +33 4 72 43 17 00
 augustin.dunand-alm@cpe.fr

DUPRÉ Mathilde

FANCE
 mathilde.dupre@interieur.gouv.fr

DUQUENNE Philippe

INRS
 VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
 philippe.duquenne@inrs.fr

DURAND Catherine

Menarini
 RUNGIS – FRANCE
 cdurand@menarini.fr

DURANTON Delphine

Laboratoire site de
 Saint-Rémy-lès-Chevreuse
 Cerballiance
 SAINT-RÉMY-LÈS-CHEVREUSE – FRANCE
 delphine.duranton@neuf.fr

DUSSAUT Cédric

Laboratoire Génie des Procédés
 et Matériaux
 CentraleSupélec
 GIF-SUR-YVETTE – FRANCE
 cedric.dussaut@centralesupelec.fr

DUSSURGET Olivier

Institut Pasteur
 PARIS – FRANCE
 +33 1 40 61 34 72
 olivier.dussurget@pasteur.fr

ECKERT Catherine

Bactériologie
 Hôpital Saint-Antoine
 PARIS – FRANCE
 +33 1 49 28 29 74
 catherine.eckert@aphp.fr

EL MEUCHE Imane

U1137
 Inserm
 PARIS – FRANCE
 +33 1 57 27 74 43
 myriam.berthet@inserm.fr

ELEZ Marina

MICALIS
 INRA
 JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
 +33 1 34 65 25 19
 marina.elez@inrae.fr

ELOY Odile

Biologie
 Centre Hospitalier de Versailles
 LE CHESNAY – FRANCE
 +33 1 39 63 93 75
 oeloy@ch-versailles.fr

ENGELMANN Ilka

Virologie
 CHRU
 LILLE – FRANCE
 +33 3 20 44 48 80
 ilka.engelmann@chru-lille.fr

ENNINGA Jost

Dynamics of host-pathogen interactions
 Institut Pasteur
 PARIS – FRANCE
 +33 1 44 38 94 13
 jost.enninga@pasteur.fr

ENRICO BENA Chiara

MICALIS
 INRAe
 JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
 +33 1 34 65 25 19
 magali.ventroux@inrae.fr

ETIENNE Stéphanie

Anses
 NANCY – FRANCE
 +33 3 83 38 87 20
 stephanie.etienne@anses.fr

EULLER Gabriel

LSEM
 Ifremer
 NANTES – FRANCE
 +33 2 40 37 43 33
 gabriel.euller@ifremer.fr

EVEILLARD Damien

LS2N - Université de Nantes
 NANTES – FRANCE
 +33 2 51 12 59 85
 damien.eveillard@univ-nantes.fr

EVEN Sergine

UMR STLO
 INRAe - Institut Agro
 RENNES – FRANCE
 +33 2 23 48 59 44
 sergine.even@inrae.fr

EVRRARD Mathieu

Nantes Saint-Nazaire Développement
 NANTES – FRANCE
 +33 2 40 35 55 45
 mathieu.evrard@nantes-saintnazaire.fr

FAURE Allison

Équipe Pathogénie des staphylocoques
 CIRI - HCL
 LYON – FRANCE
 +33 4 78 78 57 11
 allison.faure@chu-lyon.fr

FAURE Karine

CHRU
 LILLE – FRANCE
 karine.faure@chru-lille.fr

FAYET Maurine

LMGE
 AUBIÈRE – FRANCE
 +33 4 73 40 53 06
 maurine.fayet@uca.fr

FEDERIGHI Michel

UMR Sécurité des aliments et microbiologie
Oniris
NANTES – FRANCE
+33 2 40 68 76 81
michel.federighi@oniris-nantes.fr

FERCHAUD Laureen

Molzylm
BREMEN – ALLEMAGNE
ferchaud@molzylm.com

FERMON Laurence

U 12300
Université Rennes 1
RENNES – FRANCE
+33 2 23 23 48 50
laurence.fermon@univ-rennes1.fr

FERRAND Aurélie

UMR MD1 MCT INSERM U1261
Faculté de Pharmacie
MARSEILLE – FRANCE
+33 7 49 96 21 26
ferrand.aurelie@hotmail.fr

FEURER Carole

Microbiologie
IFIP
LE RHEU – FRANCE
+33 2 99 60 98 20
carole.feurer@ifip.asso.fr

FICHOU Nolwenn

Miltényi Biotec
PARIS – FRANCE
nolwennf@miltényi.com

FIORE Tony

Healthcare
Nikon France
CHAMPIGNY-SUR-MARNE – FRANCE
tony.fiore@nikon.com

FIRMESSE Olivier

Laboratoire de Sécurité des Aliments
Anses
MAISONS-ALFORT – FRANCE
+33 1 49 77 22 67
olivier.firmesse@anses.fr

FLECK Neila

Insméd
PARIS – FRANCE
neila.fleck@insmed.com

FLEURY Yannick

LBCM
Université de Bretagne Occidentale
QUIMPER – FRANCE
+33 2 98 64 19 34
fleury@univ-brest.fr

FOISSEY Stéphanie

Qiagen
COURTABOEUF – FRANCE
+33 1 60 92 09 20
stephanie.foissey@qiagen.com

FORMOSA-DAGUE Cécile

Toulouse Biotechnology Insitute
INSA
TOULOUSE – FRANCE
+33 5 61 55 96 86
formosa@insa-toulouse.fr

FORTIER Emma

Institut de Microbiologie de la Méditerranée
MARSEILLE – FRANCE
efortier@imm.cnrs.fr

FOULON Mélanie

Biochimie
Université de Genève
GENÈVE – SUISSE
melanie.foulon@unige.ch

FOURGEAUD Jacques

Microbiologie Clinique
Hôpital Necker
PARIS – FRANCE
jacques.fourgeaud@aphp.fr

FOURNIER Remi

Microbiologie
LABOSUD
MONTPELLIER – FRANCE
+33 4 11 75 38 03
remi.fournier@labosud.fr

FREBY Cécile

Fluidigm
CAMBRIDGE – ROYAUME-UNI
Cecile.Freby@fluidigm.com

FREMAUX Bastien

Viandes et charcuteries
IFIP
MAISONS-ALFORT – FRANCE
bastien.fremaux@ifip.asso.fr

FRENEY Jean

Université Claude Bernard Lyon I
LYON – FRANCE
freney.jean@gmail.com

FRESNEAU Franck

Bruker France
CHAMPS-SUR-MARNE – FRANCE
+33 3 88 73 68 00
franck.fresneau@bruker.com

GABORIAU-ROUTHIAU Valérie

INRAE - Institut Imagine
PARIS – FRANCE
+33 1 42 75 42 74
valerie.gaboriau-routhiau@inserm.fr

GACHET Benoît

U1137
Inserm
PARIS – FRANCE
benoit.gachet@inserm.fr

GAILLAC Antoine

Oniris
NANTES – FRANCE
antoine.gaillac@inrae.fr

GALLAIS Floriane

Laboratoire de virologie
CHRU
STRASBOURG – FRANCE
+33 3 69 55 15 48
floriane.gallais@chru-strasbourg.fr

GALLOIS Nicolas

Équipe MIC
CNRS
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
+33 3 72 74 72 56
galloisnicolas.ng@gmail.com

GAND Clément

Bruker France
CHAMPS-SUR-MARNE – FRANCE
+33 3 88 73 68 00
clement.gand@bruker.com

GANGNEUX Jean-Pierre

Parasitologie-Mycologie
CHU
PACÉ – FRANCE
+33 2 99 28 42 68
jean-pierre.gangneux@chu-rennes.fr

GARRY Pascal

Laboratoire Santé-Environnement-
Microbiologie
Ifremer
NANTES – FRANCE
+33 1 40 37 40 37
pascal.garry@ifremer.fr

GASSER Cécile

INRAe - Danone Nutricia Research
Palaiseau
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
cecile.gasser@inrae.fr

GAUDRIAULT Georges

Deinove
GRABELS – FRANCE
+33 4 48 19 01 24
georges.gaudriault@deinove.com

GAUTHIER Clément

bioMérieux
FRANCE
clement.gauthier@biomerieux.com

GENEST Berengere

BD
LE PONT DE CLAIK – FRANCE
+33 4 76 68 36 36
marlene.domingues@bd.com

GENESTET Charlotte

Laboratoire de Bactériologie
Hospices Civils de Lyon - CIRI INSERM
U1111
LYON – FRANCE
charlotte.genestet@gmail.com

GEORGEAULT Sylvie

IGDR UMR 6290
CNRS - Université de Rennes 1
RENNES – FRANCE
+33 2 23 23 67 75
sylvie.georgeault@univ-rennes1.fr

GERARD Jean-Marc

Qiagen
COURTABOEUF – FRANCE
+33 1 60 92 09 10
jean-marc.gerard@qiagen.com

GERGES Elias

Infection Et Inflammation Chronique
Uvsq
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE
eliasgerges67@hotmail.com

GERMON Pierre

UMR 1282 - Infectiologie et Santé publique
INRAe
NOUZILLY – FRANCE
+33 2 47 42 78 86
pierre.germon@inrae.fr

GHELFENSTEIN-FERREIRA Théo

AP-HP
PARIS – FRANCE
+33 1 42 49 49 49
theo.ferreira@aphp.fr

GHEMARI Sarra

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
sarra.ghemari@biomerieux.com

GHIGO Jean-Marc

Unité de génétique des biofilms
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 40 61 34 18
jean-marc.ghigo@pasteur.fr

GHIUANE Sarah

Recherche, développement et Innovation
LD31 EVA
LAUNAGUET – FRANCE
+33 5 62 10 49 70
sarah.ghiouane@cd31.fr

GHODBANE Ramzi

Bruker France
CHAMPS-SUR-MARNE – FRANCE
+33 3 88 73 68 00
ramzi.ghodbane@bruker.com

GHRIB Mohammed

INRAe
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
mohammedala.ghrib@inrae.fr

GIARD Jean-Christophe

U2RM
Université de Caen
CAEN – FRANCE
+33 2 31 06 33 28
jean-christophe.giard@unicaen.fr

GIRARD Victoria

bioMérieux
FRANCE
victoria.girard@biomerieux.com

GLENET Marie

Laboratoire de Virologie CardioVir EA-4684
UFR Médecine de Reims
REIMS – FRANCE
+33 3 26 91 81 17
mary_glenet_9123@hotmail.com

GLICENSTEIN Simon

CEA
GRENOBLE – FRANCE
+33 4 38 78 18 06
simon.glicenstein@cea.fr

GONÇALVES TEIXEIRA Camila

Université de Lille / U. F. de Viçosa
VILLNEUVE D'ASCQ – FRANCE
camila.g.goncalves.ufv@gmail.com

GORGAS Oceane

i2a
FRANCE
oceane.gorgas@i2a.info

GOUDE Renan

IGDR UMR 6290
CNRS - Université de Rennes 1
RENNES – FRANCE
+33 2 23 23 53 35
renan.goude@univ-rennes1.fr

GOURBANOVA Nara

INSMED
PARIS – FRANCE
nara@dmara.net

GOURMELON Michèle

ODE-DYNECO-PELAGOS
Ifremer
PLOUZANÉ – FRANCE
+33 2 98 22 45 76
michele.gourmelon@ifremer.fr

GRANGÉ Émilie

Université de Nantes
LA ROCHE-SUR-YON – FRANCE
+33 2 53 80 41 52
emilie.fauray@univ-nantes.fr

GRANGEASSE Christophe

MMSB - UMR 5086
CNRS
LYON – FRANCE
+33 4 72 72 26 88
christophe.grangeasse@ibcp.fr

GRASSIN DELYLE Stanislas

Université Versailles Saint-Quentin
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE
+33 1 70 42 94 22
stanislas.grassin-delyle@uvsq.fr

GUEDON Eric

UMR STLO
INRAe
RENNES – FRANCE
+33 2 23 48 53 37
eric.guedon@inrae.fr

GUEUDET Thomas

Laboratoire de biologie
Hôpitaux Civils de Colmar
COLMAR – FRANCE
+33 3 89 12 54 31
thomas.gueudet@ch-colmar.fr

GUFFOND Thierry

Laboratoire DiagnoVie
CYSOING – FRANCE
t.guffond@diagnovie.fr

GUIGNOT Julie

Institut Cochin
Inserm
PARIS – FRANCE
+33 1 40 51 64 13
julie.guignot@inserm.fr

GUILBAUD Audrey

U1232 CRCINA
Inserm
NANTES – FRANCE
audrey.guilbaud@univ-nantes.fr

GUILLEMETTE Thomas

IRHS UMR 1345
AVRILLÉ – FRANCE
thomas.guillemette@univ-angers.fr

GUILLOT Jacques

Dermatologie - Parasitologie - Mycologie
École Nationale Vétérinaire de Nantes
Oniris
NANTES – FRANCE
+33 24 0 68 76 96 ?
jacques.guillot@vet-alfort.fr

GUILLOT Nicolas

Interscience
SAINT-NOM-LA-BRETÈCHE – FRANCE
+33 1 34 62 63 26
nguillot@interscience.com

GUILLOU Sandrine

INRAe - Oniris
NANTES – FRANCE
+33 2 40 68 77 63
sandrine.guillou@inrae.fr

GURCEL Benjamin

Lab'science
FRANCE
b.gurcel@lab-science.eu

HADDAD Nabila

UMR Secalim
Oniris
NANTES – FRANCE
+33 2 51 78 54 39
nabila.haddad@oniris-nantes.fr

HADJADJ Sofiane

Laboratoire d'analyses médicales
Dr Hadjadj Sofiane
OUARGLA – ALGÉRIE
+21 3 29 70 21 87
hadjadj.dr@hotmail.com

HAMAME Afaf

IHU
MARSEILLE – FRANCE
afafhamame@gmail.com

HAMMER-DEDET Florence

Équipe Physe HSM
Université de Montpellier
MONTPELLIER – FRANCE
florence.hammer-dedet@umontpellier.fr

HANIN Aurelie

Food safety
Actalia
SAINT-LÔ – FRANCE
+33 2 33 06 71 71
a.hanin@actalia.eu

HARDY Léo

Université Claude Bernard Lyon 1
VILLEURBANNE – FRANCE
leo.hardy76@gmail.com

HARISS Fatima

U1286
INFINITE
LILLE – FRANCE
+33 3 20 97 42 24
fatima.hariss@hotmail.com

HAROC'H MAIREY Emilie

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
emilie.harochmairey@biomerieux.com

HAUGUEL Lysiane

Normandie Incubation pour le compte
du projet Biogenesis
ROUEN – FRANCE
lysiane.hauguel@biogenesis-bioinfo.com

HEBRAUD Michel

UMR454 MEDIS
INRAe - UCA
SAINT-GÈNES-CHAMPANELLE – FRANCE
+33 4 73 62 46 70
michel.hebraud@inrae.fr

HÉCHARD Yann

CNRS UMR 7267 - Université de Poitiers
POITIERS – FRANCE
+33 5 49 45 40 07
yann.hechard@univ-poitiers.fr

HELLOIN Emmanuelle

CIRM - BP
INRAe
NOUZILLY – FRANCE
+33 2 47 42 78 80
emmanuelle.helloin@inrae.fr

HENNEBEL Anne

Luminex
PARIS – FRANCE
ahennebel@luminexcorp.com

HENNECHART Catherine

LSAL Unité virus entériques
Anses
MAISONS-ALFORT – FRANCE
+33 1 49 77 28 09
catherine.hennechart-collette@anses.fr

HENNET Gaelle

Société Française de Microbiologie
PARIS – FRANCE
+33 9 63 04 70 73
comptabilite@sfm-microbiologie.org

HENRY Erwan

Specific diagnostics
CALIFORNIA – ÉTATS-UNIS
06 74 66 29 99
ehenry@specificcdx.com

HENRY Patricia

Shionogi Europe
PUTEAUX – FRANCE
laurene.cical@shionogi.eu

HERNANDEZ ALONSO Enrique

Université Paris Saclay
PARIS – FRANCE
ehernandez_aa@hotmail.com

HERRMANN Jean-Louis

U1173
 Université Versailles Saint-Quentin - APHP
 MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE
 +33 1 70 42 93 41
 jean-louis.herrmann@aphp.fr

HEUSCHKE Margaux

Institut de Recherche sur les Maladies
 Virales et hépatiques
 Inserm U1110
 STRASBOURG – FRANCE
 +33 3 68 85 37 27
 margaux.heuschkel@etu.unistra.fr

HEZARD Bernard

Microbiologie
 Aerial
 ILLKIRCH GRAFFENSTADEN – FRANCE
 +33 3 88 19 44 00
 b.hezard@aerial-crt.com

HOBSON Claire

U1137
 Inserm
 PARIS – FRANCE
 claire.hobson@inserm.fr

HOCQUELLET Agnès

Laboratoire CBMN - UMR 5248
 ENSTBB - BORDEAUX INP
 BORDEAUX – FRANCE
 +33 5 56 84 69 89
 agnes.hocquellet@bordeaux-inp.fr

HOLBERT Sébastien

INRAe Centre Val-de-Loire
 NOUZILLY – FRANCE
 +33 2 47 42 76 64
 sebastien.holbert@inrae.fr

HUET Lolita

bioMérieux
 CRAPONNE – FRANCE
 lolita.huet@biomerieux.com

HUMBLLOT Christèle

UMR Qualisud
 IRD
 MONTPELLIER – FRANCE
 +33 4 67 41 64 13
 christele.humbloit@ird.fr

IBRANOSYAN Marine

Bactériologie
 Hospices Civils de Lyon
 LYON – FRANCE
 +33 4 72 07 11 11
 marine.ibranosyan@chu-lyon.fr

IMEN Mansouri

Bactériologie
 Laboratoire d'analyses médicales
 TUNIS – TUNISIE
 94882021
 imenmansouri35@gmail.com

JABBOUR Nancy

Équipe 5 BRMF
 Université de Tours - INRAe
 TOURS – FRANCE
 nancy.jabbour@etu.univ-tours.fr

JACQUES Marie-Agnès

IRHS
 INRAe
 BEAUCOUZÉ – FRANCE
 +33 2 41 22 57 07
 marie-agnes.jacques@inrae.fr

JAFFRÈS Emmanuel

Oniris
 NANTES – FRANCE
 +33 2 51 78 55 42
 emmanuel.jaffres@oniris-nantes.fr

JAMET Anne

Inserm - AP-HP
 PARIS – FRANCE
 anne.jamet@inserm.fr

JAN Gwenaél

UMR STLO
 INRAe
 RENNES – FRANCE
 +33 2 23 48 57 41
 gwenael.jan@inrae.fr

JANBON Guilhem

Institut Pasteur
 PARIS – FRANCE
 +33 1 45 68 83 56
 janbon@pasteur.fr

JARRAUD Sophie

Institut des agents infectieux
 Hôpitaux de Lyon
 LYON – FRANCE
 +33 4 72 07 16 38
 sophie.jarraud@univ-lyon1.fr

JAULHAC Benoît

Bactériologie
 Hôpitaux Universitaires de Strasbourg
 PTM
 STRASBOURG – FRANCE
 +33 3 69 55 14 52
 benoit.jaulhac@chru-strasbourg.fr

JEANNOT Katy

Laboratoire de bactériologie
 Hôpital Jean Minjoz
 BESANÇON – FRANCE
 +33 3 70 63 21 69
 katy.jeannot@univ-fcomte.fr

JEHANNE Quentin

CHU
 BORDEAUX – FRANCE
 quentin.jehanne@chu-bordeaux.fr

JÉRÔME Marc

BRM - STBM
 Ifremer - Centre Atlantique
 NANTES – FRANCE
 +33 2 40 37 41 87
 marc.jerome@ifremer.fr

JESSU Amélie

Université de Poitiers - LDAR24
 POITIERS – FRANCE
 amelie.jessu@univ-poitiers.fr

JOLY Renaud

Business Area Microbiology & Diagnostics
 Bruker
 WISSEMBOURG – FRANCE
 +33 3 88 73 68 00
 renaud.joly@bruker.com

JOSSE Jérôme

Équipe Pathogénie des staphylocoques
 CIRI - INSERM U111 - CNRS UMR
 LYON – FRANCE
 +33 4 78 78 57 11
 jerome.josse@univ-lyon1.fr

JOUANGUY Emmanuelle

Génétique humaine des maladies
 infectieuses
 Inserm
 PARIS – FRANCE
 +33 1 42 75 43 18
 emmanuelle.jouanguy@inserm.fr

JOURDAIN Marine

Laboratoire
 Hôpital Nord-Ouest
 GLEIZÉ – FRANCE
 +33 4 74 09 29 71
 marine.jourdain35@gmail.com

JOVÉ Thomas

UMR1092 - Inserm
 RESIFINT - Université de Limoges
 LIMOGES – FRANCE
 +33 5 19 56 42 62
 thomas.jove@unilim.fr

JUMAS-BILAK Estelle

Université de Montpellier
MONTPELLIER – FRANCE
estelle.bilak@umontpellier.fr

KAMBULINA Viktoriia

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
viktoriia.kambulina@biomerieux.com

KAMOIZAN LATOUR Leah

ROCHEFORT – FRANCE
leahkam1996@gmail.com

KARAMANOS Yannis

Laboratoire de la Barrière
Hémato-Encéphalique
Université d'Artois - Faculté des Sciences
LENS – BELGIQUE
+ 33 3 21 79 17 14
ioannis.karamanos@univ-artois.fr

KAY Elisabeth

Centre international de recherche
en infectiologie
Inserm - CNRS/ENS/Université de Lyon
VILLEURBANNE – FRANCE
elisabeth.kay@univ-lyon1.fr

KEMPF Isabelle

Mycoplasmologie Bactériologie
Antibiorésistance
Anses
PLOUFRAGAN – FRANCE
+33 2 96 01 62 81
isabelle.kempf@anses.fr

KEMPF Marie

Laboratoire de Bactériologie
CHU
ANGERS – FRANCE
+33 2 41 35 50 13
makempf@chu-angers.fr

KEROUANTON Annaëlle

Laboratoire
Anses
PLOUFRAGAN – FRANCE
+33 2 96 01 85 31
annaëlle.kerouanton@anses.fr

KHALID Tahreem

FRANCE
tehreem.khalid28@gmail.com

KHOUS Kahina

Miltenyi Biotec
PARIS – FRANCE
+33 1 56 98 16 16
kahina@miltenyi.com

KILLEMANN Uwe

Life Science
B Life Sciences
VILLEPINTE – FRANCE
ukillemann@beckman.com

KOCZERKA Michael

UMR 1282
INRAe
NOUZILLY – FRANCE
+33 2 47 42 78 63
michael.koczerka@inrae.fr

KOOH Pauline

UERALIM
Anses
MAISONS-ALFORT – FRANCE
+33 1 49 77 27 85
pauline.kooh@anses.fr

KOWALEWSKI Julien

Centre de Biologie Structurale
MONTPELLIER – FRANCE
julien.kowalewski@cbs.cnrs.fr

KPONOUGLO Koffigan

STLO
INRAe
RENNES – FRANCE
giovannikponouglo@gmail.com

KREIS Victor

CNRS
ORSAY – FRANCE
+33 1 69 82 62 08
victor.kreis@i2bc.paris-saclay.fr

KREMER Laurent

Institut de Recherche en infectiologie
CNRS - UMR 9004
MONTPELLIER – FRANCE
laurent.kremer@irim.cnrs.fr

KUBINA Sophie

Laboratoire de Parasitologie
EA7510 ESCAPE
Université de Rouen Normandie
ROUEN – FRANCE
+33 2 35 14 85 33
sophie.kubina@laposte.net

LA Kévin

UMR 1137 IAME
Inserm
PARIS – FRANCE
kevin.la@inserm.fr

LA GIOIA Margaux

Nikon
CHAMPIGNY-SUR-MARNE – FRANCE
margaux.la.gioia@nikon.com

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

LAFOND Michael

ISM2-Biosciences UMR7313
AMU - CNRS
MARSEILLE – FRANCE
+33 4 13 94 56 07
mickael.lafond@univ-amu.fr

LAGUNE Marion

U1173
Inserm - UVSQ
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE
marion.lagune@uvsq.fr

LAMBERT Clara

Institut Cochin
Université de Paris
PARIS – FRANCE
+33 1 40 51 64 13
clara.lambert@inserm.fr

LAMBERT Virginie

Biocentric
BANDOL – FRANCE
+33 4 94 29 06 30
virginie.lambert@bruker.com

LAMRET Fabien

UFR Pharmacie - EA 4691 BIOS
Université de Reims Champagne Ardenne
REIMS – FRANCE
+33 3 26 91 81 12
fabien.lamret@univ-reims.fr

LAMY Brigitte

Bactériologie
CHU
NICE – FRANCE
+33 4 92 03 62 14
brigitte_lamy@yahoo.fr

LANDRE Emmanuelle

Paris et périphérie
bioMérieux
FRANCE
emmanuelle.landre@biomerieux.com

LANOTTE Philippe

Bactériologie - Virologie
Hôpital Bretonneau
TOURS – FRANCE
+33 2 47 47 47 96
philippe.lanotte@univ-tours.fr

LAPLACE Jean-Marie

UR ABTE - Équipe MALIM
Université de Caen
CAEN – FRANCE
+33 2 31 56 50 38
jean-marie.laplace@unicaen.fr

LAROUCSI Haifa

UMR1128 - DynAMic
Université de Lorraine - Inra
NANCY – FRANCE
+33 3 72 74 56 81
haifalaroussi@yahoo.com

LARTIGUE Marie-Frédérique

CHRU - Université de Tours
TOURS – FRANCE
+33 2 47 47 81 13
lartigue@med.univ-tours.fr

LAUNAY Odile

Responsable de REIVAC
PARIS – FRANCE
odile.launay@aphp.fr

LAUR Donna

BD
FRANCE
donna.laur@bd.com

LAURENT Frédéric

Institut des agents infectieux
HCL - Université Lyon1
LYON – FRANCE
frederic.laurent@univ-lyon1.fr

LAURENT Frédéric

Shionogi Europe
PUTEAUX – FRANCE
frederic.laurent@shionogi.eu

LAURENTIE Jeanne

Micalis
INRAe
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
jeanne.laurentie@inrae.fr

LAURIAU Francis

FRANCE
Francis.lauriau@oniris-nantes.fr

LAVOLLAY Marie

Laboratoire
Institut Mutualiste Montsouris
PARIS – FRANCE
+33 1 56 61 67 69
marie.lavollay@imm.fr

LÊ Amélie

UMR 1235 TENS
Inserm
NANTES – FRANCE
+33 2 40 41 11 23
amelie.le@etu.univ-nantes.fr

LE BRAS Charles

UMR STLO - Chirurgie orthopédique
INRAe
RENNES – FRANCE
charles.le-bras@inrae.fr

LE BRUN Cécile

Bactériologie
CHRU
TOURS – FRANCE
c.lebrun@chu-tours.fr

LE GALUDEC Joel

LETI/DOPT
CEA
GRENOBLE – FRANCE
+33 4.38.78.40.10
joel.legaludec@cea.fr

LE GOFF Jerome

Virologie, Hôpital Saint-Louis
APHP
PARIS – FRANCE
jerome.le-goff@aphp.fr

LE GRATIET Thibault

Unité HQPAP
Anses Ploufragan-Plouzané-Niort
PLOUFRAGAN – FRANCE
+33 2 96 01 01 66
thibault.legratiet@anses.fr

LE GUEN Ronan

Bactériologie
CHU Henri Mondor
CRÉTEIL – FRANCE
ronan.leguen@aphp.fr

LE GUYADER Soizick

LSEM
Ifremer
NANTES – FRANCE
+33 2 40 37 40 52
soizick.le.guyader@ifremer.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 NEINDRE Killian

Microbiologie de l'environnement
Hôpital Saint-Antoine
PARIS – FRANCE
+33 1 71 97 09 66
killian.le-neindre@parisdescartes.fr

LE QUÉMÉNER Elie

INRAe
NARBONNE – FRANCE
+33 4 68 42 51 87
elie.le-quemener@inrae.fr

LÊ-BURY Pierre

Unité de recherche Yersinia
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 44 38 94 61
pierre.le-bury@pasteur.fr

LEDORMAND Pierre

Université de Caen
CAEN – FRANCE
+33 2 31 56 50 67
pierre.ledormand@unicaen.fr

LEE Bo-Hyung

VIM - IIP
INRAe
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
bohyung.lee@inrae.fr

LEFEVRE Sophie

CNR Escherichia coli
Shigella et Salmonella
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 45 68 83 44
sophie.lefevre@pasteur.fr

LEGRAS Jean-Luc

SPO, CIRM-Levures
INRAe
MONTPELLIER – FRANCE
+33 4 99 61 31 70
jean-luc.legras@inrae.fr

LEGROS Julie

UMR STLO
Institut Agro - Agrocampus-Ouest
RENNES – FRANCE
+33 2 23 48 53 54
julie.legros@agrocampus-ouest.fr

LEGUAY FRIEDRICH Gaelle

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
gaelle.leguayfriedrich@biomerieux.com

LEHOURS Philippe

Inserm U1053
Université de Bordeaux
BORDEAUX – FRANCE
+33 5 57 57 12 86
philippe.lehours@u-bordeaux.fr

LEMAITRE Céline

ELITech Microbio
FRANCE
c.lemaitre@elitechgroup.com

LEMARIGNIER Marion

Unité de recherche Yersinia
Dpt de Microbiologie
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
marion.lemarignier@pasteur.fr

LEMOINE Gilles

Formation conseil en ZAC
Lemoine Gm
MONTARGIS – FRANCE
+33 2 38 85 45 23
gilleslemoine@neuf.fr

LEONELLI Dimitri

CNRS IPBS
TOULOUSE – FRANCE
dimitri.leonelli@ipbs.fr

LEPELLETIER Didier

Hygiène Hospitalière
CHU
NANTES – FRANCE
+33 2 53 48 29 44
Didier.Lepelletier@univ-nantes.fr

LEPREVOST Laura

U1019
Inserm
LILLE – FRANCE
laura.leprevost@cnrs.fr

LEROY Sabine

UMR MEDIS
INRAe - UCA
SAINT-GÈNES-CHAMPANELLE – FRANCE
+33 4 73 62 45 95
sabine.leroy@inrae.fr

LESCAT Mathilde

HUPSSD
Hôpital Avicenne
PARIS – FRANCE
mathilde.lescat@aphp.fr

LESEIGNEUR Clarisse

Unité de recherche Yersinia
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 44 38 94 61
clarisse.leseigneur@pasteur.fr

LETELLIER Celeste

Fluidigm
LES ULIS – FRANCE
+33 1 42 17 61 84
celeste.letellier@fluidigm.com

LÉVÊQUE Nicolas

Laboratoire de Virologie
Centre Hospitalier Universitaire
POITIERS – FRANCE
+33 5 49 44 38 17
nicolas.leveque@chu-poitiers.fr

LIBANTE Virginie

UMR 1128 DYNAMIC
Université de Lorraine
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
+33 3 72 74 51 49
virginie.libante@univ-lorraine.fr

LIGAT Gaëtan

Institut de Recherche sur les Maladies
Virales
UMR Inserm 1110
STRASBOURG – FRANCE
gligat@unistra.fr

LINA Gérard

Institut des Agents Infectieux
LYON – FRANCE
gerard.lina@univ-lyon1.fr

LISON Christelle

CANADA
christelle.lison@usherbrooke.ca

LOISON Pauline

INRS
VANDŒUVRE-LÈS-NANCY – FRANCE
+33 3 83 50 86 32
pauline.loison@inrs.fr

LOMMA Mariella

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
mariella.lomma@gmail.com

LONG Kérya

Menarini
RUNGIS – FRANCE
kerya.long@pharmafield.fr

LORET Suzanne

SIPPT
UNamur - SerP (Biosécurité)
NAMUR – BELGIQUE
+32 8 17 24 46 7
suzanne.loret@unamur.be

LORiot Cécilia

Bertin Technologies
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE
+33 1 39 30 62 31
cecilia.loriot@bertin.fr

LOToux Aurélie

Université Paris-Saclay
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
aurelie.lotoux@gmail.com

LOTTIN Baptiste

Inserm
NANTES – FRANCE
baptiste.lottin@univ-nantes.fr

LOUINEAU Thomas

Gepea
LA ROCHE-SUR-YON – FRANCE
thomas.louineau@univ-nantes.fr

LOUSSOUARN Aurélie

UMR1232 CRCINA UMR1235 TENS
Inserm
NANTES – FRANCE
+33 2 40 41 11 23
aurelie.loussouarn@etu.univ-nantes.fr

LUPO Valérian

Eukaryotic Phylogenomics
Université de Liège
LIÈGE 1 – BELGIQUE
+32 4 36 63 85 3
valerian.lupo@doct.uliege.be

LURON Isabelle

Institut Numecan - Équipe EAT
INRAe
SAINT-GILLES – FRANCE
+33 2 23 48 53 62
isabelle.luron@inrae.fr

MACÉ Sabrina

Laboratoire EM3B
Ifremer - Centre Atlantique
NANTES – FRANCE
+33 2 40 37 41 73
sabrina.mace@ifremer.fr

MACHOURI Mérick

CEA
FONTENAY-AUX-ROSES – FRANCE
merick.machouri@cea.fr

MADI MOUSSA Désiré

UMRT - BioEcoAgro1158
Polytech Lille
VILLENEUVE-D'ASCQ – FRANCE
desire.madimoussa.etu@univ-lille.fr

MAILLET Aurélien

Mars Global Services Laboratories
AIMARGUES – FRANCE
aurelien.maillat@gmail.com

MAINARDI Jean-Luc

Hôpital Européen Georges Pompidou
PARIS – FRANCE
jean-luc.mainardi@crc.jussieu.fr

MALERGUE Fabrice

Life Sciences
Beckman Coulter Life Sciences
Immunotech
MARSEILLE – FRANCE
fmalergue@beckman.com

MAMJOURD Amal

Molécules de Communication et Adaptation
des micro-organismes
Muséum national d'Histoire naturelle
PARIS – FRANCE
amal.mamjoud@edu.mnhn.fr

MANCEAU Louise

Laboratoire de Virologie
CHU
NANTES – FRANCE
+33 2 40 08 41 05
louise.manceau@chu-nantes.fr

MANEewan Nattar

FRANCE
nattar.maneewan@gmail.com

MANUEL Nathalie

Shionogi Europe
PUTEAUX – FRANCE
nathalie.manuel@shionogi.eu

MARCHAND Sarah

Laboratoire de Virologie
CHU
NANTES – FRANCE
+33 2 40 08 41 05
sarah.marchand@chu-nantes.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

MARGOTTIN-GOGUET Florence

Institut Cochin - Inserm
PARIS – FRANCE
+33 1 40 51 66 16
florence.margottin-goguet@inserm.fr

MARIANNEAU Philippe

UBIVE
Institut Pasteur
LYON – FRANCE
+33 4 37 28 24 52
philippe.marianneau@anses.fr

MARION Estelle

U1232
Inserm - DR Grand Ouest
ANGERS – FRANCE
+33 2 44 68 83 13
estelle.marion@inserm.fr

MAROIS-CRÉHAN Corinne

UMBA
Anses
PLOUFRAGAN – FRANCE
corinne.marois@anses.fr

MARRAKCHI Hedia

IPBS CNRS UMR5089
TOULOUSE – FRANCE
+33 5 61 17 55 36
hedia.marrakchi@ipbs.fr

MARRO Florian

In vitro Biology
Evotec
LYON – FRANCE
+33 4 87 91 35 98
florian.marro@evotec.com

MARSAUD Nathalie

Plateforme GeT-Biopuces
TOULOUSE – FRANCE
+33 5 61 55 96 87
nmarsaud@insa-toulouse.fr

MARTIN-GALLAUSIAUX Camille

Micalis
Université du Luxembourg
ESCH-SUR-ALZETTE – LUXEMBOURG
cmartingallausiaux@gmail.com

MARTIN-LATIL Sandra

Anses
MAISONS-ALFORT – FRANCE
+33 1 49 77 28 24
sandra.martin-latil@anses.fr

MARTINEZ Olivier

Montpellier et périphérie
bioMérieux
FRANCE
olivier.martinez@biomerieux.com

MARTON Timea B.

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 40 61 31 26
timea.marton@pasteur.fr

MAS-FIOL Guillem

Unité de recherche Yersinia
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 86 46 83 35
guillem.mas-fiol@pasteur.fr

MASANTE Cyril

Shionogi Europe
PUTEAUX – FRANCE
cyril.masante@shionogi.eu

MATHEY Raphaël

DRF - IRIG -DIESE - SyMMES - CREAB
CEA
GRENOBLE – FRANCE
+33 4 37 78 91 93
raphael.mathey@cea.fr

MAZIANI Pierre-Xavier

Biofactory
CPE Lyon
VILLEURBANNE – FRANCE
+33 4 72 43 10 29
pierre-xavier.maziani@cpe.fr

MAZIÈRE Camille

IPREM - LIENS
LA ROCHELLE – FRANCE
+33 5 16 49 67 13
camille.maziere@univ-pau.fr

MEGRAUD Francis

Inserm U1053
Université de Bordeaux
BORDEAUX – FRANCE
francis.megraud@chu-bordeaux.fr

MENAHM David

BD
FRANCE
david.menahem@bd.com

MENEGHEL Clarisse

Smaltis
BESANÇON – FRANCE
clarisse.meneghel@smaltis.fr

MERCOURT Eric

i2a
FRANCE
eric.mercourt@i2a.info

MERRIEN Mickaël

ELITech Microbio
FRANCE
m.merrien@elitechgroup.com

MEYER Sylvain

Laboratoire de Bactériologie-Virologie-
Hygiène
CHU
LIMOGES – FRANCE
+33 5 55 05 61 66
sylvain.meyer@unilim.fr

MICHON Christophe

R&D
CHROMagar
PARIS – FRANCE
+33 1 45 48 25 26
chromagar@chromagar.com

MIDELET-BOURDIN Graziella

Anses
BOULOGNE-SUR-MER – FRANCE
+33 3 21 99 25 00
graziella.midelet@anses.fr

MIKONIO Catherine

Qiagen
COURTABOEUF – FRANCE
+33 1 60 92 09 20
catherine.mikonio@qiagen.com

MINVIELLE Brice

Innovation
KERSIA
DINARD – FRANCE
brice.minvielle@kersia-group.com

MIOSSEC Christine

R&D
Vetoquinol
PARIS – FRANCE
+33 1 55 33 21 62
christine.miossec@vetoquinol.com

MISERY Boris

UR ABTE - Équipe MALIM
Université de Caen
CAEN – FRANCE
+33 4 75 34 99 06
boris.misery@gmail.com

MISGUICH Fabienne

Inserm U 1173
UVSQ
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE
+33 1 70 42 93 66
fabienne.misguich@uvsq.fr

MISTOU Michel-Yves

MalAGE
INRAE
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
+33 1 49 77 13 11
michel-yves.mistou@inrae.fr

MOALIC Pierre-Yves

Labofarm
LOUDÉAC – FRANCE
+33 2 96 28 63 43
biologiste@labofarm.com

MOKEMIABEKA Saturnin Nicaise

Faculté des Sciences et Technique
Université Marien Ngouabi
BRAZZAVILLE – RÉPUBLIQUE DU CONGO
+24 2 06 66 23 05 0
dackeur@gmail.com

MONDANGE Sébastien

Memmert
FRANCE
smondange@memmert.com

MONTIEL Dolores

LD31 EVA
LAUNAGUET – FRANCE
+33 5 62 10 49 23
dolores.montiel@cd31.fr

MORINIÈRE Jeanne

Programme microbiote
Bioaster
LYON – FRANCE
jeanne.moriniere@bioaster.org

MOUMENI Lyes

Université d'Angers
ANGERS – FRANCE
+33 7 82 61 11 34
lyesm@live.com

MOURER Thierry

Département de mycologie
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 45 68 80 00
thierry.mourer@pasteur.fr

MOYEN Nanikaly

MARSEILLE 06 – FRANCE
moyenmimi@gmail.com

MOYEN Rachel

Université Marien Ngouabi
Faculté des Sciences et Techniques
BRAZZAVILLE – RÉPUBLIQUE DU CONGO
+242 06 667 13 63
rmoyen@yahoo.fr

MULLER Cédric

Smaltis
BESANÇON – FRANCE
+33 3 81 84 01 42
cedric.muller@smaltis.fr

MULLER Emilie

UMR 7156
CNRS
NIEDERMODERN – FRANCE
+33 3 68 85 19 73
emilie.muller@unistra.fr

MULOT Matthieu

Byg4lab®
L'UNION – FRANCE
+33 5 34 25 07 10
matthieu.mulot@byg4lab.com

MUNIR Muhammad Tanveer

Ecole Supérieure du Bois
NANTES – FRANCE
+33 2 40 18 12 12
tanveer.munir@ecoledubois.fr

MUTTELET Florence

Direction commerciale et marketing
Biocentric
BANDOL – FRANCE
+33 4 94 29 06 30
florence.muttelet@bruker.com

N'GUYEN Thi To

Menarini
RUNGIS – FRANCE
+33 1 45 60 64 32
thi-to.nguyen@pharmafield.fr

NADERI Kambiz

MP Biomedicals
ILLKIRCH – FRANCE
kambiz.naderi@mpbio.com

NADHUMA Youssef Abdou Bedja

UMR 5235
Université de Montpellier
MONTPELLIER – FRANCE
+33 4 67 14 47 26
nadhuma.youssef@umontpellier.fr

NAUDIN Stéphane

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
stephane.naudin@biomerieux.com

NDIONE Méry

Institut du littoral environnement et sociétés
LIENSs
LA ROCHELLE – FRANCE
+33 5 16 49 67 13
mery.ndione1@univ-lr.fr

NEHLICH Mélanie

Biological collections & Microbiology
Bioaster
PARIS – FRANCE
+33 1 44 38 95 46
melanie.nehlich@bioaster.org

NEUNLIST Michel

UMR 1235 TENS
Inserm
NANTES – FRANCE
+33 2 40 41 11 23
michel.neunlist@univ-nantes.fr

NEYROLLES Olivier

CNRS
TOULOUSE – FRANCE
+33 5 61 17 54 75
olivier.neyrolles@ipbs.fr

NGARI Chrisse

Microbiologie
Laboratoires Clarins
PONTOISE – FRANCE
+33 1 34 35 15 15
chrisse.ngari@clarins.com

NGO Vuong Quoc Hoang

INRAe
ANTONY – FRANCE
hoang.ngo@inrae.fr

NGOM Serigne Inssa

UMR 1319 Micalis
INRAe
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
+33 1 34 65 24 93
serigne-inssa.ngom@inrae.fr

NOËL Alain

Cepheid Europe
FRANCE
alain.noel@cepheid.com

NOEL Laurent

UMR 2594/441
CNRS - INRA
CASTANET-TOLOSAN – FRANCE
+33 5 61 28 53 52
laurent.noel@inrae.fr

NOEL Lucie

TOURS – FRANCE
lucie.noel09@gmail.com

NOGUER Marie

Ingénierie et couplage de procédés
LBE INRAE
NARBONNE – FRANCE
+33 7 50 97 96 71
marie.noguer@inrae.fr

NOUSSAIR Latifa

Microbiologie
APHP
GARCHES – FRANCE
+33 1 47 10 79 00
latifa.noussair@aphp.fr

NOVELLI Marine

UMR MD1 - U1261 - MCT
Inserm - IRBA
MARSEILLE – FRANCE
+33 4 91 32 45 87
marine.novelli@etu.univ-amu.fr

OCCHIALINI Alessandra

IRIM
Université de Montpellier
MONTPELLIER – FRANCE
+33 4 34 35 94 51
alessandra.occhialini@irim.cnrs.fr

OLLIVIER Joanna

LSEM
Ifremer
NANTES – FRANCE
+33 2 40 37 41 47
joanna.ollivier@ifremer.fr

ONTSIRA NGOYI Esther Nina

Université Marien NGOUABI de Brazzaville
BRAZZAVILLE – RÉPUBLIQUE DU CONGO
esther_muller2003@yahoo.fr

ORELLE Arnaud

Direction Scientifique
Lab'Science
NAZELLES-NÉGRON – FRANCE
+33 2 47 23 41 01
a.orelle@lab-science.eu

ORIOU Charlotte

Inserm U1230
 Université Rennes 1
 RENNES – FRANCE
 oriol.charlotte@hotmail.fr

OSTYN Emeline

Inserm U1230
 Université de Rennes 1
 RENNES – FRANCE
 emeline.ostyn@univ-rennes1.fr

OSWALD Éric

Bactériologie - Hygiène
 Inserm
 TOULOUSE – FRANCE
 +33 5 67 69 04 17
 eric.oswald@inserm.fr

OUDDAK Azzédine

bioMérieux
 FRANCE
 azzedine.ouddak@biomerieux.com

OUSSALAH Anissa

Bruker France
 CHAMPS-SUR-MARNE – FRANCE
 +33 3 88 73 68 00
 anissa.oussalah@bruker.com

PAILHORIES Hélène

Maine et Loire - Microbiologie
 Laboratoire de Bactériologie - CHU
 ANGERS – FRANCE
 +33 2 41 35 50 13
 helene.pailhories@chu-angers.fr

PALUCH Maxime

Laboratoire de microbiologie
 Centre Hospitalier
 VALENCIENNES – FRANCE
 paluch-m@ch-valenciennes.fr

PANNIER Melissa

Recherche Risques Microbiens (U2RM)
 Université de Caen Normandie
 CAEN – FRANCE
 +33 2 31 06 33 2
 melissa.pannier@hotmail.fr

PAOLETTI Mathieu

BIOFEEL
 LIENS
 LA ROCHELLE – FRANCE
 +33 5 86 56 22 11
 mathieu.paoletti@univ-lr.fr

PAPON Nicolas

Université d'Angers - CHU
 ANGERS – FRANCE
 +33 2 44 68 83 63
 nicolas.papon@univ-angers.fr

PAQUIN Paul

DTBS/LSIV
 CEA - LETI
 GRENOBLE – FRANCE
 +33 4 38 78 92 18
 paul.paquin@cea.fr

PARADA RODRIGUES Carla

Santé Globale
 Unité Biodiversité Épidémiologie
 Institut Pasteur
 PARIS – FRANCE
 +33 1 86 46 78 89
 carla.parada-rodrigues@pasteur.fr

PARISOT Anne-Lyne

New England Biolabs France
 ÉVRY – FRANCE
 +33 1 69 90 87 15
 parisot@neb.com

PARNAUDEAU Sylvain

Ifremer
 NANTES – FRANCE
 +33 2 40 37 41 07
 sylvain.parnaudeau@ifremer.fr

PASSERINI Delphine

RBE - BRM - LEMMB
 Ifremer
 NANTES – FRANCE
 +33 2 40 37 40 63
 delphine.passerini@ifremer.fr

PATINIER Daniela

Technique
 INFORS SARL
 TOULOUSE – FRANCE
 daniela.patinier@gmail.com

PAUL Etienne

INSA
 TOULOUSE – FRANCE
 +33 5 61 55 97 72
 paul@insa-toulouse.fr

PAVIO Nicole

UMR 1161 Virologie
 Anses
 MAISONS-ALFORT – FRANCE
 +33 1 43 96 72 09
 nicole.pavio@anses.fr

PAVLOU Antrea

INRIA
 MONTBONNOT-SAINT-MARTIN – FRANCE
 antrea.pavlou@inria.fr

PEASE Camille

bioMérieux
 FRANCE
 camille.pease@biomerieux.com

PECORARI Frédéric

Inserm - DR Grand Ouest
 NANTES – FRANCE
 +33 2 28 08 02 54
 frederic.pecorari@univ-nantes.fr

PEREZ-RAMOS Adrian

UMRT - BioEcoAgro1158
 Polytech Lille
 VILLENEUVE-D'ASCQ – FRANCE
 adrian.perez-ramos@univ-lille.fr

PERON Florian

Equipe PHE3ID
 CIRI - INSERM U1111
 LYON – FRANCE
 florian.peron@biomerieux.com

PERROTTE Delphine

Virologie Biologie moléculaire
 Laboratoire Labeo
 SAINT-LO – FRANCE
 +33 2 33 82 49 48
 delphine.perrotte@laboratoire-labeo.fr

PETERSEN Tania

UMR 1137 IAME
 Inserm
 PARIS – FRANCE
 t-petersen@hotmail.fr

PETONNET Claire

bioMérieux
 CRAPONNE – FRANCE
 +33 4 78 87 20 00
 claire.petonnet@biomerieux.com

PETRY Sandrine

Laboratoire de Santé Animale
 Site de Normandie
 Anses Service facturier
 GOUSTRANVILLE – FRANCE
 +33 2 31 79 22 76
 sandrine.petry@anses.fr

PEYRES David

Luminex
 PARIS – FRANCE
 dpeyres@luminexcorp.com

PIATTELLI Emma

I2BC
Institut de Biologie Intégrative de la Cellule
ORSAY – FRANCE
emma.piattelli@i2bc.paris-saclay.fr

PICARD Emmanuel

Pheliqs
CEA
GRENOBLE – FRANCE
+33 4 38 78 90 97
emmanuel.picard@cea.fr

PICARDEAU Mathieu

Unité de biologie des Spirochètes
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 45 68 83 68
mathieu.picardeau@pasteur.fr

PICHON Maxime

Laboratoire de bactériologie
Université de Poitiers
POITIERS – FRANCE
+33 5 49 44 41 43
maxime.pichon@chu-poitiers.fr

PICQ Kévin

Équipe Horigene - PI : Xavier Charpentier
CIRI
LYON – FRANCE
kevin.picq@univ-lyon1.fr

PILET Marie-France

UMR 1014 SECALIM
Oniris
NANTES – FRANCE
+33 2 40 68 78 11
marie-france.pilet@oniris-nantes.fr

PILLET Sylvie

Laboratoire des agents infectieux
et d'hygiène
CHU
SAINT-ÉTIENNE – FRANCE
+33 4 77 82 81 22
sylvie.pillet@chu-st-etienne.fr

PILLON Margaux

Équipe Pathogénèse des légionelles
CIRI
VILLEURBANNE – FRANCE
+33 4 72 44 81 05
margaux.pillon@univ-lyon1.fr

PINEL-MARIE Marie-Laure

Inserm UMR U1230 BRM
Université de Rennes 1
RENNES – FRANCE
+33 2 23 23 48 50
marie-laure.pinel@univ-rennes1.fr

PIQUET Jean Côme

LSEM
Ifremer
NANTES – FRANCE
+33 2 40 37 40 87
jean.come.piquet@ifremer.fr

PIROT Delphine

Biotech Santé Bretagne
RENNES – FRANCE
+33 2 23 23 45 81
delphine@biotech-sante-bretagne.fr

PISSAVIN Christine

Génie Biologie
IUT Université Rennes 1
SAINT-BRIEUC – FRANCE
+33 2 96 60 96 36
christine.pissavin@univ-rennes1.fr

PIVARD Mariane

Pathogénie des Staphylocoques
Centre International de Recherche
en Infectiologie
LYON – FRANCE
+33 4 78 77 86 57
mariane.pivard@univ-lyon1.fr

PIZARRO-CERDA Javier

Unité de recherche Yersinia
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 45 68 83 26
javier.pizarro-cerda@pasteur.fr

PLAZY Caroline

CHU de Grenoble
GRENOBLE – FRANCE
cplazy@chu-grenoble.fr

PLENIERE Charlène

IRIG - SYMMES - CREAB
CNRS
GRENOBLE – FRANCE
charlene.pleniere@cea.fr

PLESIAT Patrick

Bactériologie
CHRU Jean Minjoz
BESANÇON – FRANCE
patrick.plesiat@univ-fcomte.fr

PLOURDE-OWOBI Lucile

Global Analytical science
Sanofi Pasteur
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
lucile.plourde@sanofi.com

PLOY Marie-Cécile

Laboratoire de Bactériologie-Virologie-
Hygiène
CHU Dupuytren
LIMOGES – FRANCE
+33 5 55 05 61 66
marie-cecile.ploy@unilim.fr

PONCET David

Research & External Innovation
Sanofi Pasteur
MARCY-L'ÉTOILE – FRANCE
+33 4 37 65 61 59
David.Poncet@sanofi.com

PONDERAND Léa

Bactériologie-Virologie
CHU Grenoble Alpes
LA TRONCHE – FRANCE
+33 4 76 76 63 26
lponderand@chu-grenoble.fr

PONS Marine C.

Infectiologie et Santé publique
INRAe
NOUZILLY – FRANCE
+33 2 47 42 75 90
marine-c.pons@inrae.fr

PORTIER Perrine

IRHS CIRM-CFBP
INRAe
BEAUCOUZÉ – FRANCE
+33 2 41 22 57 19
perrine.portier@inrae.fr

POUEDRAS Pascal

Microbiologie
CHBA Vannes
VANNES – FRANCE
+33 2 97 01 44 40
pascal.pouedras@ch-bretagne-atlantique.fr

POULAIN Christophe

Microbiologie
Laboratoire de L'Environnement
et de l'Alime
LA ROCHE-SUR-YON – FRANCE
+33 2 28 85 79 79
christophe.poulain@vendee.fr

POULET-BENED Jeremy

Cepheid Europe
FRANCE
jeremy.poulet-bened@cepheid.com

POUMEYROL Thierry

Direction Commerciale et Marketing
Biocentric
BANDOL – FRANCE
+33 4 94 29 06 30
thierry.poumeyrol@bruker.com

PRÉVOST Hervé

UMR 1014 Secalim
Oniris
NANTES – FRANCE
herve.prevast@oniris-nantes.fr

QUAGLIARO Pauline

Hôpital Avicenne
BOBIGNY – FRANCE
pauline.quagliari@aphp.fr

QUENTIN Baptiste

Unité PROSE
INRAe
ANTONY – FRANCE
baptiste.quentin@inrae.fr

QUEUCHE Frédéric

Laboratoire
Centre Hospitalier
SAINT-DIÉ-DES-VOSGES – FRANCE
+33 3 29 52 68 69
frederic.queuche@sante-lorraine.fr

RAMDANI Ghania

Menarini
RUNGIS – FRANCE
+33 1 45 60 77 20
ghania.ramdani@pharmafield.fr

RAVENEL Kévin

GEIHP
Université d'Angers
ANGERS – FRANCE
kevin.ravenel2@gmail.com

RAZAK Abdoul

Lab'Science
FRANCE
a.razak@lab-science.eu

REFFUVEILLE Fany

UFR Pharmacie - EA 4691 BIOS
Université Reims Champagne Ardenne
REIMS – FRANCE
+33 3 26 91 81 12
fany.reffuveille@univ-reims.fr

RENODON-CORNIÈRE Axelle

CRCINA - Inserm - CNRS
NANTES – FRANCE
+33 2 53 48 47 81
axelle.renodon-corniere@univ-nantes.fr

REVOL-TISSOT Johan

UMR MD1 - U-1261 - MCT
Inserm - IRBA
MARSEILLE – FRANCE
+33 4 91 32 45 87
revoltissot.j@gmail.com

REZÉ Sandrine

UMR 1014 Secalim
INRA - Oniris
NANTES – FRANCE
+33 2 40 68 77 49
sandrine.reze@oniris-nantes.fr

RIEU Aurélie

UMR PAM
Université de Bourgogne-Franche-Comté
DIJON – FRANCE
+33 3 80 39 62 62
aurelie.rieu-guigon@u-bourgogne.fr

RIFA Etienne

TBI - INSA
TOULOUSE – FRANCE
etienne.rifa@insa-toulouse.fr

RIOU Mickaël

UE-1277 Plateforme d'infectiologie expérimentale
INRAe
NOUZILLY – FRANCE
+33 2 47 42 79 45
mickael.riou@inrae.fr

RIVOAL Katell

HQPAP
French Agency for Food - Environmental
and Occupational Health & Safety (Anses)
PLOUFRAGAN – FRANCE
+33 2 96 01 62 87
katell.rivoal@anses.fr

RIZZO Franca

Anses - LRFNS
MALZÉVILLE – FRANCE
+33 3 83 29 89 50
franca.rizzo@anses.fr

ROBERT David

LH1 - Plateau technique Microbiologie
EXALAB
LE HAILLAN – FRANCE
+33 5 56 46 50 59
d.robert@exalab.fr

ROBERT Lydia

MICALIS
INRAe
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
+33 1 34 65 25 19
lydia.robert@inrae.fr

ROBLIN Clarisse

Aix Marseille Université
MARSEILLE – FRANCE
clarisse.roblin@univ-amu.fr

ROCHAT Tatiana

Virologie et immunologie moléculaires
INRAe
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
+33 1 34 65 23 24
tatiana.rochat@inrae.fr

ROCQ Sophie

Ifremer
NANTES – FRANCE
+33 2 40 37 43 64
sophie.rocq@ifremer.fr

ROLANDO Monica

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 40 61 38 31
mrolando@pasteur.fr

ROSSO Marie-Noëlle

Biodiversité et biotechnologie fongiques
INRAe SBFC
MARSEILLE – FRANCE
+33 4 91 82 86 07
marie-noelle.rosso@inrae.fr

ROUILLON Astrid

Université Rennes 1
RENNES – FRANCE
+33 2 23 23 43 94
astrid.rouillon@univ-rennes1.fr

ROUX Anne-Emmanuelle

ISP - Bactéries et risque materno-foetal
Université de Tours
TOURS – FRANCE
+33 2 47 36 61 94
anne-emmanuelle.roux@etu.univ-tours.fr

ROUX Emeline

MCF
 Université de Lorraine
 RENNES – FRANCE
 +33 2 99 84 22 77
 emeline.roux@univ-lorraine.fr

ROUXEL Meg

Génie Biologie
 IUT Université Rennes 1
 SAINT-BRIEUC – FRANCE
 +33 2 96 60 96 06
 meg.rouxel@univ-rennes1.fr

ROUXEL Michel

BeckmanCoulter
 VILLEPINTE – FRANCE
 +33 1 49 90 90 00
 mrouxel@beckman.com

RUL Françoise

UMR Micalis AgroParisTech
 INRAe
 JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
 +33 1 34 65 21 48
 francoise.rul@inrae.fr

SADDARI Abderrazak

Laboratoire central
 Faculté de Médecine et de Pharmacie
 Université Mohammed I
 OUJDA – MAROC
 saddariabderrazak@gmail.com

SADEK Ali

UMR T bioEcoAgro
 VILLENEUVE D'ASCQ – FRANCE
 asadek@lallemand.com

SADO Pierre-Etienne

UMR 1235 TENS
 IMAD Inserm
 NANTES – FRANCE
 +33 2 40 41 11 25
 pierre-etienne.sado@univ-nantes.fr

SAINT MARTIN Cédric

INRAe
 JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
 cedric.saint-martin@inrae.fr

SAINT-FELIX Jacques

bioMérieux
 CRAPONNE – FRANCE
 jacques.saint-felix@biomerieux.com

SALGUEIRO Christophe

Labo and Co
 MAROLLES-EN-BRIE – FRANCE
 +33 1 45 98 67 61
 christophe.salgueiro@laboandco.com

SAMBA LOUAKA Ascel

Laboratoire écologie et biologie des interactions
 Université de Poitiers
 POITIERS – FRANCE
 +33 5 49 45 40 13
 ascel.samba@univ-poitiers.fr

SANTA MARIA Camille

Agilent Technologies
 SAN DIEGO – ÉTATS-UNIS
 camille.santa-maria@agilent.com

SARNIGUET Alain

UMR 1345 IRHS
 INRAe
 BEAUCOUZÉ – FRANCE
 +33 2 41 22 56 82
 alain.sarniguat@inrae.fr

SAUGUES Audrey

CIRI
 VILLETTE-D'ANTHON – FRANCE
 audrey.saugues@etu.univ-lyon1.fr

SCAHEFFER Julien

LSEM
 Ifremer
 NANTES – FRANCE
 +33 2 40 37 42 93
 julien.schaeffer@ifremer.fr

SCAHEFFER Julien

Laboratoire de Microbiologie-LNR
 Ifremer
 NANTES – FRANCE
 +33 2 40 37 40 27
 julien.schaeffer@ifremer.fr

SCHALK Isabelle

UMR 7242
 Biotechnologie signalisation cellulaire
 Université de Strasbourg
 ILLKIRCH – FRANCE
 schalk@unistra.fr

SCHIAVONE Patrick

LTM
 CNRS
 GRENOBLE – FRANCE
 +33 4 38 78 43 64
 patrick.schiavone@univ-grenoble-alpes.fr

SCHMITT Saïd

Biocentric
 BANDOL – FRANCE
 +33 4 94 29 06 30
 said.schmitt@bruker.com

SCHOULER Catherine

INRAe Centre Val-de-Loire
 NOUZILLY – FRANCE
 +33 2 47 42 72 96
 catherine.schouler@inrae.fr

SCHRAMM Frédéric

CHU
 STRASBOURG – FRANCE
 +33 3 69 55 14 61
 frederic.schramm@chru-strasbourg.fr

SEBBANE Florent

Inserm
 LILLE – FRANCE
 +33 3 20 87 11 93
 florent.sebbane@ibl.cnrs.fr

SERFASS Arnaud

i2a
 FRANCE
 isabelle.jean@i2a.info

SERIS Fabien

BD
 FRANCE
 fabien.seris@bd.com

SEZNEC Erwan

Specific diagnostics
 CALIFORNIA – ÉTATS-UNIS
 07 86 73 33 64
 eseznec@specificdx.com

SHAH Forum

1404 MAIAGE
 INRAe
 JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
 forum.shah@inrae.fr

SIAMI Nicolas

Antlanpole - Biothérapies
 NANTES – FRANCE
 siami@atlanpole.fr

SIDLAREWICZ Nicolas

Menarini France
 RUNGIS – FRANCE
 +33 1 45 60 77 20
 mbiola@menarini.fr

SILVA ROSA DA LUZ Brenda
 Institut Agro - UMR STLO - INRAe
 RENNES – FRANCE
 +55 3 19 91 06 90 74
 brenda.silva-rosa-da-luz@inrae.fr

SIMONEAU Philippe
 QUASAV
 Université d'Angers
 ANGERS – FRANCE
 simoneau@univ-angers.fr

SOLEANSKY Robin
 Mast Diagnostic
 AMIENS – FRANCE
 +33 3 22 80 80 67
 rsoleansky@mast-diagnostic.fr

SOLIS Morgane
 Laboratoire de virologie
 Hôpitaux Universitaires de Strasbourg
 STRASBOURG – FRANCE
 +33 3 69 55 10 87
 morgane.solis@chru-strasbourg.fr

SOUTOURINA Olga
 ARNCLO - Microbiologie
 Université Paris-Saclay - I2BC
 ORSAY – FRANCE
 +33 1 69 82 62 06
 olga.soutourina@universite-paris-saclay.fr

STAHL Valérie
 LABO MICROBIO
 Aerial
 ILLKIRCH – FRANCE
 +33 3 88 19 15 15
 v.stahl@aerial-crt.com

STERLIN Delphine
 AP-HP - CUP Hôpital Cochin
 PARIS – FRANCE
 +33 1 42 17 75 18
 delphine.sterlin@aphp.fr

STRUBBIA Sofia
 FRANCE
 Sofia.strubbia@oniris-nantes.fr

SUSSFELD Duncan
 UMR 7205
 Sorbonne Université
 PARIS – FRANCE
 duncan.sussfeld@gmail.com

TAKVORIAN Alain
 Qiagen
 COURTABOEUF – FRANCE
 +33 1 60 92 09 20
 alain.takvorian@qiagen.com

TALON Régine
 MEDIS
 INRAe
 SAINT-GÈNES-CHAMPANELLE – FRANCE
 +33 4 73 62 41 70
 regine.talon@inrae.fr

TANG Min
 Inserm - DRTL5
 TOULOUSE – FRANCE
 min.tanya.tang@gmail.com

TAREB Raouf
 UMR 1014 SECALIM
 Oniris
 NANTES – FRANCE
 +33 2 40 68 40 58
 raouf.tareb@oniris-nantes.fr

TAZI Asmaa
 AP-HP - CUP Hôpital Cochin
 PARIS – FRANCE
 +33 1 58 41 27 88
 asmaa.tazi@aphp.fr

TELHIG Soufiane
 Molécules de Communication et Adaptation
 des Micro
 Muséum national d'Histoire naturelle
 PARIS – FRANCE
 soufiane.telhig.1@ulaval.ca

TENAILLON Olivier
 IAME - UMR 1137 - Université de Paris
 Inserm
 PARIS – FRANCE
 +33 1 57 27 75 04
 olivier.tenaillon@inserm.fr

TESSON Samuel
 bioMérieux
 CRAPONNE – FRANCE
 samuel.tesson@biomerieux.com

TEULIÈRE Jérôme
 Institut de Systématique
 Evolution, Biodiversité
 ISYEB - Sorbonne Université
 PARIS – FRANCE
 +33 1 44 27 34 70
 jerome.teuliere@mnhn.fr

TEYSSIER Corinne
 UMR Qualisud
 Université de Montpellier
 MONTPELLIER – FRANCE
 +33 4 67 61 59 05
 corinne.teyssier@umontpellier.fr

THERY Thibaut
 AgroSup Dijon Université Bourgogne
 Franche-Comté
 DIJON – FRANCE
 thibaut.thery@agrosupdijon.fr

THIERRY Anne
 UMR STLO
 INRAe
 RENNES – FRANCE
 +33 2 23 48 53 37
 anne.thierry@inrae.fr

THINEY Pierre-Louis
 bioMérieux
 CRAPONNE – FRANCE
 pierre-louis.thiney@biomerieux.com

THIROUX Audrey
 Laboratoire EBI
 Université de Poitiers - UMR 7267
 POITIERS – FRANCE
 +33 5 49 45 40 22
 audrey.thiroux@univ-poitiers.fr

THOMAS Vincent
 Programme Microbiotes
 Bioaster
 PARIS – FRANCE
 vincent.thomas@bioaster.org

THOMIN Jean
 Microbiologie
 CH
 LE MANS – FRANCE
 jean.t@hotmail.fr

THORAVAL Léa
 Université de Reims Champagne Ardenne
 REIMS – FRANCE
 +33 3 26 91 81 12
 lea.thoraval@univ-reims.fr

THOUAND Gerald
 IUT UMR CNRS 6144
 Université de Nantes
 LA ROCHE-SUR-YON – FRANCE
 gerald.thouand@univ-nantes.fr

TILLECOVINDIN Brigitte

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
brigitte.tillecovindin@biomerieux.com

TOPALIS Dimitrios

Rega Institute for Medical Research
LEUVEN – BELGIQUE
+32 1 63 21 53 8
dimitrios.topalis@rega.kuleuven.be

TORMO Helene

Équipe agroalimentaire
École d'Ingenieur de Purpan
TOULOUSE – FRANCE
helene.tormo@purpan.fr

TORTAI Pierre-Yves

Shionogi Europe
PUTEAUX – FRANCE
pierre-yves.tortai@shionogi.eu

TOURÉ Hamadoun

U1173 - Infection & inflammation
Inserm - UVSQ
MONTIGNY-LE-BRETONNEUX – FRANCE
hamadoun.toure@uvsq.fr

TREILLES Michael

R&D
Qualyse
CHAMPDENIERS – FRANCE
+33 5 49 25 31 10
michael.treilles@qualyse.fr

TRIGUEROS Sylvain

Anses Service facturier
BOULOGNE-SUR-MER – FRANCE
+33 7 50 43 17 73
sylvain.trigueros@anses.fr

TROIA Thomas

Laboratoire MCT - INSERM
Faculté de Pharmacie de la Timone
MARSEILLE – FRANCE
troia.thomas@gmail.com

VALLS ONTANON Gisela

Insmed
PARIS – FRANCE
gisela.vallsontanon@insmed.com

VAN DER LAA Roald

Insmed
PARIS – FRANCE
roald.vanderlaan@insmed.com

VAN HOUTS Patrick

Bruker
LEIDERDORP – PAYS-BAS
+31 88 112 2700
patrick.van_houts@bruker.com

VANDENESCH François

Hospices Civils de Lyon
RILLIEUX-LA-PAPE – FRANCE
francois.vandesch@univ-lyon1.fr

VARTANIAN Jean-Pierre

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 44 38 94 45
jean-pierre.vartanian@pasteur.fr

VENTROUX Magali

MICALIS
INRAe
JOUY-EN-JOSAS – FRANCE
+33 1 34 65 25 19
magali.ventroux@inrae.fr

VERHILLE Cyril

Byg4lab@
L'UNION – FRANCE
+33 5 34 25 07 10
cyril.verhille@byg4lab.com

VERON Antoine

LSEM
Ifremer
NANTES – FRANCE
+33 2 40 37 42 83
antoine.veron@ifremer.fr

VIDAL Cyril

ELITech Distribution
FRANCE
c.vidal@elitechgroup.com

VIGUE Lucile

Université de Paris - Inserm
PARIS – FRANCE
lucile.vigue@inserm.fr

VILLENA Isabelle

Parasitologie-Mycologie
CHU - Université de Reims
REIMS – FRANCE
+33 3 26 78 42 20
ivillena@chu-reims.fr

VINCENT-HUBERT Françoise

Laboratoire Santé-Environnement-
Microbiologie
Ifremer
NANTES – FRANCE
+33 2 40 37 43 39
fvincent@ifremer.fr

VIRLOGEUX-PAYANT Isabelle

UMR1282 ISP
INRAe
NOUZILLY – FRANCE
+33 2 47 42 76 60
isabelle.virlogeux-payant@inrae.fr

VIROLLE Marie-Joelle

Institut de Biologie intégrative de la cellule
CNRS
ORSAY – FRANCE
+33 1 69 15 61 97
marie-joelle.virolle@i2bc.paris-saclay.fr

VONG Olivia

SFM - Société Française de Microbiologie
PARIS – FRANCE
+33 9 63 04 70 73
secretariat@sfm-microbiologie.org

VOUILLON Axelle

Laboratoire Inflammation Tissus Epithéliaux
et Cytokines
Université de Poitiers
POITIERS – FRANCE
axelle.vouillon@univ-poitiers.fr

WEIDMANN Stéphanie

UMR PAM
Université de Bourgogne-Franche-Comté
DIJON – FRANCE
+33 3 80 39 62 62
stephanie.weidmann@u-bourgogne.fr

WEILL François-Xavier

Unité des Bactéries pathogènes entériques
Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 45 68 83 45
francois-xavier.weill@pasteur.fr

WEISSBART Daniel

MP Biomedicals
ILLKIRCH – FRANCE
+33 8 86 75 44 4
daniel.weissbart@mpbio.com

WENTRUP Cecilia

R&D
CHROMagar
PARIS – FRANCE
+33 1 45 48 25 26
chromagar@chromagar.com

WIESER Wiviane

Université de Nantes
LA ROCHE-SUR-YON – FRANCE
+33 2 53 80 41 55
wiviane.wieser@univ-nantes.fr

WILHELM Amandine

Anses - LHN
NANCY – FRANCE
+33 3 83 38 87 20
amandine.wilhelm@anses.fr

WOLLENS Malin

Molzym
BREMEN – ALLEMAGNE
+490421 69 61 62 17
wollens@molzym.com

YAKHLEF Faysal

bioMérieux
CRAPONNE – FRANCE
faysal.yakhlef@biomerieux.com

YASSINE Iman

Institut Pasteur
PARIS – FRANCE
+33 1 45 68 82 21
iman@live.com

ZAGOREC Monique

UMR 1014 Secalim
INRAe
NANTES – FRANCE
+33 2 40 68 78 46
monique.zagorec@inrae.fr

ZERROUKI Hanane

IHU - Méditerranée Infection
MARSEILLE – FRANCE
zerrouki_hanane@hotmail.com

ZIDOUNI Yasmine

Marketing
Ozyme
SAINT-CYR-L'ÉCOLE – FRANCE
+33 1 34 60 24 24
yzidouni@ozyme.fr

ZINKERNAGEL Annelies

University Zurich
ZURICH – SUISSE
+41 2 55 12 59
annelies.zinkernagel@usz.ch

ZIRAH Severine

Muséum national d'Histoire naturelle
PARIS – FRANCE
+33 1 40 79 31 40
severine.zirah@mnhn.fr

ZOPPI Johanna

UMR 1235 TENS
Inserm
NANTES – FRANCE
+33 2 40 41 11 23
johanna.zoppi@etu.univ-nantes.fr

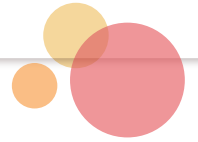


Société Française
de Microbiologie

MICROBES 2021

16^e Congrès National de la SFM

22-24
SEPT



LISTES DES SPONSORS ET DES EXPOSANTS

MICROBES 2021

...mille lieux
au cœur de la
microbiologie

LISTES DES SPONSORS ET DES EXPOSANTS

SPONSOR

Shionogi Europe

www.shionogi.com/eu/en.html

PRESSE

La gazette du laboratoire

www.gazettelabo.fr

LISTE DES EXPOSANTS

Agilent Technologies**Stand 33**

Fabrication et commercialisation d'instruments dédiés à la recherche, l'analyse et la quantification de micro-organismes (virus, bactéries, levures, parasites, moisissures) et leur effets.

3 avenue du Canada
91978 LES ULIS – FRANCE
jerome.darakdjian@agilent.com
www.agilent.com

BD**Stand 4**

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 3**

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 91 35
lsr-france@beckman.com
www.beckmancoulter.com

Biocentric-Bruker**Stand 31**

Bruker : Commercialisation de spectromètres de masse et de spectromètres Infra-Rouge. Biocentric : Solution 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 / www.bruker.com

bioMérieux**Stand 41**

Acteur mondial dans le domaine du diagnostic in vitro depuis plus de 55 ans, bioMérieux est animé par son esprit pionnier et son engagement pour l'amélioration de la santé publique.

5 rue des Aqueducs
69290 CRAPONNE CEDEX – FRANCE
+33 4 78 87 20 00
marketing.france@biomerieux.com
www.biomerieux.fr

Byg4lab**Stand 63**

13 rue d'Ariane
31240 L'UNION – FRANCE
+33 5 34 25 07 10
contact@byg4lab.com
https://byg4lab.com

CEPHEID Europe**Stand 14**

Cepheid est une société de diagnostic moléculaire de premier plan qui se consacre à l'amélioration des soins de santé en développant, fabriquant et commercialisant des systèmes et des tests PCR rapides, précis tout en restant faciles à utiliser.

Vira Solelh
81470 MAURENS-SCOPONT – FRANCE
+33 5 63 82 53 22
cepheid@cepheideurope.fr
www.cepheid.com/fr

ELITech Distribution**Stand 5**

ELITech Microbio fabricant et distributeur de réactifs et produits tiers de diagnostics in vito, en France et à l'international. 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
+33 4 83 36 10 82
c.vidal@elitechgroup.com
www.elitechgroup.com/france/

Fluidigm**Stand 26**

Fluidigm conçoit et fabrique des équipements pour la recherche en biologie moléculaire basés sur la technologie de microfluidique et en cytométrie et imagerie (CyTOF®).

Les conquérants - Batiment Le Kilimandjaro
1 avenue de l'Atlantique
91940 LES ULIS – FRANCE
+33 1 60 92 42 40
marketing-europe@fluidigm.com
www.fluidigm.com

i2a**Stand 65**

Spécialisée en bactériologie, i2a fabrique et commercialise des automates, logiciels et réactifs permettant de fournir aux laboratoires une solution d'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
<http://i2a-diagnostics.fr>
www.illumina.com

Insméd**Stand 72**

Insméd est une entreprise biopharmaceutique qui a pour mission de transformer la vie des patients atteints de maladies rares et graves qui n'ont peu, voire aucune, option thérapeutique.

50 rue du Paradis
75010 PARIS – FRANCE
+33 1 40 79 64 37
insmedfrance@insmed.com
www.insmed.com

Interscience**Stand 32**

Concepteur et fabricant français d'automates et consommables pour la préparation et l'analyse de l'échantillon en microbiologie.

30 chemion du Bois des Arpents
78860 ST-NOM-LA-BRETÈCHE – FRANCE
+33 1 34 62 62 61
info@interscience.com
www.interscience.com

Labo and Co**Stand 53**

LABOand Co assure la distribution, l'installation et l'entretien d'incubateurs, enceintes climatiques, stations hypoxie et anérobies, hottes, centrifugeuses des plus grandes marques (Don Withley, Memmert, Binder, Hettich, Esco, Julabo)

50 avenue de Grosbois
BP78
94440 MAROLLES-EN-BRIE – FRANCE
+33 1 45 98 74 80
contact@laboandco.com
www.laboandco.com

Logos Biosystems**Stand 42**

Fournisseur de Solutions d'Imagerie Cellulaire, allant de Compteurs de Cellules multiprimés à des Microscopes High Content Imaging (HCI) et au Tissue Clearing.
11B avenue de l'Harmonie - Park Plaza 2
Hub Innovation
59650 VILLENEUVE-D'ASCQ – FRANCE
+33 3 74 09 44 35
info-france@logosbio.com
www.logosbio.com

Luminex**Stand 6**

At Luminex, our mission is to empower labs to obtain reliable, timely, and actionable answers, ultimately advancing health. We offer a wide range of solutions applicable in diverse markets including clinical diagnostics, pharmaceutical drug discovery, biomedical research, genomic and proteomic research, and food safety. We accelerate reliable answers while simplifying complexity and deliver certainty with a seamless experience.
115 rue Cardinet
75831 PARIS CEDEX 17 – FRANCE
+31 73 800 1900
europe@luminexcorp.com
www.luminexcorp.com/EU

Mast Diagnostic**Stand 13**

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

Memmert**Stand 52**

Memmert développe et fabrique ses produits sur deux sites dans le sud de l'Allemagne : enceintes d'essais climatiques, étuves, et étuves de séchage, incubateurs, dispositifs médicaux et bains-marie.
Äubere Rittersbacher Strasse 38
91126 SCHWABACH – GERMANY
+49 9122/9250-270
sales@memmert.com
www.memmert.com/fr/home

Menarini France**Stand 54**

Laboratoire pharmaceutique
1-7 rue du Jura
BP 40528
94633 RUNGIS CEDEX – FRANCE
+33 1 45 60 64 32
cdurand@menarini.fr
www.menarini.fr

Miltenyi Biotec**Stand 21**

Société de Biotechnologie, leader dans le domaine de la séparation cellulaire, intervenant novateur en cryométrie en flux, culture cellulaire, biologie moléculaire et préparation d'échantillons.
10 rue Mercoeur
75011 PARIS – FRANCE
+33 1 56 98 16 16
macsfr@miltenyi.com
www.miltenyibiotec.fr

Molzym**Stand 60**

Molzym développe des produits innovants pour le diagnostic moléculaire et la recherche biologique d'agents infectieux (bactériens et fongiques), à partir d'échantillons cliniques variés en un seul protocole.
10, Mary-Astell Strasse
28359 BREMEN – GERMANY
+49 (0)42 1 6961620
info@molzym.com
www.molzym.com

MP Biomedicals**Stand 1**

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
custserv.fr@mpbio.com
www.mpbio.com

New England Biolabs France

Stand 61

Société commerciale fabricante de réactifs de recherche en science de la vie, en particulier des enzymes pour différentes applications utilisant la biologie moléculaire (ex. Conage, NGS, PCR et (RT)-qPCR, LAMP).
Genopole Campus 1 - Bâtiment 6, RDC
5 rue Henri Desbruères
91030 ÉVRY CEDEX – FRANCE
+33 1 69 90 87 15
info.fr@neb.com
www.neb-online.fr

Nikon

Stand 20

Nikon Instruments est la division Microscopie de Nikon Healthcare, et un leader dans les technologies d'optique et d'imagerie.
191 rue du Marché Rollay
94500 CHAMPIGNY SUR MARNE – FRANCE
+33 1 45 16 45 16
info.instruments.fr@nikon.com
www.microscope.healthcare.nikon.com

Ozyme

Stand 2

Biologie Moléculaire, Biologie Cellulaire et Immunologie, Réactifs - Instrumentations - Services.
6 boulevard Georges Marie Guynemer
ZAC Charles Renard - Bâtiment G
78210 SAINT-CYR-L'ÉCOLE – FRANCE
+33 1 34 60 24 24
info@ozyme.fr
www.ozyme.fr

PerkinElmer

Stand 11

Vente d'appareils de recherche, matériels de laboratoires, kits en sciences de la vie, agroalimentaire, analytique, diagnostique.
ZA Courtaboeuf
16 avenue du Québec - Bâtiment Lys
91140 VILLEBON-SUR-YVETTE – FRANCE
+33 7 70 14 00 87
julian.bursztyka@perkinelmer.com
www.perkinelmer.com

Pfizer

Stand 71

Laboratoire biopharmaceutique.
23-25 avenue du Dr Lannelongue
Cedex 14
75668 PARIS – FRANCE
+33 1 58 07 32 97
saida.redouani@pfizer.com
www.pfizer.fr

Qiagen France

Stand 25

QIAGEN est un leader mondial de la Biologie Moléculaire, et propose des solutions d'extraction, NGS, qPCR, digital PCR, automatisation et bioinformatique.
3 avenue du Canada
LP 809
91974 COURTABOEUF CEDEX – FRANCE
+33 1 60 92 09 20
customer-care-fr@qiagen.com
www.qiagen.com

Smaltis

Stand 24

Laboratoire spécialisé en microbiologie, proposant des solutions sur mesure pour accompagner le développement de produit de santé, dans les domaines de la lutte contre l'antibiorésistance, du microbiote, et de la bioproduction.
2 rue Paul Milleret
Bâtiment Bioparc
25000 BESANÇON – FRANCE
+33 3 81 84 01 42
contact@smaltis.fr
www.smaltis.fr

Société Française de Microbiologie (SFM)

Stand 62

36 avenue Jean Moulin
75014 PARIS – FRANCE
+33 9 63 04 70 73
secretariat@sfm-microbiologie.org
www.sfm-microbiologie.org

Specific Diagnostics

Stand 23

Specific Diagnostics propose un système automatisé d'antibiogramme rapide : le Specific Reveal®. Le Reveal® apporte des résultats d'antibiogramme 4,6 heures après la positivité d'une hémoculture.
7 boulevard Sebastopol
75001 PARIS – FRANCE
info@specificdx.com
www.specificdx.com

Thermo Fisher Scientific

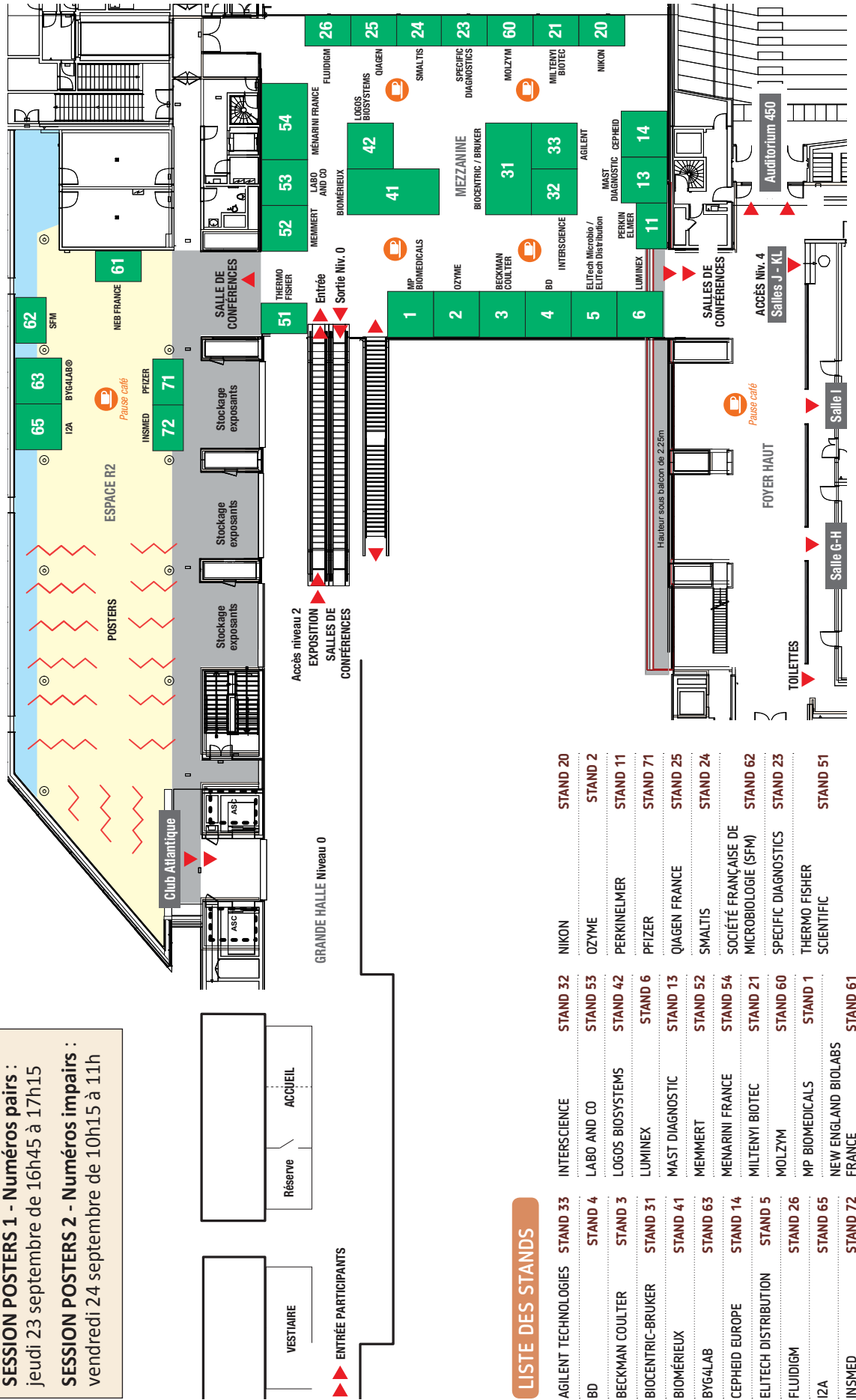
Stand 51

16 avenue du Québec
91140 COURTABOEUF – FRANCE
+44 141 814 61 00
pierre.leninan@thermofisher.com
www.thermofisher.com

PLAN DE L'EXPOSITION - LA CITÉ DES CONGRÈS DE NANTES

MEZZANINE ET ESPACE R2 - NIVEAU 2

SESSION POSTERS 1 - Numéros pairs :
jeudi 23 septembre de 16h45 à 17h15
SESSION POSTERS 2 - Numéros impairs :
vendredi 24 septembre de 10h15 à 11h



LISTE DES STANDS

AGILENT TECHNOLOGIES	STAND 33	INTERSCIENCE	STAND 32	NIKON	STAND 20
BD	STAND 4	LABO AND CO	STAND 53	OZYME	STAND 2
BECKMAN COULTER	STAND 3	LOGOS BIOSYSTEMS	STAND 42	PERKINELMER	STAND 11
BIOCENTRIC-BRUKER	STAND 31	LUMINEX	STAND 6	PFIZER	STAND 71
BIOMÉRIEUX	STAND 41	MAST DIAGNOSTIC	STAND 13	QIAGEN FRANCE	STAND 25
BYG4LAB	STAND 63	MEMMERT	STAND 52	SMALTIS	STAND 24
CEPHEID EUROPE	STAND 14	MENARINI FRANCE	STAND 54	SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE (SFM)	STAND 62
ELITECH DISTRIBUTION	STAND 5	MILTENYI BIOTEC	STAND 21	SPECIFIC DIAGNOSTICS	STAND 23
FLUIDIGM	STAND 26	MOLZYM	STAND 60	THERMO FISHER SCIENTIFIC	STAND 51
I2A	STAND 65	MP BIOMEDICALS	STAND 1		
INSMED	STAND 72	NEW ENGLAND BIOLABS	STAND 61		

PLAN DE SITUATION DES HÔTELS - SFM 2021 - NANTES



1 Mercure Nantes Centre Gare****
Situé à 500 m de la Cité des Congrès.

4 Ibis Nantes Centre Gare Sud***
Situé à 450 m de la Cité des Congrès.

2 Residhome Berges de la Loire****
Situé à 350 m de la Cité des Congrès.

5 Appart City Nantes Cité des Congrès***
Situé à 350 m de la Cité des Congrès.

3 Seven Urban suites Nantes Centre****
Situé à 900 m de la Cité des Congrès.