



**HAL**  
open science

## Caractérisation de cellules persistantes de *Pseudomonas aeruginosa* dans un modèle d'infection urinaire sur sonde traitée par ciprofloxacine

E. Quatremare, V. Oxaran, S. Legris, M. Pestel-Caron, F. Caron, M. Etienne

### ► To cite this version:

E. Quatremare, V. Oxaran, S. Legris, M. Pestel-Caron, F. Caron, et al.. Caractérisation de cellules persistantes de *Pseudomonas aeruginosa* dans un modèle d'infection urinaire sur sonde traitée par ciprofloxacine. IRIB, Jun 2013, Rouen (France), France. hal-04057659

**HAL Id: hal-04057659**

**<https://hal.science/hal-04057659>**

Submitted on 4 Apr 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## INTRODUCTION

### ► *Pseudomonas aeruginosa*

Pathogène opportuniste  
 Infections chez le patient atteint de mucoviscidose  
 Infections urinaires sur sonde (3<sup>ème</sup> agent le plus fréquent)

### ► Traitement antibiotique des infections urinaires sur sonde:

Ciprofloxacine (fluoroquinolone) seul traitement disponible *per os*  
 Insuffisant à éradiquer infection dans la plupart des cas  
 Retrait du matériel infecté nécessaire  
 Echec : **bactéries persistantes**, structure du biofilm, mutants résistants

### ► Persistance:

Phénotype transitoire et réversible  
 Population hautement tolérante à un ou plusieurs antibiotique(s)  
 N'ayant pas acquis de mécanisme de résistance (mutation génétique)  
 CMI population persistante = CMI initiale

## OBJECTIF

► Isoler et caractériser des cellules persistantes issues d'un modèle *in vitro* d'infection à *P. aeruginosa* en biofilm sur sonde traitée par ciprofloxacine

## MATERIEL ET METHODES

### ► Formation de cellules persistantes:

Souche de *P. aeruginosa* PA14  
 Formation d'un biofilm mature (72h) sur cathéter urinaire  
 Exposition à la ciprofloxacine durant 24h (16mg/L, 128x CMI)  
 Bactéries survivantes non résistantes → bactéries persistantes

### ► Morphologie des colonies sur géloses Mueller Hinton (MH)

### ► Cinétique de croissance: MH, 37 C, agitation, mesure DO<sub>600nm</sub>

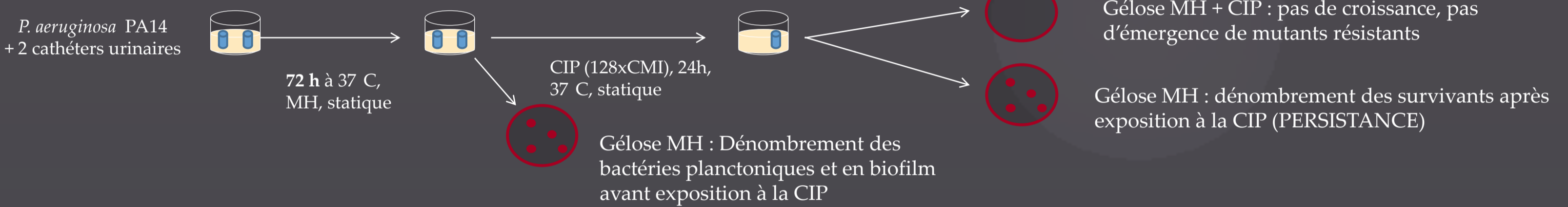
### ► Formation de biofilm en microplaque: MH, 37 C, statique.

Formation de biofilm durant 24h  
 Coloration du biofilm au cristal violet (0,1%)

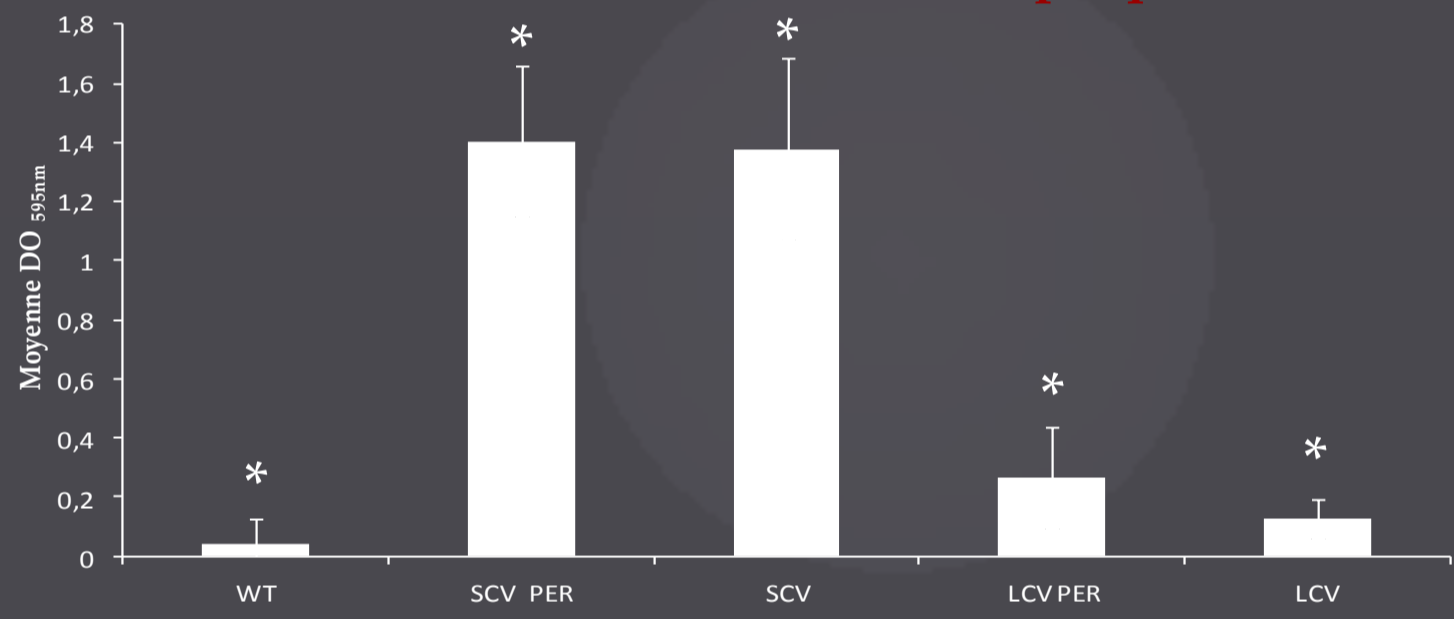
### ► Production de sucres:

Étalement sur gélose supplémentée en Rouge Congo (0,8g/L)  
 Incubation en MH + Rouge Congo (40µg/L) sous agitation à 37 C, puis mesure DO<sub>490nm</sub> des surnageants

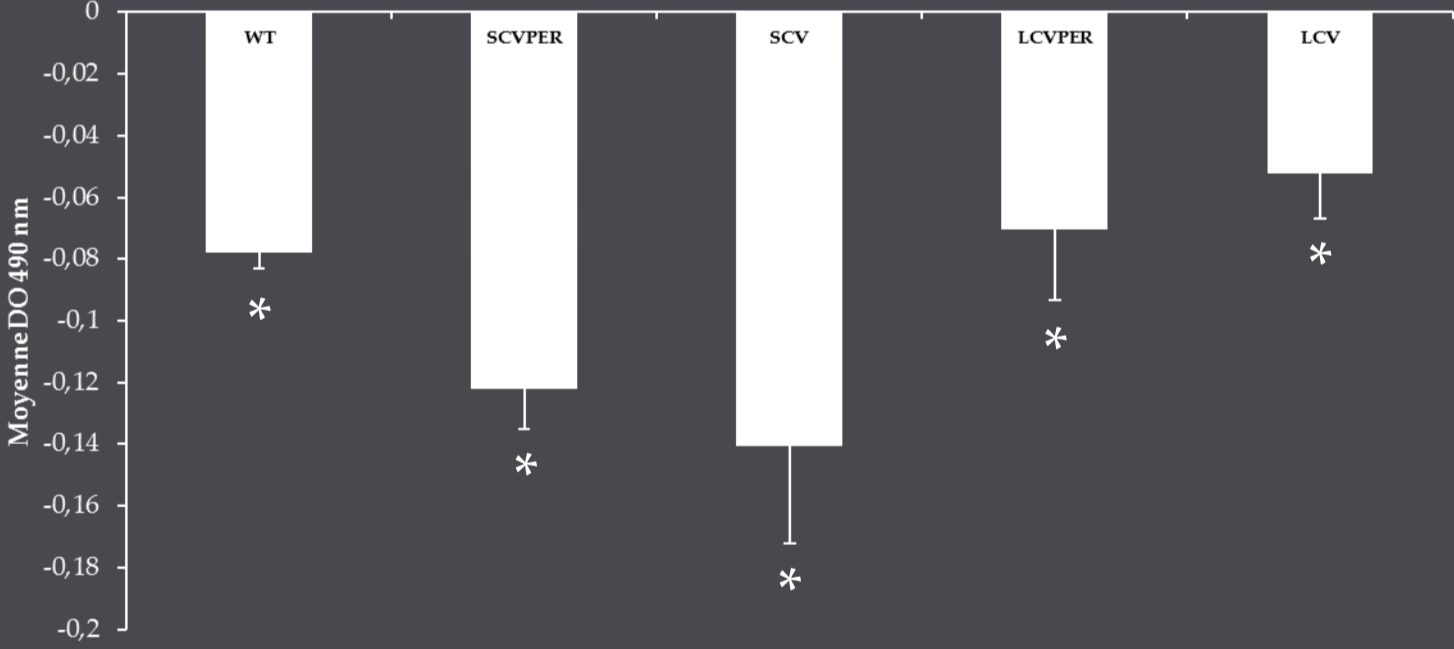
## Sélection de cellules persistantes



## Formation de biofilm en microplaque



## Production de sucres



	WT	SCV	SCV <sub>PER</sub>	LCV	LCV <sub>PER</sub>
Morphotype					
Cinétique de croissance (en polypropylène)	Pas de différence de cinétique de croissance				
Adhésion et sédimentation (en verre)					
Formation de biofilm (en polystyrène)	+	+++	+++	+	+
Production de sucres					

## RESULTATS

### En biofilm :

2 morphotypes : variants à grandes colonies (LCV) et variants à petites colonies (SCV)  
 Cinétiques de croissance similaires quels que soient les morphotypes  
 Formation de biofilm 4 fois plus importante pour les SCV que les autres populations  
 Production de sucre 2,5 fois plus importante pour les SCV que les autres populations

### Les cellules persistantes :

Peuvent prendre l'aspect de SCV ou de LCV  
 Sont par définition tolérantes aux ATB  
 Aucune autre caractéristique particulière mise en évidence : croissance, production de biofilm, production de sucre comparables aux autres populations

## DISCUSSION / CONCLUSION

- Modèle reproductible de persistance *in vitro* qui démontre que l'échec d'un traitement antibiotique en biofilm peut être lié à d'autres mécanismes que la résistance.
- 2 morphotypes spécifiques du biofilm ont été mis en évidence : variants à petites colonies et à grandes colonies
- Aucun phénotype spécifique de la persistance sur des critères de cinétique de croissance, de formation de biofilm et de production de sucres
- Variabilité des résultats selon les conditions expérimentales : verre vs polypropylène, agitation vs conditions statiques ...
- Existence de plusieurs variants persistants → **Nécessité, pour comprendre les échecs, d'analyser l'ensemble de la population persistante**
- Implication du concept de persistance au cours d'infections *in vivo*?