



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^{ème} 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, 128xCMI)
 Bactéries survivantes non résistantes → bactéries persistantes

► Morphologie des colonies sur géloses Mueller Hinton (MH)

► Cinétique de croissance: MH, 37 C, agitation, mesure DO_{600nm}

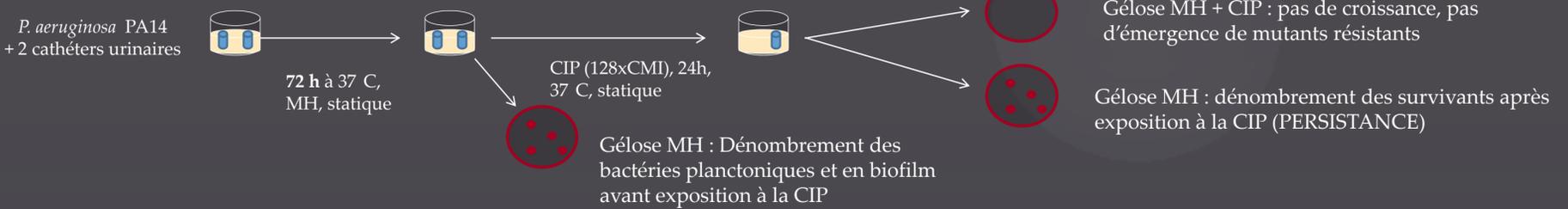
► Formation de biofilm en microplaque: MH, 37 C, statique.

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

► Production de sucres:

Etaiement sur gélose supplémentée en Rouge Congo (0,8g/L)
 Incubation en MH + Rouge Congo (40µg/L) sous agitation à 37 C, puis mesure DO_{490nm} des surnageants

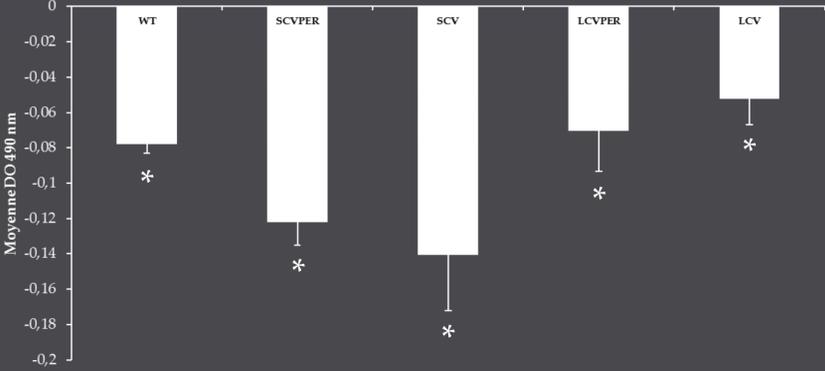
Sélection de cellules persistantes



Formation de biofilm en microplaque



Production de sucres



	WT	SCV	SCV _{PER}	LCV	LCV _{PER}
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*?