



# Livre de résumés des communications affichées

## Table des matières

<b>P1. Sélection de souches pour la biopréservation des dés de jambon</b>	<b>6</b>
<i>Mihanta Ramaroson, Valérie Anthoine, Nicolas Moriceau, Sandrine Rezé, Albert Rossero, Sandrine Guillou, Monique Zagorec</i>	
<b>P2. nimH, nouveau gène de résistance au métronidazole chez <i>Bacteroides fragilis</i></b>	<b>7</b>
<i>Corentine Alauzet, Sibel Berger, Hélène Jean-Pierre, Luc Dubreuil, Estelle Jumas-Bilak, Alain Lozniewski, Hélène Marchandin</i>	
<b>P3. Screening et évaluation des propriétés antibactériennes de 12 substances naturelles sur <i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>syringae</i></b>	<b>8</b>
<i>Caroline Choma</i>	
<b>P4. Diversité microbienne du lait au cours d'un cycle de pâturage</b>	<b>10</b>
<i>Yvette Bouton, Virginie Nowak, Philippe Guyot, Nicolas Chemidlin Prévost-Bouré</i>	
<b>P5. Impact des conditions de température pré-analytique sur les liquides céphalo-rachidiens</b>	<b>11</b>
<i>Véronique Jacomo</i>	
<b>P6. Rapid screening of epidemiologically important <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovars by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight (MALDI-TOF) mass spectrometry.</b>	<b>12</b>
<i>Frédérique Moury, Benoît Gassilloud, Jean-Sébastien Py, Wilhelm Amandine, Christine Piquet, Viviane Morel Renaud Lailler and Sabrina Cadel Six</i>	
<b>P7. OXA-48-like substrate specificity: everything in the <math>\beta 5</math>-<math>\beta 6</math> loop</b>	<b>14</b>
<i>Laura Dabos, Remy Bonnin, Laurent Dortet, Bogdan Iorga, Thierry Naas</i>	
<b>P8. Isolement et caractérisation des souches d'actinomycètes susceptibles de produire des substances bioactives</b>	<b>15</b>
<i>Hasnaa Ayoubi, Mohammed Menggad</i>	
<b>P9. Premier cas de <i>Klebsiella variicola</i> co-productrice de CTX-M-14 et TEM-1</b>	<b>17</b>
<i>Laurent Cavalié, Alexandre Dieudonné, Laurent Cavalié, Francis Laboudie</i>	
<b>P10. Sélection de milieux de culture pour évaluer les effets pré/probiotiques</b>	<b>18</b>
<i>Cynthia Helou, David Marier, Veronique Rame, Pascale Gadonna-Widehem</i>	
<b>P11. Brucellose canine au Brésil : existence d'une lignée autochtone</b>	<b>19</b>
<i>Acacia Ferreira Vicente, Yannick Corde, Ludivine Perrot, Mateus De Souza Ribeiro Mioni, Bruna Leticia Devidé Ribeiro, Maryne Jay, Jane Megid, Virginie Mick</i>	
<b>P12. Antimicrobial and pro-inflammatory activities of cationic antimicrobial peptides</b>	<b>20</b>
<i>Régina Geitani, Carole Ayoub Moubareck, Charlotte Abrial, Lhousseine Touqui, Dolla Karam Sarkis</i>	
<b>P13. Modèle ex vivo d'infection placentaire à CMVH : Efficacité des antiviraux et profils cytokiniques.</b>	<b>21</b>
<i>Déborah Andouard , Stuart Hamilton, Lucie Morère , Yves Aubard, Sébastien Hantz, William.D Rawlinson, Sophie Alain</i>	
<b>P14. Résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infection urinaire communautaire</b>	<b>22</b>
<i>Farida Sahli , Nadia Radji , Wahiba Mezaghcha , Widad Sadoune, Meriem Osmani</i>	
<b>P15. Dépistage des mammites subcliniques des vaches laitiers au nord est algérien, résultats de la bactériologie et résistance aux antibiotiques</b>	<b>23</b>
<i>Zahida Boufaïda Asnoune</i>	

<b>P16. Vérification du paramétrage des résultats présomptifs d'une infection urinaire sur l'IQ200</b>	<b>24</b>
<i>Florent Tomasi , Nadia Flastischler</i>	
<b>P17. Analyse des résistances des souches du MTBC isolées au Sénégal</b>	<b>25</b>
<i>Carine Laurence Yehouenou</i>	
<b>P18. Coinfection : dengue et paludisme à plasmodium falciparum propos d'un cas.</b>	<b>26</b>
<i>Med Lemine Ould Salem , Sid El Wafi Baba, Sidi Med Ghaber, Abdelwedoud Mokhtar, Med Mahmoud Maouloud</i>	
<b>P19. La fièvre de la vallée du Rift d'évolution fatale : à propos de 2 cas</b>	<b>27</b>
<i>Med Lemine Ould Salem , Sid El Wafi Baba, Ghaber Sidi Med , Abdelwedoud Mokhtar</i>	
<b>P20. Etude rétrospective sur la tuberculose bovine au niveau de l'Est Algérien</b>	<b>28</b>
<i>Nora Benrachou , Seloua Morsli, Latifa Merdaci, Zahida Asnoun, Farida Bouzebda -Afri</i>	
<b>P21. Séroprévalence de certains virus transmissibles par le sang chez les donneurs de sang à Monastir, Tunisie</b>	<b>30</b>
<i>Besma Abdi , Salma Mhalla , Bedis Dhouaieb , Aida El Argoubi , Hamza Ouaz, Sabiha Ghedira , Mohsen Hassine, Maha Mastouri</i>	
<b>P22. Evaluation du réseau européen pour la détection des entérotoxines staphylococciques dans les aliments</b>	<b>31</b>
<i>Yacine Nia, Isabelle Mutel, Adrien Assere, Bertrand Lombard, Jacques Antoine Hennekinne, Frédéric Auvray</i>	
<b>P23. GTFinder workflow to detect exclusively conserved region across a large genome dataset: Salmonella spp. study.</b>	<b>32</b>
<i>Sabrina Cadel Six</i>	
<b>P24. Other therapeutic method against penicillin-Resistant bacteria and uropathogenic Candida albicans: Bioactives constituents and potentiels microbicides of essential oil of Lavandula angustifolia Mill</b>	<b>33</b>
<i>Hadjer Boudjemaa , Rachida Allem</i>	
<b>P25. High Association of Cryptosporidium infection with Digestive Cancer in Lebanese patients</b>	<b>34</b>
<i>Marwan Osman , Sadia Benamrouz, Emilie Fréalle, Karine Guyot, Magali Chabe, Nausicaa Gantois, Baptiste Delaire, Anne Goffard, Mouhamad Diab, Fouad Dabboussi, Monzer Hamze, Colette Creusy, Eric Viscogliosi, Certad Gabriela</i>	
<b>P26. Noninvasive detection of S. aureus and Salmonella in food samples</b>	<b>35</b>
<i>Pierre R. Marcoux, Emilie Perret, Marjorie Vrignaud, Zoé Buniazet, Jean Hue, Pierre L. Joly, Isabelle Texier-Nogues</i>	
<b>P27. Séroprévalence de la brucellose chez les enfants en zone endémique</b>	<b>36</b>
<i>Nardjiss Tabet-Derraz</i>	
<b>P28. Optical elastic scattering for the label-free detection of Staphylococcus aureus</b>	<b>37</b>
<i>Pierre R. Marcoux , Valentin Genuer , Damien Decq , Jérémy Météau , Olivier Gal, Emmanuelle Schultz , Eric Lacot, Max Maurin</i>	
<b>P29. Identification of antibiotic resistance genes of staphylococci isolated from mastitic milk in Algeria</b>	<b>38</b>
<i>Radhwane Saidi</i>	
<b>P30. Screening of Some Medicinal Plants for Antibacterial Activities on Multiresistant Strains Isolated From Mastitis</b>	<b>39</b>
<i>Radhwane Saidi</i>	

<b>P31. Performances du milieu MH TEICO-5 (Société I2a- France) pour la détection de la sensibilité diminuée de <i>Staphylococcus aureus</i> à la vancomycine</b>	<b>40</b>
<i>N. Brieu, J. Gallou, C. Pacchetti, C. Bouyssie, H. Chardon</i>	
<b>P32. Sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées de 60000 ECBU communautaires</b>	<b>41</b>
<i>Jérémy Bayette, Delphine Boraud, Jacinthe Gholizadeh, Vincent Vieillefond, Anne Holstein</i>	
<b>P33. Applicability of ISO 11290 Standard for detection of new <i>Listeria</i> species</b>	<b>42</b>
<i>E. Brasseur, L. Barre, D. Boussaid, K. Romero, E. Manso, N. Gnanou Besse</i>	
<b>P34. Reproducibility and repeatability of two blood culture systems: BacT/Alert®3D and VIRTUO</b>	<b>43</b>
<i>Gauthier Delvallez, Patricia Pischedda, Joëlle Alexandre, René Courcol</i>	
<b>P35. Coqueluche chez l'enfant Tunisien : augmentations cycliques du nombre de cas</b>	<b>44</b>
<i>Ikram Ben Fraj, Hanen Smaoui, Sophie Guillot, Nicole Guiso, Amel Kechrid</i>	
<b>P36. Détection phénotypique des entérobactéries productrices de carbapénémases.</b>	<b>45</b>
<i>Nadine Lemaitre, Julien Herlem, Audrey Charlet, Marie Titecat, J-David Pekar, Olivier Gaillot, René Courcol</i>	
<b>P37. The transcription factor Skn7 regulates morphogenesis in <i>Candida albicans</i></b>	<b>46</b>
<i>Virginia Basso</i>	
<b>P38. Impact of enrichment duration and pooling on <i>L. monocytogenes</i> detection in food</b>	<b>48</b>
<i>Nathalie Gnanou Besse, Emilie Brasseur, Martin Kalmokoff, Timothy Ells, Colin Buhariwalla, Sandra Favret, Jennifer Desreumaux, Jean Christophe Augustin</i>	
<b>P39. Les manifestations oculaires de la leptospirose : expérience du service des maladies infectieuses du CHU de Tizi-Ouzou</b>	<b>49</b>
<i>Malika Afiri, Anissa Amara-Korba, Djafer Ait Kaid</i>	
<b>P40. Motifs d'hospitalisation des adultes présentant une varicelle : étude rétrospective de 93 cas</b>	<b>50</b>
<i>Malika Afiri, Hayet Bouchaib, Mohamed Touat</i>	
<b>P41. La maîtrise du danger zoonotique <i>Campylobacter</i> en élevage de poulets</b>	<b>51</b>
<i>Michel Federighi, Soumaya Messaoudi</i>	
<b>P42. Ten years of surveillance of STEC in foodstuffs in France</b>	<b>52</b>
<i>Christine Mazuy Cruchaudet, Aurélie Granjon, Valérie Vallet, Sophie Felix, Caroline Nicolo, Corinne Danan, Sabine Itié, Laurence Giuliani, Estelle Loukiadis</i>	
<b>P43. Transferts bactériens de bactéries pathogènes vers l'aliment</b>	<b>54</b>
<i>Graziella Bourdin, Guylaine Leleu, Clémence Couvreur, Stéphanie La Carbona, Catherine Denis</i>	
<b>P44. Mécanismes de résistance aux bêtalactamines et clonalité des souches de <i>Moraxella catarrhalis</i> isolées en réanimation pédiatrique</b>	<b>55</b>
<i>Yosra Megdich, Hanen Smaoui, Mondher Belhadj, Dalel Sediri, Aida Bouafsoun, Amel Kechrid</i>	
<b>P45. Biospecimens: a website to facilitate collaborative research on infectious diseases</b>	<b>56</b>
<i>Blandine Rimbault, Karen Louis, Christelle Gaillard, Laurent Costaz, Cyril Guyard, Artem Khlebnikov, Alain Troesch</i>	
<b>P46. Cooperation between <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Helicobacterium kunzii</i> in diabetic foot</b>	<b>57</b>
<i>Christelle Ngba Essebe, Orane Visvikis, Vincent Cattoir, Anne Vergne, Alain Lecoustumier, Emmanuel Lemichez, Jean-Philippe Lavigne, Catherine Dunyach-Remy</i>	

<b>P47. Modulation de la perméabilité membranaire et de la virulence chez <i>Escherichia coli</i> ST131</b>	<b>58</b>
<i>Alix Pantel , Marie-Hélène Nicolas-Chanoine, Christelle Ngba Essebe , Catherine Dunyach-Remy , Jean-Marie Pagès, Albert Sotto , Jean-Philippe Lavigne</i>	
<b>P48. Hepatitis A and E seroprevalence and associated risk factors, Monastir</b>	<b>59</b>
<i>Salma Mhalla , Basma Abdi , Aida El Argoubi, Yosr Kadri , Hamza Ouaz, Mohsen Hassin, Maha Mastouri</i>	
<b>P49. Prevalence and risk factors of hepatitis B and C among hemodialysis patients</b>	<b>60</b>
<i>Salma Mhalla , Aida El Argoubi , Yosr Kadri , Basma Abdi , Amel Nabli, Ameer Frih, Maha Mastouri</i>	
<b>P50. Investigation of NDM-1-producing <i>Morganella morganii</i> outbreak using Whole Genome Sequencing</b>	<b>61</b>
<i>Laurent Dortet , Delphine Girlich, Remy Bonnin, Philippe Glaser, Thierry Naas</i>	
<b>P51. Epidémiologie des bactéries multi-résistantes au niveau de l'environnement hospitalier: CHU Marrakech</b>	<b>62</b>
<i>Adel Elmekes</i>	
<b>P52. Epidémiologie des bactéries multi-résistantes isolées dans les unités de soins intensifs</b>	<b>63</b>
<i>Adel Elmekes</i>	
<b>P53. Microbiological Carasterisazation Of Clinically Significant Coagulase-Negative Staphylococci (CNS)</b>	<b>64</b>
<i>Chimène Nanoukon</i>	
<b>P54. Management de la phase pré-analytique en microbiologie</b>	<b>65</b>
<i>Aida Elargoubi , Besma Abdi, Salma Mhalla, Ons Haddad,</i>	
<b>P55. Investigations autour de 2 épidémies à <i>Acinetobacter baumannii</i> OXA-23, PER-7</b>	<b>68</b>
<i>Amina Kadi</i>	
<b>P56. EPEC dans les gastroentérites infantiles</b>	<b>69</b>
<i>Laurent Cavalié , Olivier Fayet</i>	
<b>P57. Combined treatments involving irradiation in order to develop shelf stable sterile foods</b>	<b>70</b>
<i>Samia Ayari</i>	
<b>P58. ANTIBIOGRAMME : VERIFICATION DE METHODE, DE LA COLONIE AU RENDU</b>	<b>71</b>
<i>Amina Kadi</i>	
<b>P59. Prévalence des <i>S.aureus</i> producteurs d'exfoliatines en portage nasal</b>	<b>73</b>
<i>Laurent Cavalié , Marion Miguères , Benoit Mantion , Marie-Françoise Prère</i>	
<b>P60. Using <i>C. elegans</i> model to uncover new immune pathways</b>	<b>74</b>
<i>Orane Visvikis</i>	
<b>P61. Profil Epidémiologique et Antibiorésistance des Isolats d'Hémocultures en Milieu Pédiatrique et Néonatal</b>	<b>75</b>
<i>Ons Haddad, Yosr Kadri, Hajer Rhim, Besma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri</i>	
<b>P62. Expertise de la galerie UMIC Vanco-Teico (BIOCENTRIC) sur <i>Staphylococcus aureus</i> : premiers résultats</b>	<b>76</b>
<i>Brieu N., J. Gallou, C. Pacchetti, C. Bouyssie, H Chardon</i>	
<b>P63. Stabilité de la résistance de <i>Helicobacter pylori</i> à la clarithromycine</b>	<b>77</b>
<i>Esther Nina Ontsira Ngoyi , Lucie Bénéjat, Claire Guilloteau, Philippe Lehours, Francis Megraud</i>	
<b>P64. Expertise de la galerie UMIC Vanco-Teico (BIOCENTRIC) sur <i>Staphylococcus non</i></b>	

<b>aureus : premiers résultats</b>	<b>78</b>
<i>Brieu N., J. Gallou, C. Pacchetti, C. Bouyssié, H Chardon</i>	
<b>P65. Bactéries Multirésistantes en Milieu de Réanimation dans un CHU Tunisien</b>	<b>79</b>
<i>Ons Haddad, Yosr Kadri, Hager Rhim, Besma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri</i>	
<b>P66. Evolution de la Résistance des Entérobactéries aux Céphalosporines de 3<sup>ème</sup> Génération</b>	<b>80</b>
<i>Ons Haddad, Yosr Kadri, Hager Rhim, Besma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri</i>	
<b>P67. Profil Epidémiologique et Sensibilité aux Antibiotiques des Bactéries Isolées des Prélèvements Respiratoires</b>	<b>81</b>
<i>Ons Haddad, Yosr Kadri, Hager Rhim, Besma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri</i>	
<b>P68. Profil épidémiologique et sensibilité aux antibiotiques des souches de Staphylococcus aureus dans un CHU tunisien</b>	<b>82</b>
<i>Hajer Rhim, Ons Hadad, Yosr Kadri, Besma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri</i>	
<b>P69. Bactériémies à bacilles Gram négatif multirésistants dans un CHU tunisien</b>	<b>83</b>
<i>Hajer Rhim, Ons Haddad, Yosr Kadri, Besma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri</i>	
<b>P70. Profil actuel des bactériémies au Service des Maladies Infectieuses</b>	<b>84</b>
<i>Latifa Badaoui</i>	
<b>P71. The Antibiofilmogram®: First Results of A New Antibiotic Susceptibility Test Against Biofilm Installation in Bone and Joint Infections</b>	<b>86</b>
<i>Jason Tasse , Stéphanie Badel-Berchoux, Christian Provot, Delphine Croisier-Bertin, Thierry Bernardi, Frédéric Laurent</i>	
<b>P72. Detection of atypical Chlamydiaceae in roe deer (Capreolus capreolus) in south-western France</b>	<b>87</b>
<i>Rachid Aaziz , Karine Laroucau , Fabien Vorimore , Hélène Verheyden, Denis Picot, Konrad Sachse</i>	
<b>P73. A new ELISA assay for Glanders diagnosis</b>	<b>88</b>
<i>Rachid Aaziz , Karine Laroucau , Loïc Comtet, Claire Bertin , Cecile Colaneri, Mickael Roche, Marcus Dias Falcão, Nora Madani , Vania Lucia Santana, Mohammed Saqib</i>	
<b>P74. Infections neuro-méningées virales de l'enfant à Tunis</b>	<b>89</b>
<i>Aida Bouafssoun El Afrit , Neila Hannachi, Hanene Smaoui, Sondes Haddad-Boubaker, Jalel Boukadida, Amel Kechrid</i>	
<b>P75. Identification de la population des tiques et détection moléculaire des espèces de Rickettsies véhiculées à l'extrême Nord Est algérien.</b>	<b>90</b>
<i>Loubna Dib Aissaoui Zitoun</i>	
<b>P76. Induction et Régulation de l'opéron fruz de Streptococcus agalactiae</b>	<b>91</b>
<i>Kévin Patron</i>	
<b>P77. Etude d'un transporteur MmpL10-like chez Mycobacterium abscessus</b>	<b>92</b>
<i>Violaine Dubois</i>	
<b>P78. Analyse microbiologique de l'eau pour hemodialyse au chu de Yaounde</b>	<b>94</b>
<i>Cédric Gueguim , Hortense Gonsu Kamga, Alain Ragon, Emmanuel Nnanga Nga, Francois Kaze Folefack</i>	
<b>P79. Caractéristiques des cas de Tuberculose neuro-méningée au CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie.</b>	<b>96</b>
<i>Hanifa Ziane</i>	
<b>P80. INDUCTION OF THE EXPRESSION OF A RED PIGMENT PRODUCED BY ACTINOMYCETES ISOLATED FROM SOIL SAMPLES OF RABAT NEIGHBOURHOOD</b>	<b>97</b>
<i>AYOUBI Hasnaa, MOUSLIM Jamal and MENGGAD Mohammed</i>	

## **P1. Sélection de souches pour la biopréservation des dés de jambon**

*Mihanta Ramarosan, Valérie Anthoine, Nicolas Moriceau, Sandrine Rezé, Albert Rossero, Sandrine Guillou, Monique Zagorec*

INRA

La fabrication de produits carnés comme le jambon cuit inclut l'ajout de conservateurs (nitrites, sel) pour garantir leur stabilité au cours du temps. Des méthodes alternatives permettant de diminuer la concentration de ces additifs sont recherchées, comme par exemple la combinaison de traitements haute pression avec l'utilisation de bactéries protectrices. Dans le cadre du projet ANR BLAC-HP nous testons la possibilité d'utiliser des bactéries lactiques sûres pour la santé du consommateur, capables d'inhiber la croissance de bactéries pathogènes ou altérantes dans le jambon et capables de survivre après un traitement haute pression. Nous avons criblé 63 souches potentiellement protectrices selon plusieurs critères : non-production d'histamine, sensibilité à certains antibiotiques, capacité à produire des bactériocines efficaces contre des souches pathogènes ou altérantes, en particulier des espèces sporulantes susceptibles de résister à la haute pression (*Bacillus cereus*, *Paenibacillus* sp., *Clostridium botulinum*, *Clostridium frigidicarnis* et *Clostridium algidicarnis*). Aucune souche ne produit d'histamine et 14 sont sensibles aux 9 antibiotiques testés. Parmi ces 14 candidates deux souches de *Lactococcus lactis* et une souche de *Lactobacillus curvatus* ont une fonction inhibitrice sur plusieurs des souches cibles testées. L'activité inhibitrice est liée à la production de bactériocines. Leur baro-résistance selon différents barèmes (pression, temps, températures) va être testée dans un milieu modèle liquide dont la composition reproduit celle du jambon. A l'issue de ce criblage, la combinaison des souches sélectionnées avec un traitement haute pression sera testée contre un écosystème modèle de dés de jambon. Pour ce faire, les communautés bactériennes des dés de jambon du commerce conservés sous atmosphère protectrice sont en cours de caractérisation. La croissance microbienne de dés de jambon a été suivie après conservation sous air ou sous vide à 4°C. La flore totale initiale est hétérogène suivant les lots et peut ensuite atteindre 6 à 10 log UFC/g. La flore lactique est diverse et la conservation sous vide ou sous air sélectionne des espèces différentes. Les communautés bactériennes de 7 produits ont été collectées afin de générer des stocks représentatifs de la diversité du microbiote du jambon et réutilisables pour des challenge-tests reproductibles. Leur ADN a été extrait pour leur caractérisation par séquençage. L'effet de traitements haute pression combinés aux bactéries lactiques sélectionnées préalablement sera testé sur ces écosystèmes modèles.

Mots-clés : Biopréservation, bactéries lactiques, hautes pressions, produits carnés, dés de jambon, bactéries sporulantes



**P2. nimH, nouveau gène de résistance au métronidazole chez *Bacteroides fragilis***  
Corentine Alauzet(1) , Sibel Berger(2), Hélène Jean-Pierre(3), Luc Dubreuil(4), Estelle Jumas-Bilak(5), Alain Lozniewski(1) , Hélène Marchandin(6)

(1) Laboratoire de Bactériologie - CHRU de Nancy ; EA 7300 Université de Lorraine, (2) Plateforme de Génomique Microbienne - CHRU de Nancy, (3) Laboratoire de Bactériologie - CHRU de Montpellier, (4) Laboratoire de Bactériologie - CHRU de Lille, (5) UMR 5569, Equipe Pathogènes Hydriques Santé Environnements, Université de Montpellier, (6) Laboratoire de Bactériologie - CHRU de Montpellier ; UMR 5569, Equipe Pathogènes Hydriques Santé Environnements, Université de Montpellier

Objectifs: Membres majeurs du microbiote intestinal, les *Bacteroides*, notamment ceux du groupe *fragilis*, sont fréquemment impliqués en pathologie humaine. Ils sont par ailleurs connus pour leur capacité à résister à divers antibiotiques dont l'anti-anaérobie de référence, le métronidazole (MTZ). Plusieurs mécanismes de résistance au MTZ ont été décrits avec principalement la production d'une nitroimidazole réductase codée par un gène *nim*. Les gènes *nimA* à *nimG*, *nimI* et *nimJ* sont chromosomiques ou plasmidiques, possiblement transférables, et leur transcription peut être activée par la présence de séquences d'insertion (IS). Cette étude porte sur la caractérisation d'un nouveau variant de *nim* suite à l'isolement dans deux échantillons ostéo-articulaires d'un même patient de *Bacteroides fragilis* présentant un bas niveau de résistance au MTZ (CMI = 8 mg/L). Matériel & Méthodes : La détection par PCR d'un gène *nim* a été effectuée en utilisant les amorces universelles NIM-3/NIM-5 et a été couplée à la recherche des IS déjà décrites en association à un gène *nim* (ISBf6, IS612, IS1168, IS1169, IS1170). Les amplicons obtenus ont été séquencés puis une approche de PCR-mapping a été utilisée pour vérifier la co-localisation IS/*nim*. La localisation génomique du gène *nim* a été déterminée par hybridation avec une sonde complémentaire, d'extraits d'ADN plasmidique d'une part et de l'ADN chromosomique après restriction enzymatique d'autre part. Résultats : Pour les 2 isolats, un fragment d'environ 460 pb a été amplifié et sa séquence présentait 70 à 82% d'homologie avec les autres gènes *nim*, démontrant qu'il s'agissait d'un nouveau variant: *nimH*. Un fragment de 840 pb a été obtenu avec les amorces ciblant l'IS612. La PCR-mapping a mené à l'obtention d'un fragment de 1700 pb dont la séquence montrait d'une part que l'IS détectée était bien positionnée en amont du promoteur de *nimH*, et d'autre part qu'il s'agissait de l'IS614B (99.8% d'homologie) qui n'avait, jusqu'à présent, été décrite qu'associée aux gènes *cfIA* ou *cfxA*. Les résultats des tests d'hybridation suggèrent une localisation chromosomique de *nimH*. Conclusion : Cette étude décrit pour la première fois l'association de l'IS614B à un gène *nim* ainsi que la caractérisation du nouveau variant *nimH*. Absent des génomes connus de *B. fragilis*, la localisation chromosomique ainsi que l'association à une transposase soulignent le caractère transposable de *nimH* et la problématique de la dissémination d'une résistance au MTZ au sein du microbiote intestinal.

Mots-clés : *Bacteroides*, Métronidazole résistance, gène *nim*



### **P3. Screening et évaluation des propriétés antibactériennes de 12 substances naturelles sur *Pseudomonas syringae pv syringae***

Caroline Choma

ISA-Lille

Objectif : Montrer que les substances naturelles sont de bons candidats pour remplacer les désinfectants chimiques pour décontaminer la surface des végétaux

Méthodologie : Treize substances végétales (SV1 à SV13) sont testées *in vitro* en milieu liquide (Bouillon Levure-Peptone-Glucose, LPGB) et solide (LPG Agar) et sur *Pseudomonas syringae pv syringae* CFBP 1392 (Pss, Gram -). Les résultats (aromatogramme, fumigation) obtenus sur LPGA sont exprimés en pourcentage d'efficacité avec comme volumes testés : 2, 5 et 10µl. Les résultats obtenus en LPGB sont des déterminations de Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI), de Concentrations Inhibitrices de 50% de la population bactérienne (CI50) et de propriétés biocides. Résultats : Les 12 SV sont classées en termes d'efficacité. Un effet dose est constaté. Deux SV (SV6 et SV11) ont un effet inhibiteur dès 2 µl et leur inhibition est comparable (voire supérieure) au témoin, chloramphénicol. Puis leur CMI, leur CI50 et leur propriété biocides en comparaison avec le désinfectant hypochlorite de sodium (HN) ont été déterminées. Les CMI pour ces 2 SV et l'HN sont respectivement de 4.725, 5.3 et 12 mg/ml. Les CI50 estimées sont respectivement de 0.987, 0.168 et 0.309mg/ml. Les valeurs de CI50 estimées pour SV6 est 3.2 fois plus élevée par rapport à celle du désinfectant alors que pour SV11, elle est 1.8 fois plus basse que celle du désinfectant. Les 2 SV et HN sont bactéricides. De plus, les tests de synergie de ces 2 SV permettent de réduire par 30 (SV6) et par 8 (SV11) leur concentration d'emploi respective ce qui permettrait, sur le plan économique, d'envisager leur emploi comment désinfectants naturels. Discussion : Une différence de niveau de sensibilité de Pss vis-à-vis des 13 SV est remarquée et ceci est en accord avec les données bibliographiques pour d'autres bactéries à Gram - (Baydar *et al.*, 2004; Marino *et al.*, 2001; Özcan and Erkmen, 2001; Pandit and Shelef, 1994; Panizzi *et al.*, 1993). Les valeurs de CMI obtenues pour les 2SV sont cohérentes avec la littérature (Singh *et al.*, 2002). La comparaison des CI50 estimées pour les 2 SV et le désinfectant montre que SV11 est celle qui inhibe le plus Pss et à moindre dose (0.309 mg/ml) alors qu'il en faut presque 2 fois plus pour HN et 6 fois plus pour SV6. En revanche qu'aucune donnée bibliographique n'est disponible pour leur emploi en synergie. Des tests complémentaires, *in vitro*, sont en cours. Conclusion : sur les 13 SV testées, seule SV11 semble être la plus à même à remplacer l'hypochlorite de sodium, une autre alternative peut être la combinaison SV6.

Mots-clés : *Pseudomonas syringae pv syringae*, substances végétales, CMI, CI50, Hypochlorite de sodium, désinfection

Baydar, H., O. Sagdic, G. Özkan, and T. Karadogan. 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance

in Turkey. Food Control 15:169-172 Marino, M., C. Bersani, and G. Comi. 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. International Journal of Food Microbiology 67:187-195. Özcan, M., and O. Erkmen. 2001. Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices. European Food Research and Technology 212:658-660. Pandit, V.A., and L.A. Shelef. 1994. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Food Microbiology 11:57-63. Panizzi, L., G. Flamini, P.L. Cioni, and I. Morelli. 1993. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. Journal of Ethnopharmacology 39:167-170. Singh, N., R.K. Singh, A.K. Bhunia, and R.L. Strohshine. 2002. Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and Thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 35:720-729.

#### **P4. Diversité microbienne du lait au cours d'un cycle de pâturage**

Yvette Bouton(1) , Virginie Nowak(2), Philippe Guyot(1) , Nicolas Chemidlin Prévost-Bouré (3)

(1) Comité Interprofessionnel de Gestion du Comté - R&D, Bât. INRA URTAL F39800 Poligny, (2) 2UMR 1347 Agroécologie INRA - AgroSup Dijon - Université de Bourgogne F21000 Dijon, (3) UMR 1347 Agroécologie AgroSup Dijon – INRA - Université de Bourgogne F21000 Dijon

La spécificité des produits fermentés tel que les fromages au lait cru repose en grande partie sur les communautés microbiennes du lait qui leur confèrent une grande diversité sensorielle. La préservation de ces communautés microbiennes, expression du terroir, est devenue un enjeu important pour les productions fromagères AOP au lait cru tel que le Comté pour maintenir leur identité. L'objectif de ce travail était de déterminer si la composition des communautés microbiennes du lait variait au cours d'un cycle de pâturage de trois semaines et de comparer les phyla bactériens entre le lait, la surface de la peau du trayon et l'herbe de la prairie. Pendant 21 jours, un échantillon de lait de tank a été prélevé chaque jour, immédiatement après la traite du matin. Au cours de cette période de pâturage, deux prélèvements supplémentaires ont été réalisés à l'aide de lingettes stériles : un prélèvement à la surface de la peau de deux trayons opposés d'une vache laitière avant préparation de la mamelle en vue de la traite et un prélèvement à la surface de l'herbe du pâturage. La description des communautés microbiennes a été effectuée par deux approches, l'une culture dépendante (dénombrement sur milieux de culture, typage par Rep-PCR) et l'autre culture indépendante (pyroséquençage 454, Roche). Les échantillons de lait présentaient un niveau moyen de FMAR (Flore Mésophile Aérobique Revivifiable) de l'ordre de 3,5 log ufc/ml. Le nombre d'OTUs à la surface de l'herbe (473) était supérieur à celui en surface des trayons (329), lui-même supérieur à celui contenu dans le lait (67 à 260) montrant une diminution du gradient de diversité de la phyllosphère (surface de l'herbe) au trayon puis au lait. L'affiliation taxonomique des OTUs dans la base de données SILVA a permis l'identification de 257 genres dans la phyllosphère, 190 à la surface des trayons et de 43 à 172 dans les laits appartenant aux phyla Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria et Bacteroidetes. L'analyse de co-occurrence des genres bactériens du lait dans les autres compartiments montrait que 46 à 67 % des genres étaient présents à la fois dans la phyllosphère et à la surface des trayons suggérant un transfert potentiel de microorganismes de l'herbe au lait via le trayon. La mise en évidence d'une souche de *Lactobacillus paracasei* présentant le même profil Rep-PCR à la fois dans le lait et l'herbe renforçait cette hypothèse. Ceci suggère également que la conservation de la typicité des fromages au lait cru est aussi dépendante de la conservation de la diversité microbienne des écosystèmes prairiaux.

Mots-clés : Lait; diversité; Rep-PCR; pyroséquençage; AOP Comté

## **P5. Impact des conditions de température pré-analytique sur les liquides céphalo-rachidiens**

Véronique Jacomo

*Biomnis*

Les conditions pré-analytiques d'un prélèvement biologique impactent sur la qualité du résultat de l'analyse. De nombreuses recommandations de température de transport et de stockage, mais aussi de délais pré-analytiques existent, en absence de réelles études sur l'influence d'une modification de ces paramètres. Nous avons donc voulu vérifier les conséquences de différentes températures de transport et de conservation d'un prélèvement, ainsi qu'un temps de stockage pré-analytique anormalement prolongé sur les résultats de RT-PCR pour le diagnostic de maladies infectieuses sur LCR. Huit virus neurotropes ont été testés : CMV, HSV1, HSV2, VZV, JC, BKV, rougeole, Enterovirus ; et 3 bactéries potentiellement responsables d'atteinte neurologiques centrales : *Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*, et *Listeria monocytogenes*. Tous les essais ont été réalisés dans des conditions de PCR identiques, et avec des concentrations initiales faibles de microorganismes (Ct de sortie tardif entre 33 et 35). Deux températures de conservation ont été évaluées en parallèle +4°C (+/- 2°C) et -20 °C (+/-2 °C) ; et les essais ont été menés à Jo, J7, J14, J21 et J 60 de conservation des prélèvements, avec ces 2 températures différentes. Pour chaque micro-organisme, la variation des Ct au cours du temps et pour les 2 températures testées a été évaluée. Les résultats des PCR démontrent qu'il n'existe pas de différence entre les Ct de détection initiale, à conservation à +4 ou à -20°C. De même façon, un délai de conservation à Jo, J7, J14, J21 et J 60 ne modifie pas la sensibilité de la PCR. Ces résultats pourraient modifier les recommandations des conditions pré-analytiques d'un échantillon pour PCR, notamment si l'analyse doit être différée, ou si le stockage à -20°C est impossible.

Mots-clés : Température Stockage Transport Délai LCR PCR

1-JA Blow *et al* .Journal of virological methods.150: 41-44; 2008 2-Villanueva *et al*. J. Clin. Microbiol July, :2117–2119(11); 1998 3-Lehman *et al* Ann Biol Clin Nov, 67- 6; 2009

## **P6. Rapid screening of epidemiologically important *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovars by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight (MALDI-TOF) mass spectrometry.**

Frédérique Moury<sup>1</sup>, Benoît Gassilloud<sup>2</sup>, Jean-Sébastien Py<sup>2</sup>, Wilhelm Amandine<sup>2</sup>, Christine Piquet<sup>1</sup>, Viviane Morel<sup>1</sup>, Renaud Lailier<sup>1</sup> and Sabrina Cadel Six<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université PARIS-EST; ANSES; Food Safety Laboratory; *Listeria*, *Salmonella*, *E. coli* unit; Maisons Alfort, France.

<sup>2</sup> MALDI-TOF Platform; Nancy Laboratory for Hydrology; ANSES, Nancy, France.

**Introduction** In the last decade the use of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of bacteria has been successfully integrated in laboratories of clinical microbiology. This revolutionary technique allows making the diagnosis of pathogens more easily and quickly compared to conventional methods. The aim of this study was to evaluate the potential of matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for identification of epidemiologically important *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovars. Indeed conventional serotyping, which is considered the gold standard for classification of *Salmonella*, is delicate procedure that is laborious, time-consuming and expensive.

**Material and methods** Twenty strains of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* corresponding to 20 different serovars, were analyzed in 3 separate series after grow on 3 different culture medium at 36°C during 24 hours. The mass spectrometry MALDI-TOF identification was realized with a Microflex LT® (Bruker Daltonics) after proteomic extraction with ethanol, formic acid and acetonitrile. To explore the impact of the extraction procedure on the spectra generated, either isolated colonies or aggregate colonies were used separately for the proteomic extractions. The volumes of the chemical products used for the extractions were adapted within the range required by the provider and 8 sample deposits for each strain were carried out in 96 microwells plate. The HCCA matrix (Acide  $\alpha$ -cyano-4-Hydroxycinnamique), was used for all the analyses and especially prepared during each series of analyses to avoid an aging effect. The 8 deposits were run 4 independent times to acquire 32 spectra for each strain in analytical reproducibility requirement. An operator effect was included in the analytical sequence to include a possible bias related to the preparation. Reference spectra for each serovars and medium tested were generated using Flex analysis® software and store in a specific data base (DB). The spectra analysis and their comparison were operated using Maldi Bioyper™, and Clinprotool® software. To test the robustness of the data base (DB) built and the reproducibility of the protocol developed blind tests were realized. Results ANSES Laboratory of Nancy (France) developed a data base (DB) of spectra of 20 strains of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* corresponding to 20 different serovars, the most frequently isolated in France. The results obtained show that it is possible to fast identify the serovars which presented characteristic spectra as *S. Senftenberg*, *S. Agona*, *S. Tennessee* or *S. Napoli*. For others serovars the discrimination is more complex and needs mathematical algorithms for the discovery of specific biomarkers. Repeatability and reproducibility assays are necessary to avoid

misinterpretation. Conclusion. First results on the 20 serovars analyzed show that MALDI-TOF mass spectrometry could be a rapid method for prescreening *S. enterica* subsp. *enterica* to identify epidemiologically important serovars. However discrimination between serovars requires exploring the presence or absence of specific biomarker-peaks and should integrate analysis of reproducibility to avoid false interpretation. Impact of the media used for the culture of the bacteria will be also included in the study in the aim to enhance reliability of the serotypes discrimination scheme.

Mots-clés : *Salmonella*, MALDI-TOF, characteristic spectra, prescreening

## **P7. OXA-48-like substrate specificity: everything in the $\beta$ 5- $\beta$ 6 loop**

Laura Dabos(1) , Remy Bonnin(1) , Laurent Dortet(1) , Bogdan Iorga(2), Thierry Naas  
(1) APHP-UPSud-Institut Pasteur, (2) CNRS-ICSN

Background: The emergence of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) has become a major public health concern. Among these CPEs, OXA-48-producing *Enterobacteriaceae* have now widely disseminated throughout European countries. OXA-48 confers high-level resistance to penicillins, including temocillin and hydrolyzes carbapenems at a low level, but spares extended-spectrum cephalosporins. Since the first identification of OXA-48, different variants have been reported, differing by few amino acid substitutions or deletions mostly in the region of the  $\beta$ 5- $\beta$ 6 loop. Whereas some OXA-48-variants with single amino acid substitutions in this loop have similar hydrolytic activities as OXA-48, others such as OXA-163 or OXA-405, have deletion that result in loss of carbapenem-hydrolysis and in gain of expanded-spectrum cephalosporin hydrolysis. A major difference was observed in the orientation and size of the  $\beta$ 5- $\beta$ 6 loop, which appeared to be similar in OXA-24 and OXA-48 but different from that of OXA-10 and other class D  $\beta$ -lactamases, suggesting its possible involvement in carbapenem hydrolysis. Objective: In order to gain further insights into the different hydrolytic profiles of CDHLs, we analyzed the importance of the  $\beta$ 5- $\beta$ 6 loop of oxacillinases on their hydrolysis profile. Material/methods: We performed site-directed mutagenesis in the  $\beta$ 5- $\beta$ 6 loop, in order to delete one to six amino acids in both directions. The phenotypical changes after the deletions were assessed by susceptibility testings and minimal inhibitory concentration (MIC) determination, following EUCAST recommendations. The enzymes corresponding to the different mutants were purified and the kinetic parameters for beta-lactams determined. X-ray crystallography and molecular modeling were performed on the most interesting variants. Results: Structural and biochemical studies revealed the essential role of the  $\beta$ 5- $\beta$ 6 loop. Progressive deletions experiments in the loop revealed key amino acids involved in carbapenem and 3GC hydrolysis. When we compare the MIC values for Imipenem with the one for OXA-48, they decreased in relation with the length of the deletion. With Ertapenem and Meropenem we observed decreased in the MIC values but we cannot make a correlation between the length of the deletion and the decrease of the MIC values. In contrast, the MIC values for Ceftazidime increased obtaining the highest values with 3 and 4 amino acid deletion: Four amino-acid deletions are characterized by loss of carbapenem-hydrolysis and gain of 3GC hydrolysis. The kinetics parameters were analyzed and significant differences were observed as compared to those of OXA-48. Conclusions: Our results demonstrated the critical role of the  $\beta$ 5- $\beta$ 6 loop in the substrate specificity of OXA-48. The plasticity of this loop provides OXA-48 with a tremendous evolutionary potential. Modifications of this loops, close to the enzyme active site could be recognized as a factor contributing to the evolution or diversification of enzyme function within a family of structurally related proteins.

Mots-clés : carbapenemase, structure function relationship



## **P8. Isolement et caractérisation des souches d'actinomycètes susceptibles de produire des substances bioactives**

*Hasnaa Ayoubi*(1) , *Mohammed Menggad*(2)

(1) *Laboratory Of Pathophysiology And Molecular Genetics, Faculty Of Sciences Ben M'Sick, University Hassan li Of Casablanca, Casablanca, Morocco*, (2) *Laboratoire de Physiopathologie et Génétique Moléculaire, Faculté des Sciences Ben M'sik, Université Hassna II, Casablanca, Maroc*

Objectifs : Les actinomycètes sont des bactéries Gram+ et sporulées dont les cellules forment un mycélium. En culture solide, la colonie rugueuse formée par la croissance du germe est subdivisée en mycélium de substrat enfoncé dans le milieu et en mycélium aérien situé au dessus du milieu. Parmi les actinomycètes, le genre *Streptomyces*, est le meilleur producteur de métabolites secondaires biologiquement actifs. Ce genre bactérien est à l'origine d'environ 70 % des molécules actives produites à l'échelle industrielle pour les applications pharmaceutiques. Afin d'isoler des souches productrices de molécules avec des structures et des activités originales à des fins thérapeutiques, plusieurs travaux sont dirigés vers la recherche de souches rares dans des environnements extrêmes. D'autres types de recherches s'intéressent à la production de molécules hybrides par manipulation génétique et/ou chimique. Notre projet s'inscrit dans ce dernier type de recherche. L'objectif de notre travail, à long terme, est le développement des techniques liées à la biologie moléculaire des actinomycètes dans le but de construire des souches capables de produire des molécules hybrides bioactives. Pour ce faire, l'isolement d'une population de souches polymorphes et son étude constituent une étape obligatoire. Matériel et méthodes : Echantillonnage: Trois échantillons du sol de la région de Rabat ont été prélevés pour l'isolement des actinomycètes. Ils ont été prélevés selon une technique dérivée de celle de Pochon et Tardieux. Milieux de culture : Les cultures des isolats ont été faites sur les milieux Kuster amidon et GLM pour l'isolement et sur des milieux spécifiques ISP (International Streptomyces Project) pour la purification et la production des pigments. Recherche de l'activité antibactérienne des souches actinomycétales isolées: Les tests d'activités antibactériennes sont réalisés par la méthode des disques d'agar et celle des puits sur des souches tests d'*Escherichia coli*, de *Klebsiella*, d'*Entérobacter*, de *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus leutus* et de *Staphylococcus ATCC*. Ces tests ont été réalisés sur le milieu Muller Hinton. Recherche de l'activité anti-actinomycétale : A partir des cultures en milieu ISP2 liquide, les substances bioactives produites par les isolats ont été extraites par le chloroforme à partir du surnageant et du culot de la culture. Des disques de papier ont été imbibés par les extraits de la phase aqueuse, de la phase du chloroforme et de l'extrait chloroformique du culot, et ont été déposés sur une nappe de la souche d'actinomycètes à tester. Production des pigments: ü Pigments mélanoides: pigments bruns ou noirs diffusibles, leur mise en évidence est réalisée en cultivant les souches d'actinomycètes sur le milieu ISP6. ü Autres pigments: pigments

diffusibles ou non diffusibles, autres que mélanoides produits sur n'importe quel milieu (ISP1, ISP2, ISP4). Extraction des pigments: Le mycélium des souches d'actinomycètes, caractérisées par la production des pigments, obtenu à partir des cultures en milieu ISP4 liquide est utilisé pour l'extraction du pigment avec l'éthanol absolu ou le chloroforme. Résultats : 38 souches d'actinomycètes ont été isolées et se distinguent les unes des autres par des aspects macroscopiques et microscopiques. Toutes les souches isolées se caractérisent par la production des substances diffusibles dans les milieux de culture utilisés et seulement sept isolats ont la propriété de synthétiser des pigments mélanoides. Parmi les 38 isolats 6 souches ont montré une activité contre au moins une bactérie test et 4 souches ont montré une activité contre les actinomycètes utilisées. Six de nos souches sont capables de produire des pigments de couleur rouge et avec un spectre dont le maximum d'absorption est situé à environ 534 nm. Les 6 extraits sont positifs au test acide-base de changement de couleur. La caractérisation préliminaire de ces pigments semble indiquer qu'ils sont des analogues de la prodigiosine. Cette dernière est une molécule avec trois noyaux pyrrolo isolée chez *Serratia marcescens*. Elle présente une couleur rouge en milieu acide et devient jaune en milieu basique. Son spectre d'absorbance présente un maximum à 534 nm et présente des activités antibactériennes, anticancéreuses et immunosuppressives. Conclusion : Toutes les 38 souches isolées appartiennent au groupe des actinomycètes. Bien que, seulement, six souches présentent des activités antibactériennes et quatre souches présentent des activités anti-actinomycétales, l'analyse phénotypique révèle un grand polymorphisme qui pourrait se refléter sur le polymorphisme de substances actives. Les six analogues possibles de la prodigiosine sont positifs au test acide-base de la prodigiosine. De plus, ils présentent tous un maximum d'absorption situé à environ 534 nm. Les perspectives envisagées de notre recherche: • L'identification complète des souches d'actinomycètes isolées et purifiées par des techniques chimiotaxonomiques et moléculaires. • Optimisation des paramètres culturels afin d'améliorer la production des antibiotiques. • Etude structurale et identification complète de chacune des molécules bioactives produites par le biais des techniques chromatographiques. • Evaluation de l'activité des substances bioactives produites par les isolats sur des actinomycètes pathogènes. • Evaluation de la cytotoxicité des molécules purifiées et éventuellement sur des lignées cellulaires cancéreuses.

Mots-clés : actinomycètes, activité antibactérienne, pigments mélanoides, analogues de prodigiosine

## **P9. Premier cas de *Klebsiella variicola* co-productrice de CTX-M-14 et TEM-1**

Marie-Françoise Prère(1) , Alexandre Dieudonné(2), Laurent Cavalié(1) , Francis Laboudie(2)

(1) CHU Toulouse, (2) Laboratoire des Cèdres

Dans le cadre du dépistage systématique des entérobactéries productrices de betalactamase à spectre élargie dans les prélèvements fécaux chez les patients hospitalisés en service de réanimation, nous avons isolé en juin 2015 une *Klebsiella pneumoniae*. L'étude précise de l'isolat par séquençage du gène de l'ARNr 16S a révélé qu'il s'agissait d'une *K. variicola* (Kv). Les PCR spécifiques des gènes de résistance blaTEM, blaCTX-M, blaSHV, blaOXA ont été effectuées en utilisant une technique maison. Deux gènes ont été détectés : blaTEM et blaCTX-M. Leur séquençage a montré qu'il s'agissait de TEM-1 et CTX-M-14. Kv est une espèce isolée fréquemment de différentes plantes. Sa proximité taxonomique avec *K. pneumoniae* (Kp) rend la distinction entre les deux espèces difficile. Elle n'est pas (ou mal) reconnue par les tests d'identification de routine: système Vitek2 (bioMérieux), Spectrométrie de masse. L'acidification de l'adonitol (rapportée comme test discriminant positif pour Kp et négatif pour Kv) s'est avérée non spécifique. Une étude chinoise a montré que 20% des *Klebsiella* identifiées Kp étaient des Kv. De façon intéressante la betalactamase CTX-M-14 a été fréquemment décrite en Chine. Notre étude montre l'importance des déterminations précises : identification d'espèce et des gènes de résistance aux betalactamines à l'aide du séquençage, en particulier lors des surveillances épidémiologiques.

Mots-clés : *Klebsiella variicola*; séquençage gene ARN16S; blaCTX-M-14

## **P10. Sélection de milieux de culture pour évaluer les effets pré/probiotiques**

*Cynthia Helou*(1) , *David Marier*(2), *Veronique Rame*(2), *Pascale Gadonna-Widehem*(2)  
(1) USJ, (2) Institut Polytechnique LaSalle Beauvais

Il est difficile de qualifier les populations microbiennes constituant le microbiote intestinal par microbiologie pasteurienne. Néanmoins, à ce jour, lorsque l'on veut qualifier un effet prébiotique ou la survie d'un probiotique dans le tractus intestinal, les techniques basées sur la cultivabilité des bactéries restent intéressantes. L'objectif de ce travail était d'évaluer et d'améliorer la sélectivité des milieux de culture pour les bifidobactéries à l'aide de souches pures puis d'en tester l'efficacité sur des milieux complexes tels que les fèces. Différents milieux de culture (Beerens, Wilkins-Chalgren, Man-Rogosa-Sharpe modifié ou BSM) ont été mis en oeuvre en présence de différentes bactéries (contrôles négatifs et positifs) afin de sélectionner les milieux les plus appropriés pour la culture in vitro. L'addition de mupirocine a été évaluée. Ces milieux ont ensuite été incubés en jarre de Gaspak et/ou en enceinte anaérobie. En parallèle, des échantillons de fèces ont été incubés en présence d'inuline afin d'évaluer le caractère bifidogène de cette fibre. Le milieu Beerens souvent répertorié comme le milieu le plus adapté pour isoler ou dénombrer les bifidobactéries ne présente pas un caractère sélectif suffisant. De même, le milieu Wilkins-Chalgren supplémenté avec de la mupirocine, ralentit la croissance de *Bacteroides uniformis* mais permet la croissance de *Blautia coccoïdes*. Le milieu BSM présente le meilleur caractère sélectif tout en maintenant une bonne quantification de bifidobactéries en culture pure. Lors de la supplémentation de cultures fécales avec de l'inuline, nous avons constaté une surestimation des bifidobactéries sur milieux Beerens et Wilkins-Chalgren liées à la présence d'autres genres tels que *Bacteroides* par exemple. Le milieu Man-Rogosa-Sharpe modifié (mupirocine, cystéine) a donc été retenu pour évaluer l'effet potentiellement bifidogène des prébiotiques ou pour la quantification des bifidobactéries en tant que probiotiques après passage dans le tractus intestinal.

Mots-clés : Milieux de culture, pré/probiotique

### **P11. Brucellose canine au Brésil : existence d'une lignée autochtone**

Acacia Ferreira Vicente(1), Yannick Corde(1), Ludivine Perrot(1) , Mateus De Souza Ribeiro Mioni(2), Bruna Leticia Devide Ribeiro(2), Maryne Jay(1), Jane Megid(3), Virginie Mick(1)

(1) Université Paris-Est-ANSES, Laboratoire de Santé Animale, Unité Zoonoses Bactériennes, CNR Brucella, Laboratoire de Référence National et UE/OIE/FAO pour la Brucellose Animale, Maisons-Alfort, (2) Molecular Biology Laboratory, Dep. of Veterinary Hygiene and Public Health, FMVZ, UNESP, Botucatu, Brazil, (3) Molecular Biology Laboratory, Dep. of Veterinary Hygiene and Public Health, FMVZ, UNESP, Botucatu, Brazil.

La brucellose, zoonose majeure mondiale due à *Brucella*, impacte fortement la santé publique et animale. Sa classification est principalement basée sur les caractères phénotypiques et la préférence d'hôte. La brucellose canine est causée par *B. canis* (BC). Cette maladie reste endémique dans de nombreuses régions, en particulier en Amérique et en Asie, et sporadiquement signalée en Europe. La MLVA-16 (Multiple-Locus VNTR Analyse) est la stratégie optimale de génotypage des *Brucella* pour les enquêtes micro/macro-épidémiologiques. Elle repose sur 16 marqueurs génétiques, reflétant différents taux d'évolution. Bien que BC soit considérée comme zoonotique, son importance en santé publique n'est pas claire et sa présence dans le monde semble sous-estimée chez les humains, comme chez les animaux. Le but de cette étude était d'évaluer la diversité génétique des souches BC isolées à São Paulo (Brésil) et identifier leurs relations épidémiologiques au niveau international. Un total de 64 souches animales et humaines de *Brucella* isolées au Brésil et en Europe (1996-2011) a été caractérisé phénotypiquement et analysé par MLVA-16. Les résultats obtenus ont été comparés avec des génotypes préalablement publiés de souches BC (n = 75) isolées en Europe, Amérique du Nord, Asie. L'indice de diversité Hunter-Gaston (HGDI) a été déterminé afin d'évaluer la MLVA-16 comme outil de typage, pour l'épidémiologie de BC. Les souches présentaient un profil phénotypique attendu comme BC, mais les approches moléculaires confirmaient *B. canis* pour seulement 54 souches. Les analyses moléculaires montraient que les souches de l'état de São Paulo présentaient des profils MLVA similaires, suggérant la présence d'un clone dominant dans la région ou une origine commune de contamination. De façon intéressante, les souches du cluster « São Paulo » divergeaient des souches de la région sud du Brésil, identifiant ainsi différents groupes géographiques selon les régions, en accord avec les caractéristiques géographiques du pays. De plus, des analyses globales montraient que les souches BC à travers le monde se distribuaient en 3 groupes distincts: Brésil, Europe et Asie. Bien que les valeurs HGDI pour chaque marqueur génétique montraient un défaut informatif discriminant pour 12 des loci étudiés, nos résultats confirmaient que la MLVA-16 est adéquate pour des études épidémiologiques des infections BC. Ce travail est la première étude moléculaire concernant des souches BC

circulant au Brésil, offrant de nouvelles perspectives sur sa situation épidémiologique.

**P12. Antimicrobial and pro-inflammatory activities of cationic antimicrobial peptides**

Régina Geitani(1) , Carole Ayoub Moubareck(2), Charlotte Abrial(3), Lhousseine Touqui(3), Dolla Karam Sarkis(4)

(1) Microbiology laboratory, School of Pharmacy, Saint-Joseph University, Beirut, Lebanon 2Rodolphe Mérieux Laboratory, Beirut, Lebanon, (2) Microbiology laboratory, School of Pharmacy, Saint Joseph University, Beirut, Lebanon Rodolphe Mérieux Laboratory, Beirut, Lebanon Department of Natural Science and Public Health, College of Sustainability Sciences and Humanities, Zayed University, Dubai, United Arab Emirates, (3) Équipe Infection Pulmonaire et Mucoviscidose, Institut Pasteur, Paris, France , (4) Microbiology laboratory, School of Pharmacy, Saint Joseph University, Beirut, Lebanon Rodolphe Mérieux Laboratory, Beirut, Lebanon

As the development of antibiotic resistance has been progressive and relentless worldwide, the use of Cationic Antimicrobial Peptides (CAMPs) to combat microbial challenges may be a solution. The aim of this study is to investigate the in vitro antimicrobial activities of three CAMPs (human cathelicidin LL-37, magainin-II and nisin) against clinical and laboratory strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. The minimal inhibitory concentration (MIC), the minimal bactericidal concentration (MBC) and the effect of increasing concentrations of these CAMPs on bacterial survival were determined using the microbroth dilution technique. To examine whether these CAMPs have deleterious effects on host cells, LDH-based cytotoxicity percentages were determined in human bronchial epithelial cell lines (A549 and IB3-1) at various concentrations of LL-37 and magainin-II. The in vitro pro-inflammatory activities of LL-37 and magainin-II were examined by measuring the level of chemokines and cytokines interleukins (IL) IL-8 and IL-6 released in cell culture supernatants using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results of the in vitro antimicrobial activities of the studied CAMPs showed that the MIC values ranged between 32 µg/ml and >128 µg/ml. The MBC values were either equal or two-fold greater than the MIC values. A dose-dependent reduction in bacterial viability was observed with the CAMPs tested. The LDH-based cytotoxicity assay indicated that cells exposure to LL-37 and magainin-II at bactericidal concentrations had minimal cytotoxic effect. Concerning the inflammatory pathways, in IB3-1 cell line, LL-37 induced a significant release of IL-8 and IL-6 at 48 hours of treatment while these effects were not detected with magainin-II. In A549 line, LL-37 induced mostly IL-8 release, while magainin-II had no significant induction of IL-8 or IL-6 release. In conclusion, the tested CAMPs demonstrated potent antimicrobial effects on both laboratory and clinical bacterial strains and exerted pro-inflammatory actions on host cells with minimal toxic effects. These observations reveal that CAMPs might represent alternative tools to fight antibiotic resistant bacteria in the future.

### **P13. Modèle ex vivo d'infection placentaire à CMVH : Efficacité des antiviraux et profils cytokiniques.**

Déborah Andouard(1), Stuart Hamilton(2), Lucie Morère(1), Yves Aubard(3), Sébastien Hantz, William.D Rawlinson(2), Sophie Alain(1)

(1) University of Limoges, Inserm U1092, Limoges, France, (2) Virology Division, SEALS Microbiology Prince of Wales Hospital and SOMS, BABS UNSW, Randwick, Australia, (3) CHU de Limoges, Gynecology-Obstetrics Department, Limoges, France

Introduction : Le cytomégalo virus humain (CMVH) est un virus mondialement répandu impliqué dans des pathologies sévères lors d'infection congénitale. Le développement de modèles d'explants placentaires permet de mieux comprendre les mécanismes de l'infection à CMVH lors de la grossesse. Nous avons testé l'impact de différents antiviraux utilisés en thérapeutique dans des explants placentaires issus de 1er trimestre ou de 3ème trimestre. Nous nous sommes également intéressés à l'expression de trois cytokines pro-inflammatoires TNF- $\alpha$ , CCL2 (MCP-1), CXCL10 (IP-10) dans les tissus et surnageants issus d'explants de ces deux trimestres. Matériels et méthodes : Les explants placentaires ont été infectés avec la souche AD169 pendant 5 jours avant l'administration des molécules antivirales. Le ganciclovir (GCV), le foscarnet (FOS) et le maribavir (MBV) ont été testés aux concentrations de 0,1x CI50, 1x CI50 et 10x CI50 (Concentration inhibitrice 50% (CI50) préalablement déterminée in vitro). Les surnageants de culture et les explants sont prélevés à J+4, J+7, J+10 et J+13 post-traitement. L'impact des antiviraux sur la charge virale a été mesuré aux différents points de prélèvement. La mesure des ARNm des différentes cytokines a été réalisée par qRT-PCR, et leur quantification dans les surnageants a été effectuée via le kit Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 27-plex Assay (Biorad). Résultats : Les antiviraux inhibent à plus de 80% la charge virale dans les explants placentaires de 1er trimestre. Dans les explants placentaires de 3ème trimestre, l'efficacité du GCV à 0.25 $\mu$ M est moindre (10% d'inhibition à J+13), tandis qu'aucune inhibition par le MBV à 50nM n'est observée. Les résultats préliminaires sur l'expression relative des cytokines par les placentas infectés montrent une forte expression des trois cytokines dans les tissus des explants de troisième trimestre, tandis qu'au premier trimestre, seule l'expression relative des ARNm de TNF- $\alpha$  augmente. Dans les surnageants, on observe une concentration plus élevée des trois cytokines dans les explants non infectés de 1er trimestre. L'infection par l'AD169 augmente les concentrations de IP-10 et TNF- $\alpha$  dans les surnageants des explants infectés de 1er trimestre, tandis que seules les concentrations d'IP-10 augmentent dans les surnageants d'explants de 3ème trimestre. Conclusions : Notre modèle d'explants placentaires confirme la différence d'infection par le CMVH et d'efficacité antivirale au premier et troisième trimestre de grossesse, ainsi que le profil pro-inflammatoire du 1er trimestre de grossesse.

Mots-clés : Cytomegalovirus, placenta, ex vivo, cytokine



#### **P14. Résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infection urinaire communautaire**

Farida Sahli(1) , Nadia Radji(1) , Wahiba Mezaghcha(1) , Widad Sadoune(2), Meriem Osmani(2)

(1) faculté de médecine, université Sétif1, (2) Laboratoire de microbiologie, CHU Sétif

**Introduction** Les infections urinaires sont fréquentes en pratique de ville. Les entérobactéries sont les agents les plus rencontrés dans ces infections. L'étude périodique de leurs sensibilités aux antibiotiques revêt une grande importance pour instaurer des stratégies thérapeutiques adéquates et également pour limiter la résistance aux antibiotiques. L'objectif de notre étude est d'étudier les résistances aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infection urinaire communautaire.

**Matériels et méthodes** Notre étude est une étude rétrospective sur 04 ans (2010-2013), portant sur les souches d'entérobactéries isolées des infections urinaires communautaires au laboratoire de microbiologie du CHU de Sétif, Algérie. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée par antibiogramme standard et par l'automate Walk Away® (Dade Behring) selon les recommandations du CLSI.

**Résultats** Les entérobactéries représentent 84 % du total des agents pathogènes isolés avec un nombre de souches de 1385. Ces souches sont isolées surtout chez des adultes jeunes (52 %) et de sexe féminin (66 %). *Escherichia coli* est l'espèce la plus isolée (70,4 %) suivie de *Klebsiella pneumoniae* (13,2 %). Les résistances des entérobactéries aux antibiotiques sont de : 79,5 % à l'ampicilline, 36,6 % à l'association amoxicilline clavulanate, 33,4 % à la céfazoline, 12,7 % aux céphalosporines de 3e génération (C3G), 12 % à la gentamicine, 19,4 % à la ciprofloxacine, 33,6 % au cotrimoxazole et 1,3 % à la fosfomycine. Les résistances d'*E. coli* sont de 75,8 % à l'ampicilline, 34,2 % à l'association amoxicilline clavulanate, 31,5 % à la céfazoline, 7,7 % aux C3G, 37,2 % au cotrimoxazole et 20,5 % à la ciprofloxacine. *K. pneumoniae* est plus résistante aux C3G : 26,5 % par production de bêtalactamase à spectre élargi (BLSE).

**Conclusion** Certains antibiotiques ne sont plus à utiliser dans un traitement probabiliste de l'infection urinaire communautaire. Il s'agit surtout de l'ampicilline, l'association amoxicilline clavulanate, la céfazoline et le cotrimoxazole. Les antibiotiques recommandés sont la fosfomycine en cas d'infection urinaire simple, les aminosides, les C3G en faisant attention au risque d'infection par *K. pneumoniae*. Nous ne recommandons l'utilisation de la ciprofloxacine que pour les infections urinaires compliquées avec preuve de sensibilité par antibiogramme.

Mots-clés : infection urinaire communautaire, entérobactéries, résistance

## **P15. Dépistage des mammites subcliniques des vaches laitières au nord est algérien, résultats de la bactériologie et résistance aux antibiotiques**

Zahida Boufaïda Asnoune

DÉPARTEMENT DES SCIENCES VÉTÉRINAIRES- FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE - UNIVERSITÉ CHADLI BENDJEDID EL TARF, ALGERIE

Cette étude avait pour but d'évaluer la fréquence des mammites subcliniques et d'identifier les bactéries responsables de ce type de mammite. Pour cela, des analyses bactériologiques de deux cent trente-cinq prélèvements de lait de vaches laitières atteintes de mammites subcliniques dépistés par le Californian Mastitis Test (CMT), provenant de dix exploitations du Nord Est Algérien ont été réalisées sur une période de deux ans. L'étude bactériologique a permis l'isolement de 228 souches bactériennes. Les coques Gram positifs ont été les plus fréquents, notamment des Staphylocoques coagulase négatifs (43%) et *Staphylococcus aureus* (30%). *Escherichia coli* a été isolé avec une fréquence de (14, %). Les autres germes isolés sont *Streptococcus uberis* (4%), *Streptococcus agalactiae* (3%) et *Streptococcus dysgalactiae* (3%). L'isolement de *Klebsiella* sp. est plus rare (2%). Les infections uniques sont majoritaires et correspondent à (58,1%) des isollements. Dans les infections multiples, *Staphylococcus aureus* est le germe le plus souvent isolé en association avec un autre pathogène, ce qui montre la prédominance du réservoir mammaire (79%). Le réservoir environnement n'est pas à négliger. L'étude des profils de sensibilité aux antibiotiques des bactéries a montré des fréquences de résistance élevées vis-à-vis de la pénicilline G, l'ampicilline, l'oxacilline, la tétracycline, la lincomycine et spiramycine

Mots-clés : Vache laitière, (CMT), Mammite subclinique, Analyse Bactériologique, Antibiorésistance

## **P16. Vérification du paramétrage des résultats présomptifs d'une infection urinaire sur l'IQ200**

Florent Tomasi(1) , Nadia Flastischler(2)

(1) LBM Biorylis, (2) LBM Vialle

Objet de l'étude : Mise en place un algorithme décisionnel permettant d'évaluer le risque d'une infection urinaire en moins de 2h sur l'automate IQ200 de Beckman Coulter. La validation du paramétrage de ces règles d'expertises dans le Système informatique du laboratoire (SIL) a été réalisée en respectant les exigences normatives de la NF EN ISO 15189 v 2012 et du guide technique d'accréditation n°02 (GTA n°2). Matériel et méthodes : Une étude bibliographique a été menée à partir de l'article « Detection of significant bacteriuria by use of the IQ200 automate urine microscope » JCM. 2014, 52 (8) : 2855.DOI: 10.1128/JCM.00112-14. Il a permis d'établir 3 types de conclusion selon la quantification des hématies, des leucocytes du compte de petite particule et de la présence ou non de bactéries selon l'IQ200. La concordance de ces conclusions avec notre patientèle (400 ECBU) à été de 84,3% Des règles d'expertises ont été paramétrées dans le SIL selon ces 4 critères par retour informatique à partir de l'automate. Chacune de ces 55 règles a été vérifiée. La traçabilité a été assurée par des impressions d'écran et le tout a été colligé dans un dossier de vérification de méthode propre. Résultats obtenus : Les conclusions obtenues à partir de l'étude ont été les suivantes : -Cytologie en DEFAVEUR d'une infection urinaire. Valeur prédictive négative de 98,9%, à confirmer par culture. -Cytologie DOUTEUSE à confronter au résultat des cultures. -Cytologie COMPATIBLE avec une possible infection urinaire. Valeur prédictive positive de 61%, cultures en cours. Il faut cependant garder à l'esprit les limites d'un tel algorithme à 4 paramètres : Absence du contexte clinique, de quantification du germe, possibilité de culture pluri-microbiennes, non prise en compte d'une antibiothérapie éventuelle... Ces éléments sont cependant récupérés au moment de l'enregistrement du dossier, sur un document spécifique, et scannés dans le dossier patient. L'ensemble de ces informations permet au biologiste médical d'optimiser sa prestation de conseil. La vérification du paramétrage des règles d'expertise, au préalable de son utilisation, a permis la mise en évidence d'une erreur de saisie aboutissant à un commentaire erroné. Après modification la mise en production du système a pu avoir lieu en toute sécurité. Conclusion : Dans une démarche d'amélioration continue ces 2 étapes ont permis un rendu de résultat présomptif en 2h permettant une progression de la prestation de conseil (mise en place de traitement probabiliste, optimisation de l'organisation des blocs chirurgicaux...) tout assurant une bonne gestion des informations du laboratoire (chap 5.10 de la Norme ISO 15189 V2012).

Mots-clés : vérification de méthode, ISO 15189, GTA 02, informatique, prestation de conseil, ECBU, IQ200

« Detection of significant bacteriuria by use of the IQ200 automate urine microscope » JCM.

## **P17. Analyse des résistances des souches du MTBC isolées au Sénégal**

Carine Laurence Yehouenou

Laboratoire bactériologie HALD

Objectifs de l'étude : Principal : Caractériser les gènes de résistance des souches de *Mycobacterium tuberculosis* isolées en 2012 à l'hôpital Aristide Ledantec. Spécifiques : Tester les sensibilités phénotypique (MGIT 960) et génotypique (MTBDR plus) des souches. Comparaison entre les résultats des méthodes phénotypiques et génotypiques. Matériels et méthodes Les étapes suivantes ont été respectées pour chaque échantillon. Examen microscopique au Ziehl Nielsen. Décontamination par la méthode de KUBICA. Le culot de décontamination a été utilisé pour la culture sur milieu solide LJ. Les souches isolées ont servi à faire l'antibiogramme sur milieu liquide (MGIT 960) et le test de sensibilité moléculaire aux antituberculeux a été réalisé par le test MTBDR plus. Résultats 1560 échantillons avaient été obtenus auprès de 780 patients. 102 cultures étaient positives. Ces sujets étaient constitués de 58% d'hommes et 42% de femmes avec un sex ratio de 1,37. L'âge moyen était de 33 ans et les extrêmes allaient de 10 mois à 82 ans. Les nouveaux cas représentaient environ 81% de la population contre 19% de patients en retraitement. Par ordre de fréquence décroissante les expectorations représentaient le produit pathologique le plus utilisé. Viennent ensuite les liquides de tubage, les pus, et très peu de prélèvements urinaires. L'ABG faite sur le MGIT 960 AST SIRE a permis de noter une mono résistance fréquente pour l'isoniazide (26%) suivie de celle à la streptomycine (19%). Environ 15 souches présentaient une résistance simultanée à l'INH et à la RMP. Sur ces 15 souches phénotypiquement résistantes seulement 6 cas de résistances se sont vérifiés avec le MTBDR plus. Les codons et régions retrouvés sont essentiellement le *rpoB* (D516V) pour la Rifampicine. Et pour l'isoniazide, les résistances de haut niveau représentées par le *KatG* (S315T) et de bas niveau tel que l'AC15T. Les plus jeunes sont les plus touchés par les MDR de même que les hommes mais sans différence significative. Conclusion La tuberculose demeure une préoccupation surtout face à l'émergence des bacilles multi résistants. Les résistances génotypiques non confirmées au MTBDR plus feront l'objet d'un séquençage.

Abréviations : ABG : Antibiogramme - MDR : Multi Drug Resistance - MTBDR plus : *Mycobacterium tuberculosis* Drug Resistance - MTBC : Complexe du *Mycobacterium Tuberculosis* - MGIT 960 : *Mycobacterium* Grow Indicator Tube - LJ : Loweinsten-Jensen (milieu de culture solide)

Mots-clés : Tuberculose , bacilles multi résistants, MTBDRplus

**P18. Coinfection : dengue et paludisme à plasmodium falciparum propos d'un cas.**

*Med Lemine Ould Salem(1) , Sid El Wafi Baba(2), Sidi Med Ghaber(2), Abdelwedoud Mokhtar(3), Med Mahmoud Maouloud(4)*

(1) FACULTE DE MEDECINE DE NOUAKCHOTT ET CHN, (2) FACULTE DE MEDECINE DE NOUAKCHOTT-CHN, (3) CENTRE HOSPITALIER NATIONAL DE NOUAKCHOTT, (4) CENTRE HOSPITALIER NATIONAL

Nous décrivons l'état d'une patiente admise au service de médecine interne du Centre Hospitalier National de Nouakchott pour prise en charge d'une coinfection : paludisme à plasmodium falciparum et la dengue. Il s'agit d'une patiente de 39 ans originaire et demeurant à Nouakchott qui nous a été évacuée du centre de santé de Tayarett (Nouakchott) dans un tableau de fièvre intermittente, céphalées ; frissons et sueurs profuses... L'examen clinique retrouve un pâleur cutanéomuqueux et un subictère, le reste de son examen clinique est sans particularité particulièrement pas d'organomégalie ni signes de déshydratation. La goutte épaisse et le frottis mince étaient positifs avec plasmodium falciparum, la sérologie de la dengue montrait la présence de l'AgNS<sub>1</sub>, la présence des IgM et l'absence des IgG, ces dernières se sont par la suite positivées 5 jours plus tard concomitamment avec la disparition de l'Ag NS<sub>1</sub>. La patiente a bien évolué sous traitement antipaludéen parentéral ainsi qu'un traitement symptomatique, et est libérée du service après une semaine d'hospitalisation sous un traitement de relais pers os.

Mots-clés : paludisme, dengue, Nouakchott

**P19. La fièvre de la vallée du Rift d'évolution fatale : à propos de 2 cas**

*Med Lemine Ould Salem(1) , Sid El Wafi Baba(2), Ghaber Sidi Med(1) , Abdelwedoud Mokhtar(3)*

*(1) FACULTE DE MEDECINE DE NOUAKCHOTT ET CHN, (2) FACULTE DE MEDECINE DE NOUAKCHOTT ET CHN, (3) CHN*

Nous décrivons les caractéristiques clinico-biologiques de deux patients admis au service de médecine interne du centre hospitalier national de Nouakchott en octobre 2015, pour prise en charge d'un syndrome hémorragique (épistaxis, gingivorragies, hématomèse...) dans un contexte fébrile. Le diagnostic de la fièvre de la vallée du Rift a été confirmé par PCR chez les 2 patients, et la recherche du génome viral des autres virus hémorragiques (Crimée –Congo, West Nile, Ebola, Zika, Dengue et Chikungunya) était négative. Les 2 patients sont décédés dans un tableau de choc hémorragique.

Mots-clés : vallée du Rift, fièvre hémorragique, Nouakchott, Mauritanie

## **P20. Etude rétrospective sur la tuberculose bovine au niveau de l'Est Algérien**

Nora Benrachou(1) , Seloua Morsli(2), Latifa Merdaci(3), Zahida Asnoun(4), Farida Bouzebda -Afri(5)

(1) Université Chadli Bendjedid , (2) Université Chadli Bendjedid / El-Tarf / Algérie, (3) Université Chadli Bendjedid / RI-Tarf / Algérie, (4) Université Chadli Bendjedid / El-Tarf, (5) Université de Souk Ahras / Algérie

La tuberculose bovine constitue un problème majeur de santé publique et fait l'objet d'une attention soutenue de par le monde et continue de causer des pertes dans le secteur de l'élevage bovin avec de graves conséquences sur la santé publique, en particulier dans les pays où les programmes de surveillance et de contrôle sont faibles ou inexistantes. En termes économiques, l'élevage bovin en Algérie occupe une place prépondérante dans les comptes économiques agricoles d'une part, et assure une bonne partie de l'alimentation humaine par la production laitière et la production de la viande rouge d'autre part. Selon des statistiques données par l'OMS le 14 juin 2014 ([www.who.int/tb](http://www.who.int/tb)) , 74 % des cas de tuberculose ont été détectés en Algérie toutes formes confondues pour un taux de 100 000 habitants par an. L'objectif de cet exposé repose sur une étude rétrospective de la tuberculose bovine (Bilan année 2005 à 2014) au niveau de deux régions de l'Est Algérien (Annaba et Souk Ahras), considéré comme des régions de grandes consommations de viande bovine et de lait cru. Les services de l'inspection vétérinaire de deux régions sus cités relève chaque année des cas de tuberculoses bovine suite à des dépistages sur le cheptel. La bactérie (*Mycobacterium bovis*), responsable de cette zoonose peut se transmettre à l'homme par la consommation des laits ou de la viande des bêtes atteintes. Le matériel utilisé dans cette étude est des données statistiques enregistrées de la période 2005 à 2014, par les inspections vétérinaires des deux wilayas et par examen post mortem des carcasses bovine et des abats au niveau de quelques abattoirs. Sur 35924 bovins dépistés entre 2005 et 2012 dans la région de Souk Ahras 41 cas de tuberculose ont été diagnostiqués par l'intradermo tuberculination soit 18 cas en 2005. Vingt-cinq cas de tuberculose bovine ont été découverts par les services de l'inspection vétérinaire de la wilaya d'Annaba suite à des dépistages sur le cheptel durant les quatre premiers mois de l'année 2013. Selon le bulletin sanitaire vétérinaire du mois de Décembre 2014 émanant du ministère de l'agriculture et du développement rural, sur 29 cas de tuberculose diagnostiqués par intradermo tuberculination au cours du mois de Décembre 2014, 258 cas de tuberculose bovine découverte au niveau des abattoirs à l'échelle nationale y compris les régions d'Annaba et de Souk Ahras. L'accent doit être mis dans les perspectives d'avenir de mettre en place un programme de lutte portant prioritairement sur les modalités de contrôle, de lutte et de prophylaxie et d'améliorer les conditions d'inspections ante-mortem et post-mortem pour prévenir les zoonoses qui exposent la santé humaine et animale au danger.

Mots-clés : tuberculose bovine, viande, lait, consommation, inspection, prophylaxie



www.who.int/tb Ministère d'agriculture (2014) . Bulletin sanitaire vétérinaire / Décembre 2014 / Algérie Acha P., Szyfres B. Zoonoses et maladies transmissibles à l'homme et aux animaux. 3ème édition. OIE, 2005, 693 p OMS (WHO). Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO Report WHO/ HTM/TB/2008. 393p.

## **P21. Séroprévalence de certains virus transmissibles par le sang chez les donneurs de sang à Monastir, Tunisie**

*Besma Abdi(1) , Salma Mhalla(1) , Bedis Dhouaieb(1) , Aida El Argoubi(1) , Hamza Ouaz, Sabiha Ghedira(1) , Mohsen Hassine(2), Maha Mastouri(1)*

*(1) CHU FATTOUMA BOURGUIBA LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE, (2) CHU FATTOUMA BOURGUIBA LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE*

Introduction La transmission d'agents pathogènes par le sang est une préoccupation majeure en santé publique. En Tunisie, le dépistage se fait systématiquement pour le virus de l'hépatite B (VHB) par la recherche uniquement de l'antigène (Ag) HBs, de l'hépatite C (VHC) et celui de l'immunodéficience humaine (VIH). Cependant, d'autres virus peuvent constituer un risque pour le transfusé mais restent peu étudiés. Le but de cette étude est de déterminer les séroprévalences du VHB par la recherche des anticorps anti-HBc, et celle de 2 autres virus non dépistés en routine : le virus de l'hépatite A (VHA) et le cytomégalovirus (CMV). Matériels et méthodes Il s'agit d'une étude prospective qui a porté sur 218 donneurs de sang (DDS), qui se sont présentés à la banque du sang de l'hôpital Fattouma Bourguiba de Monastir entre juillet et décembre 2014. Les données sociodémographiques et cliniques ont été recueillies par interrogatoire. Les anticorps spécifiques dirigés contre le VHC, le VIH, le CMV, le VHA ainsi que l'AgHBs et l'anticorps anti-HBc ont été recherchés soit par technique immunoenzymatique soit par chimiluminescence. Résultats Aucun des DDS testés n'a présenté de sérologie positive pour le VHC ni pour le VIH. Aucun des 218 DDS n'avaient d'AgHBs(+), cependant 31 parmi 150 DDS testés (20.6%) avaient des anti-HBc(+). Sur les 80 DDS ayant bénéficié du dosage des sérologies du VHA et du CMV, 85% étaient immunisés contre le CMV et 90% contre le VHA. Deux DDS avaient une infection récente au VHA (2.5%) et un DDS avait des IgM anti-CMV(+) (1.2%). Aucun des facteurs de risque étudiés n'était significatif chez les DDS séropositifs. Conclusion Malgré l'absence d'AgHBs, le risque de transmission du VHB persiste chez 20.6% de nos DDS ayant des anti-HBc(+). En effet, en absence de recherche de l'ADN viral, une hépatite B évolutive ne peut pas être exclue. Conformément aux données tunisiennes, notre région reste endémique pour le VHA et le CMV. Cependant, la transmission de ses 2 virus par transfusion reste également possible, puisque des infections récentes ont été retrouvées chez nos DDS pour ces 2 virus. Le don de sang déleucocyté, le dosage de l'ADN du VHB et/ou le dosage des transaminases devrait donc être indiqué avant la transfusion des malades à haut risque pour une meilleure sécurité transfusionnelle

Mots-clés : VIRUS, TRANSFUSIONS, DONNEURS DE SANG, PREVALENCE

## **P22.9 Evaluation du réseau européen pour la détection des entérotoxines staphylococciques dans les aliments**

*Yacine Nia, Isabelle Mutel, Adrien Assere, Bertrand Lombard, Jacques Antoine Hennekinne, Frédéric Auvray*

Anses

Les toxi-infections alimentaires à staphylocoques sont causées par l'ingestion d'aliments contaminés par des entérotoxines staphylococciques (ES), produites par certaines souches de staphylocoques à coagulase positive (SCP), principalement *Staphylococcus aureus*. Ainsi, la présence confirmée des ES, via la méthode de référence, rend la denrée alimentaire potentiellement dangereuse pour la santé humaine, au titre de l'article 14 du règlement (CE) n°178/2002. Le Laboratoire de sécurité des aliments de l'ANSES a été nommé en 2006 Laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) pour les SCP incluant *S. aureus* (Règlement CE N° 776/2006 du 23 mai 2006). Il exerce à ce titre une activité de référence pour le compte de la Direction Générale Santé et sécurité des aliments (DG SANTE) de la Commission européenne. Dans le cadre de son mandat, le LRUE est chargé notamment d'organiser des essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA) pour évaluer la compétence analytique des 35 Laboratoires nationaux de référence (LNR) représentant les 29 pays membres de l'Union européenne (UE). Le LRUE a défini et validé en 2011 la méthode de référence de détection des ES dans les aliments. Elle comprend l'extraction, la concentration par dialyse et la détection immunochimique des toxines via deux troussees commerciales. Depuis, le LRUE a organisé trois EILA, en 2013, 2014 et 2015. Au total, 8 matrices alimentaires ont été utilisées comme support d'EILA : fromage, fromage lyophilisé, thon, maquereaux, rôti de poulet, quiche lorraine, lait et crème brûlée. Ces matrices ont été contaminées par 4 types d'ES (SEA, SEC, SED et SEE) à des niveaux de concentration différents. Pour chaque EILA, chaque matrice et chaque niveau de contamination, des études d'homogénéité et de stabilité ont été réalisées avec la méthode de référence. Les résultats obtenus ont permis de conclure à l'homogénéité et à la stabilité des échantillons, ces derniers pouvant ainsi être utilisés pour l'évaluation des LNR participants aux EILA. 31 des 35 LNR représentant 27 pays membres ont participé à chaque EILA. Au total, les résultats obtenus sur 155 échantillons non contaminés et 620 échantillons contaminés ont permis de déterminer les performances des LNR et de la méthode utilisée, en termes de spécificité et de sensibilité. De manière générale, les LNR ont obtenu des résultats conformes à ceux attendus. Ainsi, le réseau des LNR est jugé compétent pour la détection des entérotoxines staphylococciques de type SEA à SEE dans tout type d'aliments selon la méthode de référence.

entérotoxines staphylococciques, essais inter-laboratoires, réseau de référence

### **P23. GTFinder workflow to detect exclusively conserved region across a large genome dataset: Salmonella spp. study.**

*Sabrina Cadel Six*

*ANSES Laboratoire de sécurité des aliments*

GTFinder workflow to detect exclusively conserved region across a large genome dataset: Salmonella spp. study. A.Felten<sup>1</sup>, L. Guillier<sup>1</sup>, F. Touzain<sup>2</sup>, M-Y. Mistou<sup>1</sup>, R. Lailler<sup>1</sup>, N. Radomski<sup>1</sup> and S. Cadel-Six<sup>1</sup> <sup>1</sup> Université PARIS-EST, Anses, Laboratory for food safety, Maisons-Alfort (France). <sup>2</sup> Anses, Genomic platform, Ploufragan (France). Background: The modern molecular microbiologists are today in front of massive databases of DNA sequences produced by high-throughput sequencing, and need to develop their own in silico tools according to their specific objectives. In a context of food safety, the Salmonella serotyping method based on sero-agglutination is cost prohibitive, and leads to propose less expensive molecular targets to identify Salmonella serotypes by PCR-based methods. Consequently, we propose in the present manuscript a workflow called 'Genome Target Finder' (GTFinder) which has been designed to detect exclusively conserved k-mers across a large genome dataset of Salmonella serovars. Results: Based on stringent and tolerant clustering algorithms implemented in the CD-HIT programs, the GTFinder workflow includes Python scripts driving k-mers through redundancy, specificity, sensitivity, and combination filtrations, successively. Among 526 genomes from NCBI, as well as 211 newly sequenced and assembled genomes, 90 serovars of Salmonella spp. were taken into account, including 48 and 31 serovars represented by only one genome and more than four genomes, respectively. Concerning the 31 serovars represented by more than four genomes, unique k-mers were detected as exclusively conserved into 18 serovars, and combined k-mers were selected to identify the 13 remaining serovars. Conclusion: The unique and combined k-mers identified by GTFinder workflow as specific and sensitive into 31 serovars, will be used to design PCR primers in order to check their in vitro specificity and sensitivity by the Access Array system from Fluidigm. The GTFinder workflow could also be applied to other bacterial genus, species, and subspecies in order to discover regions distinguishing between genotypes or phenotypes.

Mots-clés : exclusively conserved regions, de novo assembly, k-mer clustering, Salmonella, bacterial genomics

## **P24. Other therapeutic method against penicillin-Resistant bacteria and uropathogenic *Candida albicans*: Bioactives constituents and potentiels microbicides of essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill**

Hadjer Boudjema(1) , Rachida Allem(2)

(1) université de Hassiba ben bouali de chlef, (2) Université de Hassiba Benbouali -Chlef

Abstract Currently, the evolution a number of infectious diseases has been indiscriminate each year and antibiotic treatment failure has been increased, emerging and re-emerging infection bacteria resistant to antibiotics becomes a threat to the health of humanity, Medicinal Plants constitute bioactive substances the powerful weapons against multidrug resistant microbial infection. In this research, our object to detect antibacterial and antifungal potentials of new chemotype of the Mediterranean *Lavandula angustifolia* Mill (lavender oil) with its bioactive compounds, linalyl anthranilate and linalool, were determined in vitro against twelve reference and clinical penicillin-resistant strain belonging *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia. coli* ATCC 1536 ,*Bacillus cereus* ATCC10876 ,*Bacillus subtilis*ATCC6133 ,*Pseudomonas aerogenosa* ATCC 10876, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 and tow *Candida albicans* (uropathogenic strain) , *Candida albicans* ATCC 1231 and *Bacillus subtilis* (uropathogenic), *Candida albicans* (uropathogenic strain) ,*Staphylococcus epidermidis* (vaginal strain) , *E. coli* (uropathogenic) ,*Micrococcus luteus* encountered in private laboratory . EO was evaluated for antimicrobial activity by minimum inhibitory concentration (MIC), bactericidal, fungicide by disc diffusion assay and agar dilution assay. The strains that showed resistance against penicillin, ampicillin, and oxacilline antibiotics tested were selected for an antibacterial assay. The penicillin-Resistant bacteria strains were sensitive to the antimicrobial activity of EO of *Lavandula angustifolia* Mill. The most inhibition zone of Lavender essential oil was related to *E.coli* ATCC1536 and *Bacillus subtilis* ATCC6133 and *B. cereus* ATCC10876, *Micrococcus luteus*, in disk diffusion in agar well diffusion method. The lowest minimum inhibitory concentration (MIC) for Lavender essential oil against *E.coli* ATCC1536, *B. subtilis* ATCC6133, *M. luteus* were 0.02%,0.02%,0.04% (v/v) respectively. The MIC value of Lavender essential oil against *C. albicans*, *C. albicans* ATCC1231were 0.04%, 0.02%(v/v) Bactericidal activity was higher against almost all tested bacteria *M. luteus*, *B. subtilis* ATCC6133, *B.cereus* ATCC10876 were 0.02%; mean minimum fungicide concentration (MFC) of *C. albicans*, *C. albicans* ATCC1231 0.1%, 0.01%(v/v) . *Lavandula angustifolia* Mill grow in west Algeria , the composition of bioactive molecule of EO obtained by hydrodistillation was analyzed by gas chromatography mass spectrometry showing terpene alcohol as dominant constituent. Lavender essential oil is strong potential microbicide against the tested bacterial and fungal human pathogens strains.

Mots-clés : *Lavandula angustifolia* Mill ,linalyl anthranilate , linalool,essential oil ,gas chromatography mass spectrometry

## **P25. High Association of Cryptosporidium infection with Digestive Cancer in Lebanese patients**

Marwan Osman(1) , Sadia Benamrouz(2), Emilie Fréalle(3), Karine Guyot(4), Magali Chabe(4), Nausicaa Gantois(4), Baptiste Delaire(5), Anne Goffard(6), Mouhamad Diab(1) , Fouad Dabboussi(1) , Monzer Hamze(1) , Colette Creusy(5), Eric Viscogliosi(4), Certad Gabriela(4)

(1) Centre AZM pour la recherche en biotechnologies et ses applications, Université Libanaise, Laboratoire de Microbiologie Santé et Environnement (LMSE), Tripoli, Lebanon, (2) Ecologie et biodiversité, Faculté Libre des Sciences et Technologies de Lille, Université Catholique de Lille, Université Lille Nord de France, (3) Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille & Faculté de Médecine de Lille, Université Lille Nord de France, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Centre de Biologie et Pathologie, Lille, France, (4) Biologie et Diversité des Pathogènes Eucaryotes Emergents (BDEEP), Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CIIL), Institut Pasteur de Lille, INSERM U1019, CNRS UMR 8402, Université Lille Nord de France, (5) Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Groupe Hospitalier de l'Université Catholique de Lille, (6) Department of Microbiology, Lille Hospital, Faculty of Medicine, Lille, France; Molecular & Cellular Virology of Hepatitis C, Center of Infection and Immunity of Lille (CIIL), Inserm U1019, CNRS UMR 8204, Univ. Lille North of France

La cryptosporidiose représente un problème majeur de santé publique. Cette maladie est due à un parasite protozoaire Apicomplexa, *Cryptosporidium*. Outre les diarrhées auto résolutes ou chroniques qu'il entraîne respectivement chez les personnes immunocompétentes et immunodéprimées, il a été rapporté qu'une de ses espèces, *Cryptosporidium parvum*, était également capable d'induire des adénocarcinomes digestifs invasifs chez un modèle murin immunodéprimé. A la lumière de cette découverte, nous avons voulu étudier et mettre en évidence chez l'homme, une éventuelle association entre la pathologie cancéreuse et la cryptosporidiose. Au total, 217 biopsies digestives ont été recueillies auprès de deux laboratoires d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques de Tripoli, Liban. Ces biopsies appartiennent à deux groupes de patients: (i) des patients atteints de cancer digestif (estomac ou du côlon) de diagnostic récent et avant tout traitement et (ii) des patients sans cancer digestif, mais avec des symptômes digestifs persistants. L'extraction d'ADN a été réalisée à partir de copeaux de biopsies fixées dans le formol et inclus en paraffine, en utilisant le QIAamp DNA Mini kit (Qiagen®). L'ADN de *Cryptosporidium* a été détecté en utilisant une PCR en temps réel ciblant le gène de l'ARNr 18S. Les produits de PCR s'étant révélés positifs au parasite, ont été purifiés puis séquencés pour permettre l'identification des espèces de *Cryptosporidium*. Les résultats préliminaires montrent une prévalence de la cryptosporidiose de l'ordre de 21% chez les patients ayant des lésions cancéreuses et de 6% chez le groupe control de patients non cancéreux mais qui présentaient des symptômes (diarrhée, douleurs abdominales...). Cette différence est statistiquement significative ( $P < 0.05$ ). Deux espèces de *Cryptosporidium* ont été

trouvées associées aux lésions néoplasiques : *C. parvum* et *C. hominis*. De plus, une étude histologique a permis la confirmation de la présence de différents stades évolutifs du parasite au niveau de lésions néoplasiques. Ces résultats constituent les premières données épidémiologiques qui mettent en évidence une association directe entre la présence de *Cryptosporidium* au niveau de tissu épithélial et le cancer colique. Ceci constitue un fort argument en faveur de l'hypothèse que *Cryptosporidium* pourrait être associé au développement de cancers colorectaux chez l'homme. D'autres études doivent être menées afin de déterminer si le parasite est une cause de la cancérogenèse digestive humaine. Mots-clés : Bactéries protéolytiques – Protéases alcalines – Criblage – S3F

Osman et al., 2015, Initial data on the molecular epidemiology of cryptosporidiosis in Lebanon. PLoS One 10, e0125129. Certad et al., 2007, *Cryptosporidium parvum*, a potential cause of colic adenocarcinoma. Infect Agent Cancer 2, 22. Mary et al., 2013, Multicentric evaluation of a new real-time PCR assay for quantification of *Cryptosporidium* spp. and identification of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis*. J Clin Microbiol 51, 2556-2563 WHO, 2014, World Cancer Report. International Agency for Research on Cancer.



## **P26. Noninvasive detection of *S. aureus* and *Salmonella* in food samples**

Pierre R. Marcoux, Emilie Perret, Marjorie Vrignaud, Zoé Buniazet, Jean Hue, Pierre L. Joly, Isabelle Texier-Nogues  
CEA

**Objectives.** We bring new low-cost sensors for a convenient monitoring of microbial VOC (volatile organic compounds). There is a growing interest for the detection of microbial VOC as they could be used for noninvasive detection and identification of microorganisms. But the actual protocols often rely on expensive techniques, such as GC-MS (gas chromatography-mass spectrometry). The method we develop is based on trapping and sensing VOC, thanks to small transparent porous solids. These show a very large surface for gas adsorption and are able to change colour when capturing target molecules. The application we study is the detection of bacterial pathogens in food samples. **Methods.** The nanoporous solids we use as sensors are made via sol-gel chemistry, a polymerization reaction at room temperature. This chemistry yields transparent porous solids developing a large surface, with properties (pH, hydrophobicity, pore size) depending on the initial precursors. Two types of sensors were made, that can change colour upon gas trapping: i) sensors for the detection of sulfide compounds ( $\text{CH}_3\text{SH}$  and  $\text{H}_2\text{S}$ ), ii) sensors of nitrophenol. This latter volatile compound is enzyme-generated, thanks to the use of glycosidase or lipase substrates. Sulfide sensors are initially pale yellow and turn red-orange when detecting target VOC. Nitrophenol sensors are colorless and get yellow when trapping target gas. As a proof on concept, we investigated the detection of *Salmonella* and *S. aureus* in Camembert cheese (raw milk) and in mayonnaise sauce (raw egg). **Results.** *Salmonella* can be detected either through the detection of  $\text{H}_2\text{S}$ , or the nitrophenol emitted by C8-esterase enzymatic activity. *S. aureus* can be detected with the nitrophenol generated by  $\alpha$ -glucosidase activity. As in standardized methods, 25g of food sample was mixed with 250g of buffered peptone water. The mixture was homogenized in a stomacher bag and then incubated at 37°C. A sensor stuck to the bag wall could trap VOC emitted by liquid culture medium. In Camembert, local flora generated sulfide compounds and showed lipase activity, interfering with the metabolites of added *Salmonella*. Therefore its detection was not possible. On the other hand, in mayonnaise sauce (without local flora), *Salmonella* was easily detected, in less than 24h, either with  $\text{H}_2\text{S}$  or with nitrophenol. In the same mayonnaise sauce, we also proved the possibility of detecting *S. aureus* through nitrophenol trapping. An  $\alpha$ -glucosidase substrate was added to the food sample, yielding the detection of pathogens in less than 8h, starting from 100 cfu/mL.

Mots-clés : foodborne pathogens microbial volatile organic compound volatile metabolite

## **P27. Séroprévalence de la brucellose chez les enfants en zone endémique**

Nardjiss Tabet-Derraz

Faculté de médecine

La brucellose est une maladie infectieuse cosmopolite, causée par une bactérie appelée brucella. Transmise par le lait cru ou par contact direct avec le bétail infecté. L'objectif de ce travail était de déterminer la séroprévalence de la brucellose chez les enfants exposés. Méthodes : étude transversale menée durant une période de six mois de septembre 2011 à mars 2012 sur les enfants de 0 à 20 ans de malades traités pour brucellose dans un service d'inféctiologie d'une région d'élevage. Chaque enfant était exposé aux mêmes facteurs de risque de contamination. Tous après consentement éclairé de leurs parents ont été soumis à un questionnaire, avaient bénéficié d'un examen physique complet et d'un prélèvement de sang. Le test de dépistage était le rose Bengale. Résultats Sur 284 enfants dépistés, 54 (19%) avaient un rose beagle positif dont 28 filles. Dans les 135 enfants de 0-10 ans dépistés 16 étaient positifs (11.8%) et 38 positifs sur 149 entre 11 et 20 ans soit 25.5%. la notion de contact direct avec le bétail était retrouvé dans 257 cas soit 90 %. La fièvre était retrouvée chez 31 enfants 57.4 % absente chez 32 enfants 42.6 % avec un rose Bengale positif. Conclusion : La brucellose est une infection réponde dans notre région. Cependant elle reste ignorée et non diagnostiquée en l'absence de fièvre. La prise d'une décision pour le dépistage de cette maladie chez les personnes exposées et une stratégie de lutte s'imposent.

Mots-clés : Brucellose, Dépistage, enfants

## **P28. Optical elastic scattering for the label-free detection of *Staphylococcus aureus***

Pierre R. Marcoux(1) , Valentin Genuer(1) , Damien Decq(1) , Jérémy Méteau(1) , Olivier Gal, Emmanuelle Schultz(1) , Eric Lacot(2), Max Maurin(3)

(1) CEA, (2) Université Joseph Fourier - Grenoble, (3) CHU Grenoble

Objectives: Screening *S. aureus* and MRSA carriers on hospital admissions has been shown to reduce the occurrence rate of *S. aureus* surgical-site infections. Given the large number of individuals requiring screening, rapid and cost-effective methods should be promoted, especially when they are compatible with the increasing automation in microbiology labs. Recently, the biplate ChromID MRSA/ChromID *S. aureus* (bioMérieux) was introduced for the simultaneous detection of MRSA and *S. aureus*. These chromogenic media achieve the selective isolation of staphylococci and the direct identification of *S. aureus* in one step, thus reducing workload and cost. However, it requires a long incubation time (24h to 48h), and some additional confirmation tests in order to avoid false positive, i.e. non-staphylococci bacteria yielding the expected green colour. We report here the ability of optical elastic scattering in discriminating *S. aureus* from other staphylococci at an early stage of growth (6h), directly on ChromID SA/MRSA biplate. Furthermore, it is compatible with any kind of confirmation tests (color reading, mass spectrometry, biochemical tests, etc.) as it is label-free, non-invasive and non-destructive. Material/methods: Our instrument (called Microdiff) is based in Grenoble hospital and performs analyses of the scattering pattern (scatterogram) generated by a bacterial microcolony growing on agar, when placed in the path of a laser beam. Measurements are directly performed on closed Petri dishes and are non-destructive for probed bacteria since acquisition times are very short. A laser (532nm) targets for 1 millisecond the microcolony to be identified and resulting photons are collected with a camera. Then algorithms yield in a few seconds the most probable identity for the probed microcolony. The whole recognition process is based on two steps: first, calculating characteristic parameters of the scatterogram, then comparing them to a database with training algorithms such as Support Vector Machines. Results: A database of 4700 scatterograms over 34 strains (13 strains of *S. aureus*, 21 strains of non-aureus staphylococci) was collected on microcolonies, at 6h of incubation (37°C) on ChromID SA/MRSA biplate. The obtained data were compared to a database so that machine learning can yield identification result. A 10-fold cross-validation was performed on the database. On the ChromID *S. aureus* medium, it yielded a 77% discrimination rate between *S. aureus* and non-aureus staphylococci.

Mots-clés : label-free identification *S. aureus* MRSA screening of *S. aureus* carriers optical elastic scattering phenotypic identification culture-based methods

## **P29. Identification of antibiotic resistance genes of staphylococci isolated from mastitic milk in Algeria**

*Radhwane Saidi*

*université de laghouat.*

The study was carried out to investigate the phenotypic and genotypic identification of in vitro antimicrobial susceptibility of 21 Staphylococci (10 *Staphylococcus aureus* and 11 Coagulase Negative Staphylococci) isolated from bovine mastitis to 12 antimicrobial drugs frequently using in veterinary medicine in Algeria. Isolates of staphylococci from bovine mastitis were tested for antibiotics with disc-diffusion method according to the National Committee for Clinical Laboratory Standards guidelines in the Mueller-Hinton agar, and resistant genes *mecA*, *blaZ*, *aac-aph*, *ermA*, *ermC*, *tetK* and *tetM* were detected by PCR. Staphylococci isolates showed high resistance to penicillin (95.23%), oxacillin (80.95%), and clindamycine (80.95%). Among 21 isolates of Staphylococci, 20 were found to be methicillin and multidrug resistant. The distribution of antibiotic-resistant genes was *mecA* (100%), *tetM* (100) followed by *blaZ* (42.85%). The finding of methicillin-resistant staphylococci (MRS) from bovine mastitis is the first report in Algeria and revealed the status of resistant isolates in herd that might be helpful in treatment, controlling of resistant strains and for deciding culling of cows.

Mots-clés : Antimicrobial susceptibility, Bovine mastitis, MRS, Resistance genes, Staphylococci.

### **P30. Screening of Some Medicinal Plants for Antibacterial Activities on Multiresistant Strains Isolated From Mastitis**

*Radhwane Saidi*

*université de laghouat*

Bovine mastitis is the most serious dairy problem in terms of economic losses to the dairy industry. In Algeria, dominates as one of the most prevalent diseases in dairy cattle among the dairy farms. Mastitis treatment with antibiotics leads to the development of antibiotic resistant strains and consumer health problem. Multidrug-resistant bacteria have become a major health issue. With new generations of virulence and resistant bacteria, we need to improve our understanding and produce novel techniques to control these pathogenic strains. In our study, the activity of several extracts from seven medicinal plants namely, *Mentha pulegium*, *Lavandula dentate*, *Origanium sp*, *Marrubium vulgare*, *Salvia bicolor*, *Blackstonia perfoliata*, and *Phlomis crinita*) traditionally used in Algeria was investigated against 26 methicillin resistant staphylococci and multi-resistant *Escherichia coli*. (*E.coli*) isolated from animals with mastitis manifestation by the disc diffusion method. Results revealed the potential of extracts of *Salvia bicolor*, *Marrubium vulgare* and *Phlomis crinita* as antibacterial agents against strains isolated from bovine mastitis and support the possible use of these phytotherapeutic agents in the clinical management of the disease. Further studies into their toxicity and phytochemistry is advocated.

### **P31. Performances du milieu MH TEICO-5 (Société I2a- France) pour la détection de la sensibilité diminuée de *Staphylococcus aureus* à la vancomycine**

N. Brieu, J. Gallou, C. Pacchetti, C. Bouyssie, H. Chardon

CH du Pays d'Aix, Aix en Provence

**Objet :** Pour la mesure de la sensibilité de *Staphylococcus* (S) à la vancomycine, l'EUCAST et le CA-SFM recommandent différentes méthodes de détection des souches résistantes (GRSA) et des souches présentant une hétéro-résistance à la vancomycine (hGISA) . L'utilisation du milieu de Mueller Hinton (MH) contenant 5 mg/L de teicoplanine fait partie des méthodes recommandées. 10µl d'une suspension de staphylocoque (2 MF) sont ensemencés sur le milieu. La présence de 2 colonies (EUCAST) ou 4 colonies (CA-SFM) au bout de 24-48 H correspond à un test positif. Des témoins positifs [*S. aureus* ATCC 700698 (hGISA Mu3), *S. aureus* ATCC 700 699 (GISA Mu50) pour l'EUCAST) , *S. haemolyticus* CIP 107204 (hGISA) pour le CASFM ] et des témoins négatifs (*S. aureus* ATCC 48619 pour l'EUCAST et *S. aureus* ATCC 25923 pour le CASFM) sont recommandés pour chaque manipulation.

**Matériel et Méthodes :** Le but de cette étude est de vérifier les performances du milieu MH TEICO-5 commercialisé par la société I2a (Montpellier – France), milieu dont la date de péremption est de 12 semaines après fabrication.

L'étude a été réalisée sur le lot MH-TEICO-5 7602 (pendant les 8 semaines précédant sa péremption). La souche de *S. aureus* ATCC25923 a été utilisée comme témoin négatif (CMI teicoplanine : 0.5 à 2 mg/L) et la souche *S. haemolyticus* CIP 107204 comme témoin positif . Un témoin négatif supplémentaire a été utilisé, la souche de *S. aureus* 0275 du contrôle de qualité NEQAS (CMI teicoplanine : 1 mg/L). Les tests ont été effectués toutes les semaines pendant 8 semaines, les milieux de MH étant conservés à + 4°. Pendant cette étude, 43 souches de *S. aureus* ont été étudiées avec le test teico 5 et avec le test en gradient de diffusion (macro-bandelette-test : MBT) (E-TEST Biomérieux). L'identification des souches GISA/hGISA a été effectué par l'analyse de population sur les souches TEICO-5 positives.

**Résultats :** au bout de 8 semaines, le témoin positif était toujours positif et les 2 témoins négatifs restaient toujours négatifs.

12 / 43 souches étaient test MH-TEICO-5 + dont 10 GISA/hGISA +. 9/12 souches étaient test TEICO-5 +, MBT + et GISA/hGISA +. 1/12 souche était test TEICO-5 +, MBT (-) et GISA/hGISA (-). 1/12 souche était test TEICO-5 +, MBT (-) et GISA/hGISA +. 1 souche était TEICO-5 +, MBT + et GISA/hGISA (-).

**Conclusion :** la concentration de teicoplanine au bout de 8 semaines restait correcte, comme le montre la persistance de la négativité des témoins négatifs. Les performances du test MH TEICO-5 et de la macro-bandelette-test présentent de légères différences.

Mots-clés : Vancomycine, Teicoplanine, GISA, hGISA

CA-SFM : [www.sfm-microbiologie.org](http://www.sfm-microbiologie.org) EUCAST : [www.eucast.org](http://www.eucast.org)

### **P32.19. Sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées de 60000 ECU communautaires**

Jérémy Bayette(1), Delphine Boraud(2), Jacinthe Gholizadeh(3), Vincent Vieillefond(3), Anne Holstein(4)

(1) Unibio - Biomed34, (2) Exalab, (3) Bio Paris Ouest, (4) ABO+

Objet de l'étude : Etude des bactéries isolées d'infection urinaire communautaire (IUC) en 2015: données de 10 LBM privés du réseau BPR répartis sur l'ensemble de la métropole française. Méthodes : - Etude rétrospective (01/01/15 au 31 /12/15), inclusions selon critères de la SPILF (Diagnostic et antibiothérapie des IUC de l'adulte - 2014) - Identification biochimique ou spectrométrie de masse, antibiogramme en milieu liquide ou gélosé (Vitek2 et Vitek MS, Biomerieux - Phoenix, BD - Walkaway, Beckman Coulter - Maldi Biotyper Brücker - Sirscan, i2a). - Etude des principaux antibiotiques utilisés en pratique de ville : amoxicilline AMX, amoxicilline + acide clavulanique AMC, céfixime CFM, céfotaxime CTX, amikacine AK, fosfomycine FOS, nitrofuranes FT, sulfaméthoxazole+triméthoprimine SXT, ciprofloxacine CIP, mecillinam MEC. - Critères d'interprétation : CASFM 2013 ou CASFM-EUCAST 2015 Résultats : 156105 souches bactériennes ont été isolées d'IUC (586904 ECU - 26 % de positivité). 82.2% des isolats sont des entérobactéries (66,3% E. coli, 5,4% K. pneumoniae, 3,9% P. mirabilis), 5,2% E. faecalis et 1,9% S. saprophyticus. Les taux de sensibilité sont respectivement pour E. coli et l'ensemble des autres entérobactéries : AMX : 47,8% et 15,2% ; AMC : 70,2% et 63,6% ; CFM : 93,6% et 80,8% ; CTX : 94,7% et 91,1% ; AK : 99.5% et 98.8% ; FOS : 98,7% et 72,9% ; FT : 98,7% et 56,2% ; SXT : 78,1% et 85,6% ; CIP : 88,2% et 88,7% ; MEC : 92,8% pour E. coli (41724 souches évaluées). 4,1% des E. coli et 4,4% des autres entérobactéries sont productrices de BLSE. 98,9% des E. faecalis sont sensibles à l'amoxicilline et 99,6% des S. saprophyticus aux nitrofuranes. Conclusion : Les résultats sont comparables entre les laboratoires, quelles que soient leur activité, les techniques utilisées ou leur localisation géographique. Ces données sont également superposables à celles du réseau Medqual (2015). L'activité de la fosfomycine, recommandée en 1ère intention dans les cystites simples de l'adulte (SPILF 2014), demeure très importante. A contrario, la faible sensibilité des aminopénicillines sur les entérobactéries ne doit faire envisager leur utilisation qu'avec résultats de l'antibiogramme. L'étude du mecillinam, recommandée en 2de intention dans les cystites simples de l'adulte (SPILF 2014), montre une très bonne activité sur les E. coli. Il est désormais indispensable que la détection de sa sensibilité soit fiable quelque soit la technique utilisée et élargie aux autres entérobactéries afin d'aider biologistes et cliniciens dans la prise en charge des patients

Mots-clés : Infection urinaire - communautaire - sensibilité

SPILF 2014: Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte

### **P33. Applicability of ISO 11290 Standard for detection of new *Listeria* species**

*E. Brasseur, L. Barre, D. Boussaid, K. Romero, E. Manso, N. Gnanou Besse*  
ANSES

During the past four years, new species of the genus *Listeria* have been isolated from foods and other environmental niches worldwide. Since the Standard methods EN ISO 11290-1(1)&2 (2) under revision will include all other *Listeria* species in addition to *L. monocytogenes*, it is necessary to check the methods' ability to recover and detect the newly identified *Listeria* species. The objective of this project was to evaluate the ability of the Standard EN ISO 11290 method to detect and identify newly discovered *Listeria* spp, and the impact of strain over-growth during each step of the enrichment process in mixed cultures with *L. monocytogenes*, which could results in false negative results. This objective was addressed by the generation of necessary data on the behavior of the new species during the pre-enrichment and the enrichment steps of the reference methods as well as data on their phenotypic characteristics for isolation and identification. Most of new *Listeria* species showed good growth on selective agar media for *Listeria*, but some difficulty occurred with some species recovery due to low growth in Half Fraser and Fraser broth. We obtained good confirmation result for the *Listeria* genus via the catalase and Gram tests and blueish appearance on non-selective medium, but not with the VP test which is not suitable for most of the new species. In the light of results of co-cultures, inhibition tests, and the growth rates obtained, it does not appear that the new species can interfere with the detection of *L. monocytogenes*.

Mots-clés : new *Listeria* species detection *L. monocytogenes*

1. Anonyme (1998-2015). «Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*, part 1. Detection method. International standard ISO 11290-1.» Geneva : International Organization for Standardization.
2. Anonyme (1998-2015). «Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*, part 2. Enumeration method. International standard ISO 11290-2.» Geneva : International Organization for



Standardization.

### **P34. Reproducibility and repeatability of two blood culture systems: BacT/Alert®3D and VIRTUO**

*Gauthier Delvallez, Patricia Pischedda, Joëlle Alexandre, René Courcol  
CHRU Lille, CBP, Laboratoire de Bactériologie*

**Background** The goal of this study was to assess the reproducibility and the repeatability of two blood culture systems sold by bioMérieux, BacT/ALERT®3D and VIRTUO for the detection of bacteremia or fungemia. **Materials and methods** The study was carried out by spiking three blood culture bottles (aerobic, anaerobic and pediatric) with six microorganisms (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. pneumoniae*, *B. fragilis*, *C. perfringens* and *C. albicans*). The reproducibility was compared between both systems. Therefore, each strain was inoculated into each type of blood culture bottles and incubated into each automatic system. The repeatability was also evaluated. Strains were inoculated into 3 blood culture bottles of each type with two different inoculums: 40 CFU/mL and 400 CFU/mL for both systems, representing 36 bottles by strain, i.e. 216 bottles for the study. The times to positivity were compared between the two systems. **Results** The time to detection obtained with the BacT/Alert-3D was slower than with the VIRTUO. Then, in most of the cases (52.2%), 3 blood culture bottles incubated in VIRTUO were detected positive before these incubated in the BacT/Alert-3D. This mainly concerned non-exigent strains like *E. coli*, confirmed the results of the first part of the study, and demonstrated the repeatability of those. In 30.5% of cases, there is a less marked difference, but VIRTUO averages are better than BacT/Alert-3D, mainly for low inoculum. However, results were better with the BacT/Alert-3D for anaerobes such as *B. fragilis*, which were never detected in pediatric blood culture bottles by both systems. **Conclusion** Regarding the most frequent bacteria isolated in blood cultures (Gram-positive cocci and Enterobacteriaceae), the time to detection was shorter with the VIRTUO system than with the BacT/Alert-3D.

Mots-clés : blood culture, VIRTUO, BacT/ALERT 3D, accreditation

**P35. Coqueluche chez l'enfant Tunisien : augmentations cycliques du nombre de cas**  
Ikram Ben Fraj(1) , Hanen Smaoui(1) , Sophie Guillot(2), Nicole Guiso(2), Amel Kechrid  
(1) Laboratoire De Microbiologie - Hôpital D'Enfants De Tunis, (2) Institut Pasteur,  
Centre De Référence De La Coqueluche Et Autres Bordetelloses, Paris

Objectifs : Préciser l'évolution de la coqueluche chez l'enfant en Tunisie. Matériel et Méthodes: Ont été inclus dans cette étude les prélèvements provenant de nouveau-nés et nourrissons suspects de coqueluche reçus au laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital d'Enfants de Tunis, entre Mars 2007 et Mars 2015. La confirmation du diagnostic a été faite par PCR quantitative (qPCR). Les cibles de la qPCR étaient : IS481, IS1001, ptxP, recA et H-IS1001 (Zouari et al, 2012). Résultats: Durant la période d'étude (8 ans), 1740 prélèvements ont été reçus pour la confirmation du diagnostic de la coqueluche par qPCR. La grande majorité de ces prélèvements était des aspirations nasopharyngées (1709 échantillons; 98,2%). Bordetella a été détectée dans 374 prélèvements confirmant ainsi le diagnostic chez 21,5% des patients. L'infection à B. pertussis était prédominante (84,2%) avec une amplification de la cible IS481 et ptxP. La cible IS1001, spécifique de B. parapertussis, a été amplifiée dans 4,81% des cas. Une co-infection à B. pertussis et B. parapertussis a été confirmée chez 3,47%. Bordetella spp a été détectée dans 7,48% des cas (IS481 positif et ptx/recA/H-IS1001 négatifs). Aucun cas d'infection à B. holmesii n'a été confirmé. L'âge moyen des patients atteints était de 4,7 mois. Deux cent vingt-sept patients (21,5%) avaient un âge inférieur ou égal à 2 mois et n'avaient pas reçu de dose de vaccin coquelucheux. Durant cette étude, deux augmentations des cas ont été constatées avec un intervalle de quatre ans. La 1ère a eu lieu en 2009 avec 63 cas positifs et la seconde en 2013 et 2014 avec respectivement 79 et 171 cas positifs. Ensuite une chute importante du nombre de cas est survenue en 2015. Conclusion : La coqueluche reste une maladie fréquente en Tunisie malgré une bonne couverture vaccinale en primo-vaccination (94%). Elle survient de façon cyclique. Elle touche essentiellement les nouveau-nés. Sa surveillance épidémiologique et la prise en charge précoce des nourrissons infectés sont nécessaires afin de mieux contrôler les cycles de la maladie. De plus, l'introduction d'un rappel vaccinal chez les adultes et les adolescents, contamineurs potentiels des nouveau-nés non ou partiellement vaccinés, devrait être envisagée.

Mots-clés : Coqueluche, enfant, épidémiologie, qPCR, Bordetella pertussis

Zouari A, Smaoui H, Brun D, Njamkepo E, Sghaier S, Zouari E, Félix R, Menif K, Ben Jaballah N, Guiso N, Kechrid A. 2012. Prevalence of Bordetella pertussis and Bordetella parapertussis infections in Tunisian hospitalized infants: results of a 4-year prospective study. Diagn Microbiol Infect Dis 72: 303–317

### **P36.23. Détection phénotypique des entérobactéries productrices de carbapénémases.**

*Nadine Lemaitre(1) , Julien Herlem(2), Audrey Charlet(2), Marie Titecat(2), J-David Pekar(2), Olivier Gaillot(2), René Courcol(2)*

*(1) CHRU Lille, (2) CHU Lille*

Objectifs. En raison de l'augmentation croissante du nombre d'entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC), le développement de méthodes de détection des carbapénémases simples, rapides et peu coûteuses sont indispensables en routine de laboratoire. C'est pourquoi, nous avons évalué la performance de la combinaison de deux méthodes phénotypiques : les méthodes MASTDISCSTM Carbapenemase Detection set (CDSTM) et CAT-IDTM. Méthodes. 75 souches d'EPC (OXA-48, 4 VIM, 3 NDM et 2 KPC) et 79 souches non productrices de carbapénémase (non EPC) ont été ensemencées sur gélose Mueller-Hinton et testées avec les méthodes CDSTM et CAT-IDTM. La méthode CDSTM utilise 4 disques: A, méropénème (MEM) seul; B, MEM + inhibiteur de métallo-carbapénémase (MBL); C, MEM + inhibiteur de carbapénémase KPC et D, MEM + inhibiteur de céphalosporinase AmpC. La méthode CAT-IDTM utilise un seul disque de faropénème et assure la détection de la carbapénémase OXA-48 par la présence de microcolonies à l'intérieur de la zone d'inhibition et des carbapénémases KPC et/ou MBL par l'absence de diamètre d'inhibition. En parallèle, la sensibilité des souches d'entérobactérie à la témocilline a été appréciée. Résultats. Toutes les souches EPC ont été détectées par la combinaison des tests CDSTM et CAT-IDTM (sensibilité = 100%). Une seule souche productrice de VIM n'a pas été correctement détectée par le test CDSTM (différence de diamètre entre le disque A et B < 5 mm). Six souches non EPC ont été détectées faussement positives pour la production d'OXA-48 et une souche pour la production de MBL/KPC avec le test CAT-IDTM. Une souche non EPC a été considérée comme productrice de MBL avec le test CDSTM (différence de diamètre entre le disque A et B ≥ 5mm). En combinant les deux tests, la spécificité était de 92%. Conclusions. L'association des 2 méthodes phénotypiques MASTDISCSTM permet de détecter et de différencier dans 100 % des cas les 3 classes de carbapénémases et ceci facilement en routine.

Mots-clés : Entérobactéries, carbapénémase, détection, disque combinés

### **P37. The transcription factor Skn7 regulates morphogenesis in *Candida albicans***

Virginia Basso

Institut Pasteur

Objective *Candida albicans* is an opportunistic fungal pathogen, part of the normal human flora, but also the fourth causative agent of nosocomial bloodstream infections<sup>1</sup>. A distinctive feature of *C. albicans* lies in its ability to switch between the unicellular yeast form and filamentous forms (pseudohyphae or hyphae)<sup>2,3</sup>. The yeast-to-hyphae switch is essential for virulence: yeast cells contribute to the colonization of mucosa and dissemination into the bloodstream while hyphal forms are required for crossing barriers, invasion of tissues and formation of biofilms<sup>4</sup>. Several signalling pathways govern this morphogenetic switch, each of them resulting in the activation of a set of transcription factors and the expression of hypha-specific genes<sup>5</sup>. We show here that the *C. albicans* SKN7 gene encodes a key regulator of the morphogenetic switch<sup>6</sup>, which could possibly be used as target for antivirulence therapy. Materials and method We performed a transcriptomic analysis (Chip-on-chIP and transcript profiling) to identify chromosomal regions bound by Skn7, and genes regulated differentially upon Skn7 over-expression (OE). To study Skn7 function and regulatory network, we used epistasis, OE and mutagenesis approaches. WT or mutant alleles of SKN7 were integrated in *C. albicans* WT or mutant for other regulators of morphogenesis. We also studied suppression of the morphogenesis defect associated to SKN7 deletion upon OE of other morphogenetic regulators. The intracellular ROS levels were measured with 2',7'-dichlorodihydro-fluorescein diacetate. The measured fluorescence was normalized to cell concentration (OD600). Results Deletion of Skn7 abolished filamentation on solid inducing media<sup>7</sup>, while OE of SKN7 triggered filamentation in the absence of hypha-inducing cues<sup>5</sup>. We showed that Skn7 binds to ca. 100 regions on the *C. albicans* genome, many of them also exhibiting binding sites for transcription factors involved in the regulation of morphogenesis, including Efg1, Ndt80, Sfl1 and Sfl2. Epistatic studies led us to a model where Skn7 regulates genes involved in morphogenesis, including several key regulators of filamentation. We showed that Skn7 limited the increase in ROS associated with filamentation on solid media. Finally, we defined the role of the different domains of Skn7, identifying key residues needed to mediate the protein function. Conclusion Skn7 has an important role for *C. albicans* morphogenetic switch, a process required for virulence. Hence, impairing the function of this transcription factor could help reduce *C. albicans* virulence.

Mots-clés : Morphogenesis *Candida albicans* Regulatory network

<sup>1</sup> Pfaller, M.A., R.N. Jones, S.A. Messer, M.B. Edmond, and R.P. Wenzel (1998) National Surveillance of Nosocomial Blood Stream Infection due to *Candida albicans*: Frequency of Occurrence and Antifungal Susceptibility in the SCOPE Program. *Diag Microbiol Infect Dis* 31,

1: 327–32.2 2 Biswas, S., P. Van Dijck, and A. Datta (2007) Environmental Sensing and Signal Transduction Pathways Regulating Morphopathogenic Determinants of *Candida albicans*. *Microbiol Mol Biol Rev* 71: 348–76. 3 Lu, Y., C. Su, and H. Liu. “*Candida Albicans* Hyphal Initiation and Elongation.” *Trends in Microbiology* 22, no. 12 (2014): 707–14. doi:10.1016/j.tim.2014.09.001. 4 Khan, M.S.A., I. Ahmad, F. Aqil, M. Owais, M. Shahid, and J. Musarrat (2010) Virulence and Pathogenicity of Fungal Pathogens with Special Reference to *Candida albicans*. In *Combating Fungal Infections*, Eds.. I. Ahmad, M. Owais, M. Shahid, and F. Aqil, 21–45. Springer Berlin Heidelberg. 5 Reviewed in Sudbery, P.E. Growth of *Candida albicans* Hyphae (2011) *Nature Rev Microbiol* 9: 737–48. 6 Chauvel, M., A. Nesseir, V. Cabral, S. Znaidi, S. Goyard, S. Bachellier-Bassi, A. Firon, et al. (2012) A Versatile Overexpression Strategy in the Pathogenic Yeast *Candida albicans*: Identification of Regulators of Morphogenesis and Fitness. *PLoS One* 7: e45912. 7 Singh, P., N. Chauhan, A. Ghosh, F. Dixon, and R. Calderone. “SKN7 of *Candida Albicans*: Mutant Construction and Phenotype Analysis.” *Infection and Immunity* 72, no. 4 (2004): 2390–94.

### **P38. Impact of enrichment duration and pooling on *L. monocytogenes* detection in food**

*Nathalie Gnanou Besse*(1) , *Emilie Brasseur*(1) , *Martin Kalmokoff*(2), *Timothy Ells*(2), *Colin Buhariwalla*(2), *Sandra Favret*(1) , *Jennifer Desreumaux*(1) , *Jean Christophe Augustin*(1)

(1) Anses, (2) AAC

In the draft Standard method EN ISO 11290-1 under revision for the detection of *L. monocytogenes* (CEN/ISO parallel enquiry stage), the incubation time in Half Fraser broth (primary enrichment) is 24 +/- 2 h, however it is mentioned in a note that “A minimum of 24 h incubation is recommended, in particular in the case of stress or low contamination levels of *Listeria* spp. in the samples.” We investigated the impact of enrichment duration on the performance of the standard method EN ISO 11290-1 to detect *L. monocytogenes*. A model describing the growth of *L. monocytogenes* along pre-enrichment in half Fraser was developed accounting for three sources of variability: initial contamination, growth rate and individual cell behavior. The variability of the growth rate was deduced from 34 values previously published or obtained in our laboratory and the variability of the individual physiological state and individual behavior of cells contaminating food was deduced from the study of Dupont and Augustin (2009). For validation purpose, *L. monocytogenes* concentrations obtained after pre-enrichment of 88 naturally contaminated products were compared to levels predicted. We obtained good agreement between observed and simulated microbial counts after pre-enrichment. Significant differences with observed values were found if lag time variability and initial physiological state were not considered, which confirmed their major impact on growth. By performing simulations representative of natural contamination observed for smoked salmon in the European baseline survey 2010-2011, the model predicted a 5% decrease of the sensitivity when decreasing the enrichment duration from 24 to 22 h. For 24h, the model estimated a 10% loss of sensitivity in case of wet pooling by comparing the concentrations obtained after individual enrichment and after mixing five broths of which only one would be contaminated.

Mots-clés : listeria, enrichment, pooling, half-Fraser

### **P39. Les manifestations oculaires de la leptospirose : expérience du service des maladies infectieuses du CHU de Tizi-Ouzou**

*Malika Afiri(1), Anissa Amara-Korba(2), Djafer Ait Kaid(3)*

*(1) Service des Maladies Infectieuses, CHU Nedir Mohamed, Tizi-Ouzou, Algérie, (2) Institut Pasteur, Alger, Algérie, (3) EHS EL Kettar, Alger, Algérie*

Introduction- Les manifestations oculaires de la leptospirose sont fréquentes et polymorphes. Certaines sont contemporaines de la maladie, comme la suffusion conjonctivale observée lors de la phase de la leptospirose, d'autres sont plus tardives, survenant après la guérison. C'est le cas notamment des atteintes de l'uvéite et du nerf optique, complications les plus fréquentes. Objectifs - Décrire les aspects épidémiologiques, cliniques et biologiques des cas de leptospirose avec atteinte oculaire. Matériel et méthodes - Étude prospective de 175 cas de leptospirose, confirmés par le microagglutination test (Mat), admis au sein du service des maladies infectieuses du CHU de Tizi-Ouzou du 01/01/2005 au 31/12/2013. Parmi ces 175 patients, 32 présentaient des signes objectifs d'atteinte oculaire. Les critères définissant une atteinte oculaire étaient l'existence au moment de l'admission du patient ou du séjour hospitalier de l'un ou de plusieurs des signes suivants : rougeur et douleurs oculaires, diminution de l'acuité visuelle et anomalies de l'examen ophtalmologique. Résultats - Cent soixante quinze (175) patients constituaient l'effectif de l'étude. L'âge moyen était de 35,98 ans (14 - 84 ans), le sex- ratio de 114 hommes pour 61 femmes (1.86). Cliniquement une suffusion conjonctivale était présente dans 30 cas (17.34 %), bilatérale dans tous les cas, plus marquée au niveau de la portion palpébrale et rarement associée à une hémorragie conjonctivale ( n=4), une kératite sous épithéliale bilatérale dans un cas et une uvéite antérieure bilatérale dans un autre cas. Une riche symptomatologie extra oculaire, permettait d'évoquer une leptospirose dans tous les cas. La confirmation du diagnostic était sérologique (MAT). Le sérotype icterohaemorrhagiae prédominait (53.14%). Conclusion - La méconnaissance des manifestations oculaires de la leptospirose est souvent responsable d'un retard diagnostique notamment dans les formes anictériques. L'évolution potentiellement grave de l'uvéite justifie une surveillance ophtalmologique au cours de cette zoonose.

Mots-clés : Leptospirose - Uvéite - MAT - L.icterohaemorrhagiae

## **P40.Motifs d'hospitalisation des adultes présentant une varicelle : étude rétrospective de 93 cas**

*Malika Afiri, Hayet Bouchaib, Mohamed Touat*

*Service des Maladies Infectieuses, CHU Nedir Mohamed, Tizi-Ouzou, Algérie*

Introduction - La varicelle est une maladie de l'enfance due au virus varicelle-zona (VZV) de la famille des herpesviridae, très contagieuse, presque toujours bénigne, conférant l'immunité. Elle est l'expression clinique de la primo-infection, le zona de la réactivation du VZV. Chez l'adulte, l'infection est plus sévère, les complications sont plus fréquentes et la létalité plus élevée. De même, elle peut se révéler redoutable lorsqu'elle est contractée chez la femme enceinte, le nouveau-né et le sujet immunodéprimé. Objectifs - Décrire les motifs d'hospitalisation des adultes présentant une varicelle. Matériel et méthodes - Cette étude rétrospective, est effectuée sur les cas suivis dans le service des Maladies infectieuses du CHU de Tizi-Ouzou du 01/01/1998 au 31/12/2015. Le diagnostic était retenu sur des arguments épidémiologiques, cliniques, radiologiques et thérapeutiques (évolution favorable sous aciclovir). Résultats - L'étude concernait 93 patients âgés de 16 à 53 ans. Le sex-ratio était de 39 hommes pour 54 femmes (0.72). La varicelle était associée à plusieurs terrains : grossesse (n = 31), hémopathie (n = 10), corticothérapie (n =8), diabète (n=3), asthme (n=2), splénectomie (n=1),  $\beta$  thalassémie (n=1). Cliniquement une fièvre > 38.5°C était présente dans 32 cas, un exanthème vésiculeux dans 76 cas, vésiculopustuleux dans 15 cas, hémorragique dans 2 cas. Les autres manifestations cliniques étaient : une pneumonie (n =13), une ataxie cérébelleuse (n =2), des troubles de la conscience (n=1), une laryngite (n=1), un ictère (n=1). Sous traitement (aciclovir , n = 70, antibiotiques, n = 15 , et soins locaux, n = 93) l'évolution était favorable dans tous les cas. Conclusion – La grossesse, la surinfection cutanée et la pneumonie varicelleuse représentaient les motifs d'hospitalisation de l'adulte les plus fréquents. Le pronostic de la pneumonie est excellent en l'absence de retard de prescription d'aciclovir intraveineux.

Mots-clés : Varicelle - Adulte - Grossesse - Pneumonie



## **P41. La maîtrise du danger zoonotique Campylobacter en élevage de poulets**

*Michel Federighi, Soumaya Messaoudi*

*Oniris*

Aujourd'hui il est admis que *Campylobacter* représente l'un des principaux agents bactériens de Maladies Infectieuses d'Origine Alimentaire (MIOA) dans le monde. Selon l'Institut des Pathogènes Émergents (EPI) de l'Université de Floride, le couple *Campylobacter*-poulet est celui qui est à l'origine du plus grand nombre de cas de campylobactériose. En effet, le portage par les animaux de la filière volaille est très largement répandu, pouvant atteindre 100% des animaux. La maîtrise de cet agent zoonotique peut intervenir à différents niveaux de la chaîne alimentaire. Le maillon de l'élevage constitue un maillon important pour cette maîtrise car il comporte plusieurs opportunités d'actions. Ainsi, les bonnes pratiques d'hygiène d'élevage et de biosécurité peuvent constituer une stratégie pour prévenir la colonisation des animaux par *Campylobacter* (Vide sanitaire strict, changement de tenue régulier, désinfection des mains et des bottes, réduction des allées et venues, traitement de l'eau de boisson, lutte contre l'introduction des macro-nuisibles dans les poulaillers...). Cet intérêt se retrouve renforcé par le développement de mesures indirectes, complémentaires des bonnes pratiques, visant à réduire la charge intestinale de *Campylobacter* par les volailles. Ces stratégies peuvent être de deux grands types : - Globale et préventive, intervenant très tôt dans la vie des animaux et destinée à diminuer voire empêcher la colonisation des animaux par *Campylobacter*. On peut citer : la vaccination, la sélection génétique des animaux et l'utilisation de prébiotiques et probiotiques. - Plus ciblée sur le micro-organisme et intervenant quelques jours avant l'abattage afin de fournir à l'abattoir un lot d'animaux dont on a essayé de diminuer la charge intestinale en *Campylobacter*. On peut citer : l'utilisation d'additifs alimentaires, de bactériophages et de bactériocines. Pour certains auteurs, ces dispositions permettraient de réduire significativement l'incidence des campylobactérioses. Pour conclure, la réduction du portage de *Campylobacter* au stade de l'élevage doit reposer sur une forte base de Bonnes Pratiques Hygiéniques et de biosécurité, renforcées par des interventions ciblées choisies sur des critères d'efficacité, de praticité et de coût au regard du type de production.

Mots-clés : *Campylobacter*, poulets, élevage

## **P42. Ten years of surveillance of STEC in foodstuffs in France**

Christine Mazuy Cruchaudet(1) , Aurélie Granjon (1) , Valérie Vallet (2), Sophie Felix(1), Caroline Nicolo(3), Corinne Danan (4), Sabine Itié(4), Laurence Giuliani (4), Estelle Loukiadis(1)

(1) Université de Lyon, VetAgro Sup, Laboratoire national de référence pour les *E. coli* (y compris STEC), Marcy l'Etoile, France, (2) Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur, Service commun des laboratoires, Laboratoire de Lyon, Oullins, France., (3) Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur, Bureau 4B - Qualité et valorisation des denrées alimentaires, Paris, France, (4) Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt, Service de l'alimentation - Direction générale de l'alimentation, Sous-Direction de la sécurité sanitaire des aliments, Paris, France

Background and objectives: Shiga toxin producing *Escherichia coli* (STEC) are major food-borne pathogens causing severe and sometimes lethal human infections. Although a large variety of STEC serogroups have been linked to foodborne infections, only five of them (so called top 5 STEC) are responsible for severe cases. Transmission of STEC to humans occurs mainly through consumption of food contaminated directly or indirectly by animal faeces (cattle in particular). Food business operators should not put on the market any food injurious to health and authorities must ensure compliance with these rules notably by setting up of official controls through annual monitoring programs. This study presents the contamination rate of 'at risk' foodstuffs of animal origin and plant obtained during the French monitoring plans from 2005 to 2015. Methods: All samples were screened for the presence of top 5 STEC according to the ISO 13136:2012 Technical Specification (1). This stepwise method consists of an enrichment step followed by DNA extraction and real-time PCR-based screening for the presence of *stx* and *eae* genes and the five O group markers. Finally, STEC isolations are attempted from suspected samples to identify *E. coli* isolates that harbor virulence-related genes and at least one O group marker. All *E. coli* isolates were further characterized by PCR subtyping of *stx1* and *stx2* genes as described previously (2). Their flagellar *fliC* alleles and *eae* variants were determined by real-time PCR assays according to Madic et al., 2010 (3). Presence of additional virulence markers (*ehxA* gene and O1-122-associated genes) were screened by PCR as described previously (4; 5). Results: The surveillance plans implemented since 10 years by the French authorities show that rates of contamination of foodstuffs at higher risk with top five STEC are low: less than 0.5% for minced beef meat, lower than 0.9% for raw milk cheeses and null for vegetables. Whatever the food samples investigated, O26:H11 was the most prevalent STEC serotype detected. According to their virulence genetic profiles, all of the top five STEC isolated should be considered highly pathogenic for humans. Some *E. coli* belonging to one of the top 5 STEC serotype and harboring *eae* gene without any *stx* genes were also recovered. Strikingly, such strains were as frequently isolated as STEC strains in food and shared the same virulence profile as the top 5 isolates. All the results obtained gave data to evaluate the consumer

exposition to STEC hazard in France.

Mots-clés : STEC, EHEC, surveillance, minced beef meat, raw milk cheeses, sprouts, vegetables, France

1) ISO/TS 13136:2012 Microbiology of food and animal feed - Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens - Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups 2) Scheutz F, Teel LD, Beutin L, Pierard D, Buvens G, Karch H, Mellmann A, Caprioli A, Tozzoli R, Morabito S, Strockbine NA, Melton-Celsa AR, Sanchez M, Persson S, O'Brien AD. 2012. Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature. *J Clin Microbiol* 50:2951–2963. 3) Madic J., C. Peytavin de Garam, N. Vingadassalon, E. Oswald, P. Fach, E. Jamet and F. Auvray. Simplex and multiplex real-time PCR assays for the detection of flagellar (H-antigen) *fliC* alleles and intimin (*eae*) variants associated with enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 and O157:H7. *Journal of Applied microbiology*, jul 2010, vol 9(5), p 1696-705. 4) Paton AW, Paton JC. 1998. Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, enterohaemorrhagic *E. coli* *hlyA*, *rfbO111*, and *rfbO157*. *J Clin Microbiol* 36:598–602. 5) Karmali Mohamed A., Mariola Mascarenhas, Songhai Shen, Kim Ziebell, Shelley Johnson, Richard Reid-Smith, Judith Isaac-Renton, Clifford Clark, Kris Rahn, and James B. Kaper. Association of Genomic O Island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* Seropathotypes That Are Linked to Epidemic and/or Serious Disease *Journal Of Clinical Microbiology*, Nov. 2003, p. 4930–4940 Vol. 41, No. 11

### **P43. Transferts bactériens de bactéries pathogènes vers l'aliment**

Graziella Bourdin(1) , Guylaine Leleu(1) , Clémence Couvreur(1) , Stéphanie La Carbona(2), Catherine Denis(2)

(1) Anses, (2) ACTALIA

*Listeria monocytogenes* est une bactérie pathogène, dont la principale voie de contamination est la voie alimentaire. Une des voies de contamination des aliments est l'environnement des ateliers avec le transfert des bactéries des surfaces, qui peuvent être en structure biofilm, vers les aliments. L'étude a porté sur les transferts bactériens (biofilms flore d'altération / *L. monocytogenes*) d'une surface inerte vers un aliment (saumon fumé en tranches) dans le but d'évaluer les possibilités de re(contamination) d'aliments sains ou souillés et d'évaluer la capacité de croissance de cette population post-contaminante dans l'aliment. Nous avons quantifié le transfert de bactéries d'une surface (coupon PVC) vers du saumon fumé (produit fini) et étudié la capacité de croissance des bactéries transférées dans cet aliment. La population atteinte par *Listeria* dans les biofilms mixtes était plus élevée en présence de *Carnobacterium* qu'en présence de *Pseudomonas*. Le taux de transfert de *Listeria* vers l'aliment était plus important lorsqu'elle était en biofilm mixte avec *Pseudomonas* que lorsqu'elle était en biofilm monospèce et en biofilm mixte avec *Carnobacterium*. Le transfert était également plus grand pour *Pseudomonas* que pour *Carnobacterium*. La croissance des bactéries transférées du biofilm dans le saumon fumé ionisé a été comparée à la croissance sur le même saumon contaminé à partir des bactéries en suspension sous forme planctonique. Les potentiels de croissance de *L. monocytogenes* était similaires pour la soucheensemencée seule ou en coculture avec *Pseudomonas* mais était inférieurs en coculture avec *Carnobacterium* après transfert du biofilm.

Mots-clés : biofilm, *Listeria monocytogenes*, transfert, aliment

### **P44.32. Mécanismes de résistance aux bêtalactamines et clonalité des souches de *Moraxella catarrhalis* isolées en réanimation pédiatrique**

Yosra Megdich(1) , Hanen Smaoui(1) , Mondher Belhadj(2), Dalel Sediri(3), Aida Bouafsoun(3), Amel Kechrid(3)

(1) Université de Tunis El Manar, Faculté de Médecine de Tunis, UR12ES01, Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis, (2) Université de Tunis El Manar, Faculté de Médecine de Tunis, Laboratoire de Résistance aux antimicrobiens LR99ES09, (3) Université de Tunis El Manar, Faculté de Médecine de Tunis, UR12ES01, Hôpital d'Enfants Béchir Hamza, Service de Microbiologie, Tunis,

Objectifs : Les buts de ce travail sont d'étudier les mécanismes de résistance aux bêta-lactamines des souches de *Moraxella catarrhalis* isolées au Laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis et d'analyser leur profil épidémiologique par électrophorèse en champ pulsé (PFGE). Méthodes : Cette étude a été réalisée sur 13 souches non répétitives de *M. catarrhalis* provenant de prélèvements chez des enfants hospitalisés au service de Réanimation Pédiatrique durant l'année 2013. Les CMI des bêtalactamines et de l'érythromycine ont été déterminées par E-Test et interprétées selon les normes CA-SFM 2015. La PCR a été utilisée pour détecter les gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines en utilisant des amorces spécifiques du gène bla et des allèles bro (bro-1, bro2). Les liens phylogénétiques entre les souches ont été déterminés par la PFGE après une digestion enzymatique par l'enzyme SmaI et une autre par l'enzyme SpeI. Résultats : Tous les isolats de *M. catarrhalis* étaient producteurs de  $\beta$ -lactamase donc résistantes à l'ampicilline. Tous les isolats étaient sensibles à l'amoxicilline/acide clavulanique, au céfotaxime, au céfuroxime et à la céftriaxone. Concernant l'érythromycine, toutes les souches étaient résistantes ou intermédiaire à cet antibiotique. L'amplification par PCR a permis de déterminer le type de  $\beta$ -lactamase produite : 12 isolats de *M. catarrhalis* (92,31 %) avaient le gène codant pour l'enzyme BRO-1 et 1 seul isolat avait le gène codant pour l'enzyme BRO-2 (7,69 %). La souche BRO-2 avait une CMI de l'ampicilline très basse (0,25mg/l) par rapport à celles BRO-1 (allant de 2 à 16 mg/l). Les profils de PFGE obtenus par SmaI ont généré des profils rapprochés, tandis que tous les profils obtenus par SpeI étaient différents. Conclusion : La propagation de la résistance aux  $\beta$ -lactamines se fait généralement par les souches BRO-1. L'amoxicilline/acide clavulanique reste constamment actif sur les souches de *M. catarrhalis* et représente le traitement de référence des infections dues à cette bactérie. L'absence de clonalité des souches étudiées, permet d'exclure une épidémie dans le service de Réanimation Pédiatrique

Mots-clés : *Moraxella catarrhalis*, pédiatrie, beta-lactamines, mécanisme de résistance, PFGE

### **P45.33. BIOSPECIMENS: A WEBSITE TO FACILITATE COLLABORATIVE RESEARCH ON INFECTIOUS DISEASES**

*Blandine Rimbault(1) , Karen Louis(1) , Christelle Gaillard(1) , Laurent Costaz(2), Cyril Guyard, Artem Khlebnikov(1) , Alain Troesch(1)*

*(1) BIOASTER, (2) BIAOSTER*

BIOASTER is a Microbiology Technology Institute dedicated to infectious diseases. BIOASTER was established as a Foundation for Scientific Cooperation based on an innovative public/private partnership model. It offers a novel approach to R&D integrating several scientific and technological disciplines, with the aim of conducting research programs on the frontier between basic research and industrial development in the fields of infectious diseases and microbiology, including a focus on the understanding of microbiota and its impact on health. The “Biological collections and microbiology” Unit of BIOASTER facilitates collaborations between scientists requiring biological resources and scientists holding biological collections. Access to basic information about available biological collections through a centralized access point is a key element for the success of collaborative research projects. The missions of the “Biological Sample Collections” Unit are therefore to: - Constitute and strengthen a network of collaborators holding biological resources (bacterial or viral strains, human samples); - Promote the value of the collections of our network (i.e. by providing support for the annotation of resources or the data entry); - Coordinate the creation of prospective collections or implement existing ones; - Perform upstream scientific on biological specimens by using molecular biology, immunology, bacteriology, virology and cell culture methods. “BIOSPECIMENS”, a web application fostering collaborations in the scope of infectious diseases and microbiology. BIOSPECIMENS is a collaborative platform which brings together project leaders and biological sample holders in the fields of infectious diseases and microbiota. This web application, developed by the «Biological sample collections» unit, allows users to: - Submit requests for microbial isolates and/or human samples through intuitive and detailed forms in a secure interface; - Interact directly with the team of the “Biological collections and microbiology” Unit; - Stay regularly informed about the progress of their requests (detailed online workflow accessed by connection with a personal account and string of emails); - Share information concerning their biological resources with the “Biological collections and microbiology” Unit in order to optimize their scientific value in collaborative research projects.

#### **P46. Cooperation between *Staphylococcus aureus* and *Helcococcus kunzii* in diabetic foot**

Christelle Ngba Essebe(1) , Orane Visvikis(2), Vincent Cattoir(3), Anne Vergne(4), Alain Lecoustumier(4), Emmanuel Lemichez(2), Jean-Philippe Lavigne(1) , Catherine Dunyach-Remy(1)

(1) INSERM U1047, (2) INSERM U1065, (3) CHU Caen, (4) CH Cahors

**Objectives-** Foot ulcers are common in diabetic patients. Frequently, these ulcers become infected. This infection is usually polymicrobial and *Staphylococcus aureus* is the most prevalent pathogen isolated. *Helcococcus kunzii* strains, commensal Gram-positive cocci, were isolated from these ulcers in association with *S. aureus*. The purpose of this study was to evaluate the role of *H. kunzii* in the presence/absence of *S. aureus* strains. **Methods-** 23 *H. kunzii* strains and 2 *S. aureus* strains isolated from diabetic foot ulcers, and the reference *S. aureus* strain Newman were used. The virulence of the strains, alone or in association, was evaluated with the *Caenorhabditis elegans* model (Determination of Lethal Time 50% (LT<sub>50</sub>), the number of bacteria within the *C. elegans* digestive tract and the feeding behavior of worms). To study the host response, qRT-PCR targeting immune defense genes specific to *C. elegans* were performed. **Results-** 74% of *H. kunzii* strains tested were avirulent (LT<sub>50</sub>: 6.9 days ±0,5) and 26% presented a low virulence (LT<sub>50</sub>: 5.7 days ±0,4) compared to OP50, the natural food of worms (LT<sub>50</sub>: 7.1 days ±0,5) (p<0.001). In contrast, *S. aureus* strains (LT<sub>50</sub>: 2.9 days ±0,4) were significantly more virulent than all *H. kunzii*. When *H. kunzii* and *S. aureus* strains were associated, *H. kunzii* reduced significantly the virulence of the *S. aureus* strain (LT<sub>50</sub> between 4.4 and 5.2 days; p<0.001). To confirm the role of *H. kunzii* isolates, we verified the ingestion of the two strains in the *C. elegans* intestine. The number of the different *H. kunzii* and *S. aureus* CFU within the nematode gut varied around 10E5 bacteria per worm between each combination without statistical difference. To evaluate the impact on host of these strains, transcriptomic analysis showed that the ingestion of *S. aureus* led to strongly activate expression of defense genes (*lys-5*, *sodh-1* and *cyp-37*) while *H. kunzii* doesn't. No statistical difference was observed when worms were infected by *S. aureus* alone or with *S. aureus* + *H. kunzii*. **Discussion-** Our study showed that *H. kunzii* decreases the virulence of *S. aureus* without modification of immune defense genes of the host. Factor(s) modulating the staphylococci virulence must be investigated.

Mots-clés : *Staphylococcus aureus*, *Helcococcus kunzii*, cooperation, polymicrobial infection, virulence

## **P47. Modulation de la perméabilité membranaire et de la virulence chez *Escherichia coli* ST131**

*Alix Pantel*(1) , *Marie-Hélène Nicolas-Chanoine*(2), *Christelle Ngba Essebe*(1) , *Catherine Dunyach-Remy*(1) , *Jean-Marie Pagès*(3), *Albert Sotto*(1) , *Jean-Philippe Lavigne*(1)  
(1) INSERM U1047, (2) AP-HP Beaujon, (3) Unité MD1

Objectif: L'imperméabilité membranaire et la surproduction de pompes à efflux sont impliquées dans le phénotype de Multi-Drug-Resistance (MDR). L'objectif de cette étude était de comprendre les mécanismes régulant la perméabilité membranaire et d'évaluer leur impact sur la virulence du clone *Escherichia coli* ST131. Méthodes: Trois souches d'*E. coli* uropathogènes ont été utilisées : MECB5 (ST131, H30-Rx), S250 (ST131, H22) et CFT073 (ST73). Les souches ont été élevées en conditions subinhibitrices (0,25 x CMI) d'ertapénème (ETP), de chloramphénicol (CMP) et de céfoxitine (FOX). Chez les mutants résistants obtenus, les gènes régulateurs de la MDR (*marR*, *acrR* et *soxR*) ont été séquencés. Les phénotypes d'efflux ont été caractérisés: mesure des CMI d'un panel d'antibiotiques avec ou sans inhibiteur de pompes à efflux (PA $\beta$ N). L'expression des porines et pompes de la membrane externe a été évaluée par Western Blot. L'expression des gènes régulateurs de la résistance a été documentée par qRT-PCR. Les capacités de swarming/swimming (mesure de diamètre) et formation de biofilm (Biofilm Ring Test) ont été déterminées. La virulence des souches parentales et de leurs mutants a été évaluée *in vivo* dans le modèle *Caenorhabditis elegans* en établissant des courbes de survie. Résultats obtenus: Des mutations ont été objectivées dans les gènes *marR* (délétion de 127 paires de bases (pdb) pour MECB5-FOX, 1 pdb pour CFT073-CMP entraînant un codon stop prématuré) et *acrR* (insertion d'IS1 pour MECB5-FOX). En accord avec les résultats des CMI +/- PA $\beta$ N, l'expression des gènes et des protéines impliqués dans l'efflux était significativement augmentée chez les mutants sélectionnés par CMP et FOX. Les porines (*OmpC*, *OmpF*) étaient sous-exprimées chez les mutants sélectionnés par ETP et FOX. La mobilité des mutants sélectionnés par FOX était significativement affectée. Les capacités de formation de biofilm et la virulence chez *C. elegans* étaient augmentées chez les mutants isogéniques sélectionnés par CMP et significativement diminuées chez les mutants sélectionnés par ETP et FOX. Conclusion: Cette étude sur les mécanismes non enzymatiques de MDR d'*E. coli* ST131 met en évidence une remarquable adaptabilité de ce clone mondial à la pression antibiotique.

Mots-clés : *Escherichia coli* ST131, virulence, résistance, imperméabilité membranaire, gènes régulateurs, *Caenorhabditis elegans*



#### **P48. Hepatitis A and E seroprevalence and associated risk factors, Monastir**

*Salma Mhalla(1) , Basma Abdi(1) , Aida El Argoubi(2), Yosr Kadri(1) , Hamza Ouaz, Mohsen Hassin(3), Maha Mastouri(1)*

*(1) Laboratoire de Microbiologie EPS Fattouma Bourguiba Monastir, (2) Laboratoire de Microbiologie EPS Fattouma Bourguiba de Monastir, (3) Laboratoire d'hématologie EPS Fattouma Bourguiba Monastir*

Background/objective: Both hepatitis A virus (HAV) and hepatitis E virus (HEV) are transmitted by oro-fecal routes and are closely related to poor socioeconomic conditions. Furthermore, parenteral transmission is now well established especially for HEV. In Tunisia, HAV incidence have shifted from young to old ages over the past decades, indicating a possible change from high to intermediate endemicity. Whereas, the incidence of anti-HEV still not well studied and varies widely into high risk populations. The aim of this study is to determine the prevalence of HEV and HAV among blood donors in Monastir (central Tunisia). Material/methods: This is a cross sectional study carried out among 218 blood donors enrolled between July and November 2014. A questionnaire was applied to obtain information about sociodemographic data. All samples were already tested negative for hepatitis B surface antigen, HIV and Hepatitis C virus antibodies. Antibodies against HAV IgG and IgM were detected using Chemiluminescent assay (Architect, Abbott, USA). Antibodies against HEV IgG and IgM were tested by commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits (EUROIMMUN, Germany). Data were analyzed using SPSS. Results: In this study, we enrolled 218 blood donors (197 males and 21 females) ranged from 18 to 58 years (mean age: 33 years). HAV IgG antibodies were detected in 200 subjects with an Overall seroprevalence rate of 91.7%. No significant association was found between HAV positivity and the studied risk factors. Overall, anti-HEV IgG were found in 10 samples (4,6%) and anti-HVE IgM was positive in 1 sample (0.5%) reflecting an acute HEV infection. Of the studied risk factors, positive anti-HEV IgG were correlated essentially to age>30 years ( $p = 0.006$ ) and to low level of education ( $p=0.01$ ,  $OR=5.78$  [1.2-27.9]) (Table). After adjustment by using logistic regression analysis, age>30 years remained as a significant independent predictor of HEV seropositivity. Conclusions: According to our results, HAV is still endemic in Tunisia (91.7%), whereas HEV seroprevalence (4.6%) confirms the low endemicity but also circulation of this virus in our country. The reason for distinct epidemiologic profiles of HAV and HEV in Tunisia, two enterically-transmitted hepatitis viruses, may be partly due to the absence of contact and consumption of pigs; main reported risk factor to HEV infection. However, stronger measures have to be implemented to prevent fecal contamination of food and water and risk related to blood transfusion, especially among weakened recipients.

Mots-clés : hepatitis E virus-hepatitis A virus-prevalence-risk factors

1- Claudia Lamarca Vitral, Mônica da Silva-Nunes, Marcelo Alves Pinto, Jaqueline Mendes de Oliveira et al. Hepatitis A and E seroprevalence and associated risk factors: a community-based cross-sectional survey in rural Amazonia. BMC Infectious Diseases 2014, 14:458 2- M. Rapicetta, R. Monarca, L. A. Kondili, Chionne et al. Hepatitis E virus and hepatitis A virus

exposures in an apparently healthy high-risk population in Italy. *Infection* (2013) 41:69–76

**P49. Prevalence and risk factors of hepatitis B and C among hemodialysis patients**

Salma Mhalla(1) , Aida El Argoubi(1) , Yosr Kadri(1) , Basma Abdi(1) , Amel Nabli, Ameer Frih(2), Maha Mastouri(1)

(1) Laboratoire de Microbiologie EPS Fattouma Bourguiba Monastir, (2) Unité d'hémodialyse, EPS Fattouma Bourguiba Monastir

Background/objective: Hemodialysis (HD) patients are at increased risk for hepatitis C virus (HCV) and hepatitis B virus (HBV) infections which are significant causes of mortality and morbidity. Prevention of their transmission in HD centers, remains a challenge throughout the world. The aim of this study was to investigate the prevalence of these two infections and to explore major factors related to their occurrence, among patients on chronic HD. Material/methods: This cross-sectional study carried out among 109 patients undergoing HD between 2013 and 2014 in F. Bourguiba teaching Hospital, Monastir-Tunisia. Socio-demographic data, medical history and symptoms were assessed. Anti-HCV antibodies, hepatitis B surface antigen (HBsAg), anti-HBc antibodies, and hepatitis B surface antibodies were detected using chemiluminescent assay (Architect, Abbott, USA). HBV DNA and HCV RNA were detected using a quantitative real-time PCR by respectively artus® HBV RG PCR kit and artus® HCV RG RT-PCR kit (Rotor-Gene, Qiagen). Results: In this study, 109 HD patients were enrolled (75 males and 34 females), ranged from 21 to 81 years (mean age: 50 years  $\pm$  14,7). Positive HBsAg was detected in 4 patients (3.6%) while «isolated anti-HBc» profile was found in 8 patients (7.3%) including one coinfection with HCV, and two (1.9%) with detectable HBV DNA. Positive HCV serology was found in 8 patients (7.3%) and 5 of them had detectable HCV RNA. The duration of dialysis ( $p=0.002$ ), [OR (CI 95%) = 8.23 (1-383)] and frequency of sessions exceeding two per week ( $p=0.05$ ), [OR (CI 95%) = 9.25 (1.6-66)] were the main risk factors for HCV infection in our study. There was a statistically significant correlation between the presence of HBV infection and high levels of serum ALT ( $p= 0.009$ ), [OR (CI 95%) = 30 (1.7-559.5)]. Conclusions: The prevalence of HCV infection in this HD unit (7.3%) was lower than ones reported in other HD Tunisian centers, but it still considerably higher than in general population. The risk of HCV infection through blood transfusion in HD patients has decreased significantly in our country but cases of infected HD patients are surely the result of nosocomial patient-to-patient transmission. This finding have however to be confirmed by phylogenetic analysis. Accordingly, the strict implementation of hygienic precautions against HCV transmission could markedly decrease the incidence of this infection. In addition, the detection of occult HBV infection in 2% of our patients indicated that HBV DNA should be investigated periodically in the HD patients with “isolated anti-HBc” profile.

Mots-clés : Hepatitis B virus-Hepatitis C virus-Hemodialysis-Prevalence-Risk factors

## **P50. Investigation of NDM-1-producing *Morganella morganii* outbreak using Whole Genome Sequencing**

*Laurent Dortet*(1), *Delphine Girlich*(2), *Remy Bonnin*(2), *Philippe Glaser*(2), *Thierry Naas*(3)  
(1) AHP-UPSud-Institut Pasteur, (2) APHP-UPSud-Insitut Pasteur, (3) APHP-UPSud-Institut Pasteur

Background: *Morganella morganii* is a Gram-negative rod belonging to the Enterobacteriaceae family. It is ubiquitous in the environment and can cause nosocomial outbreaks and serious infections in immune-compromised patients. While carbapenemase NDM-1-producing Enterobacteriaceae are increasingly isolated worldwide, NDM-producing *M. morganii* have only rarely been described and no outbreak reported yet. Here, we report the first NDM-1-producing *M. morganii* outbreak from France that was characterized by whole genome sequencing (WGS). Material/methods: The genomic DNA was extracted using UltraClean® microbial DNA isolation kit (MO BIO Laboratories). Nextera® XT DNA sample preparation kit (Illumina, San Diego, CA) was used for the preparation of DNA libraries and Illumina MiSeq 2000 sequencer with v3 chemistry using 2x75-bp paired-end reads were used for sequencing. Antimicrobial susceptibility was performed according to Eucast guidelines. Nineteen NDM-1-producing *M. morganii* clinical isolates recovered in the South-Western (SW) part of France and one isolate recovered from a patient hospitalized in “La Réunion” island located in the Indian Ocean, were investigated. Results: From May 2013 to September 2015, twenty multidrug resistant (MDR) NDM-1-producing *M. morganii* isolates were received for expertise at the Associated French National Reference Center for Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Since 19 isolates came from the SW part of France, epidemiological investigations were performed in order to highlight possible routes of transmission. Due to the intrinsic properties of *M. morganii*, genomic comparisons failed using rep-PCR, RAPD or PFGE. WGS revealed that these 20 NDM-1 *M. morganii* isolates could be divided into two major clones. The first clone (C1), contains only the isolate from La Réunion island, and was highly divergent from the 19 other isolates (> 30,000 SNPs in the core genome). The second clone, containing the 19 isolates from the South West of France, belonged to a single clone that could be divided in three distinct subclones. Subclones C2.1 and C2.2, contained only one isolate each, and were recovered from patients with a history of previous hospitalization in India. The third subclone C2.3 included 17 isolates recovered from 16 patients with no history of hospitalization abroad. Although these three subclones did not share the same global resistome, they were closely related with less than 50 SNPs differences in their core genomes. Our results suggest a local dissemination of NDM-1-producing *M. morganii* in SW of France or a low diversity of NDM-1-producing *M. morganii* in endemic countries such as India. WGS results and Kieser extraction on the 17 isolates belonging to subclone C2.3 failed to detect any plasmid-encoded NDM-1. Similarly, conjugation and transformation experiments failed to transfer blaNDM-1 gene, suggesting a chromosomal location of blaNDM-1. Conclusions: Here we describe the first regional outbreak of MDR NDM-1-producing *M. morganii*, involving 16 patients in three hospitals in the South West of France.

Mots-clés : NGS, outbreak investigation

## **P51. Epidémiologie des bactéries multi-résistantes au niveau de l'environnement hospitalier: CHU Marrakech**

*Adel Elmekes*

*faculté des sciences Semlalia Univeristé cadí ayyad Marrakech*

La surveillance microbienne de l'environnement dans les établissements de santé est un sujet qui s'intègre dans la prévention des infections nosocomiales (IN), surtout dans les unités de soins intensifs où sont réunis plusieurs facteurs d'acquisition des IN (soins invasifs, immunodépression, traitement antibiotique à large spectre...). L'objectif de notre étude est d'analyser la composition microbienne qualitative et quantitative de l'environnement des services à haut risque infectieux au niveau de l'hôpital Ibn Tofail, CHU Mohammed VI, Marrakech. Matériel et méthode : Il s'agit d'une étude prospective menée au niveau de quatre services (deux blocs opératoires, deux réanimations polyvalentes de l'adulte) du CHU Mohammed VI Marrakech durant une période de quatre mois (Mars à Juin 2014). Les prélèvements concernaient les surfaces et les mains du personnel soignant. Le niveau de la résistance aux antibiotiques a été étudié par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Le choix des antibiotiques et les critères d'interprétation de l'antibiogramme ont été faits selon les normes du comité européen sur les antibiogrammes (EUCAST) Résultats : Durant la période d'étude, 95 souches bactériennes ont été isolées sur les 125 échantillons prélevés. Le profil de résistance aux antibiotiques montre que 46 % (44/95) des souches étaient multirésistantes dont 19 % de souches d'Acinetobacterbaumanniirésistantes à l'imipenème (ABRI), 17% des entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre étendu (EBLSE) et 8 % des Staphylococcus aureus résistantes à la méticilline (SARM). Le plus faible taux (4%) était obtenu pour les souches de Pseudomonas aeruginosarésistantes aux carbapénèmes (PARC). Il est à signaler que les ABRI ont été retrouvés essentiellement au niveau des surfaces des réanimations alors que les EBLSE ont été prédominantes dans les surfaces des blocs opératoires. D'autre part les SARM ont été isolées des empreintes du personnel soignant et les surfaces inertes au niveau de tous les services concernés. Conclusion : La présence alarmante des BMR dans l'environnement hospitalier doit inciter tous les acteurs (biologistes, hygiénistes, cliniciens, personnel soignant...) à doubler d'effort pour la maîtrise de ces bactéries.

Mots-clés : Mots clés : Bactéries multi résistantes, Epidémiologie, CHU Marrakech

[1]- Saouide el ayne N., Echchel A., Chaouch A., Auajjar N., Hamama S., Soulaymani A. Rôle de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales: surveillance de la flore des surfaces a l'hôpital ELIDRISSI de Kénitra – Maroc , (2014) European Scientific Journal March 2014 edition vol.10, No.9 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431. [ 2] – Cavallo J., Antoniotti G., N., Guignement-coudraisbaffoy S., Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé, DGS/DHOS, CTIN, (2002). [3]- Gould M., Meer Jos W., Antibiotic policies theory and practic, 2005.

## **P52. Epidémiologie des bactéries multi-résistantes isolées dans les unités de soins intensifs**

*Adel Elmekes*

*faculté des sciences Semlalia Univeristé cadí ayyad Marrakech*

Les infections à bactéries multi-résistantes (BMR) constituent un problème majeur de santé publique partout dans le monde. Dans les unités de soins intensifs ce phénomène prend une grande ampleur vue la fragilité des patients. L'objectif de notre étude est de connaître l'épidémiologie des bactéries responsables d'infections au niveau des certaines unités de soins intensifs de l'hôpital Ibn Tofail, CHU Mohammed VI, Marrakech et par la suite montrer le niveau de leur résistance aux antibiotiques. Matériel et méthode : Il s'agit d'une étude prospective menée au service de réanimation des adultes à l'Hôpital Ibn Tofail, CHU Mohammed VI Marrakech, sur une période de 6 mois (Mars à Septembre 2015). Les prélèvements ont été envoyés au laboratoire pour une visée diagnostique. Le niveau de la résistance aux antibiotiques a été étudié par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Le choix des antibiotiques et les critères d'interprétation de l'antibiogramme ont été faits selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie et les normes du Comité Européen sur les Antibiogrammes (EUCAST, 2015). Résultats : Durant la période d'étude, 225 souches bactériennes ont été isolées sur les échantillons prélevés. Le profil de résistance aux antibiotiques montre que 43 % des souches étaient multirésistantes. Les BMR étaient représentées essentiellement par des souches d'*Acinetobacter baumannii* résistantes à l'imipénème (ABRI) 72 %, suivi des entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre étendu (EBLSE) 19 %, puis 6% des *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM). Alors que seulement 3% des BMR ont été caractérisées comme étant des souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à la ceftazidime (PARC). Nous avons montré par ailleurs, que les infections nosocomiales dues aux BMR étaient dominées par les pneumopathies (44 % des cas), suivies par des bactériémies, des infections urinaires, des infections sur cathéters et des méningites avec des fréquences qui sont respectivement de l'ordre de 26 %, 12 %, 11 % et 4 %. Conclusion : la présence alarmante des BMR et surtout les ABRI comme bactéries responsables des infections nosocomiales au niveau du service de réanimation nous incite à doubler d'effort dans la surveillance et la lutte contre la diffusion de ces microorganismes.

Mots-clés : Bactéries multi résistantes, Epidémiologie, unité de soins intensifs; CHU Marrakech

[1] L.Arsalane, Y. Qamouss, A .Chafik, M. Boughalem , L.Louzi (2009) Epidémiologie des bactéries multi résistantes dans un service de réanimation polyvalente d'un hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006 et septembre 2009. les technologies de laboratoire Vol 5, N°21 [2] Marta M., Jolanta R., Halina M., Miroslaw L., (2005) Multidrug-resistant bacteria isolated from patients hospitalised in Intensive Care Units. International journal of antimicrobial agents Vol. 27 Pages 285–289 [3] Rosenthal et Ms. Guzmán. Dr. Crnich. (2006) Device-associated nosocomial infection rates in intensive care units in four

## **P53. Microbiological Carasterisazation Of Clinically Significant Coagulase-Negative Staphylococci (CNS)**

Chimène Nanoukon

*Institut de Bactériologie de l'Université de Strasbourg*

**Abstract Background:** Coagulase negative staphylococci (CNS) are now considered true nosocomial and community pathogens. In Africa and particularly in Benin, little interest granted to them and there is not enough data to improve the management of these infections. The aim of this study was to determine the microbiological characteristics of clinically significant coagulase negative staphylococci collected at the National University Hospital Center Hubert K. Maga (CNHU-HKM) of Cotonou, Benin. **Materials and methods:** Eighty-nineteen CNS strains were identified to species level by API® STAPH and confirmed by MALDI-TOF MS. Their antibiotic resistance profile was determined by VITEK 2. We also tested strains for their hemolytic, protease and esterase activity respectively on human erythrocytes, azocasein and tween 80. **Results:** The most frequently species isolated were *S. haemolyticus* (44%) followed by *S. epidermidis* (22%) and *S. hominis* (7%). Bacteremia (66.7%) and urinary tract infections (24.2%) were the most CNS infections encountered. The strains were resistant to several antibiotics, including penicillin (92%) fosfomycin (81%), methicillin (74%), trimethoprim-sulfonamide (72%), cefoxitin (74%) and kanamycin (65%). Only sensitivity to vancomycin and linézoïde were 100%. The most CNS species isolated were the most resistant to methicillin with 100% for *S. hominis* 93% for *S. haemolyticus* and 67% for *S. epidermidis*. Resistance rate to other antibiotics of methicillin resistant CNS (MRCNS) was higher significantly ( $p < 0.001$ ) compared to methicillin sensible CNS (MSCNS) in this study. Screening of exotoxins production revealed hemolytic activity of 25% of the culture supernatant to a quarter of their dilution at least 50% of red blood cells. Twenty-six percent exhibited protease activity which 5% low, 10% moderate and 11% high activity. Research of esterase activity also showed 25% of positive strains. **Conclusions:** This microbiological study reveals the diversity of CNS clinically significant and putative pathogenic species such as, *S. haemolyticus* and *S. epidermidis* who were the most exoenzymes producers.

**Mots-clés :** Keywords: microbiological carasterisazation, Coagulase Negative Staphylococci (CNS), exoenzymes.

Wey, S.B., Cardo, D.M., Halker, E., Carratu, F.P. and Saes, A.C. (1990) Distribution and analysis of 8268 nosocomial infections at the Hospital Sao Paulo: 1985 to 1989. *Rev Hosp Sao Paulo* 1, 169–174. Wenzel, R.P., Nettleman, M.D., Jones, R.N. and Pfaller, M.A. (1991) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: implications for the 1990s and effective control measures. *Am J Med* 91(Suppl. 3B), 2215–2275. Mohan U, Jindal N, Aggarwal P. (2002). Species distribution and antibiotic sensitivity pattern of coagulase negative staphylococci isolated from various clinical specimens. *Indian J Med Microbiol*; 20: 45-46. Koksai, F., Yasar, H., Samasti, M. (2007). Antibiotic resistance patterns of coagulase-negative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey. *Microbiol. Res.*, doi:10.1016/j.micres. 03.004. Azuka Azih and Idahosa Enabulele. (2013) Species Distribution and Virulence Factors of Coagulase Negative Staphylococci Isolated From Clinical Samples From the University of Benin Teaching Hospital, Edo State, Nigeria. *Journal of Natural Sciences Research* ISSN 2224-3186 (Paper) ISSN 2225-0921 (Online) Vol.3, No.9.



#### **P54. Management de la phase pré-analytique en microbiologie**

*Aida Elargoubi(1) , Besma Abdi(2), Salma Mhalla(3), Ons Haddad(4),*

*(1) CHU Fattouma Bourguiba , (2) Faculté de Pharmacie Monastir. Tunisie, (3) CHU F.B Monastir Tunisia, (4) CHU F.B Monastir Tunisie*

Introduction : L'objectif de ce travail est d'étudier les détails de la phase pré-analytique (PPA) en microbiologie afin de déterminer les écarts avec les exigences du guide de bonnes pratiques de laboratoire (GBPL), les causes de dysfonctionnement et les actions à entreprendre pour améliorer la qualité de la PPA dans notre établissement. Matériels et méthodes : L'étude a été réalisée dans le laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Monastir. Une grille d'auto-évaluation et une enquête de satisfaction auprès du personnel préleveur du laboratoire ont été établies. Une revue documentaire a été réalisée conformément aux exigences des textes normatifs (Norme ISO 15189) et réglementaire (GBPL). L'analyse des non conformités et des risques ont été effectuées respectivement par la méthode des 5M et la méthode d'analyse préliminaire des risques (APR). Résultats : Les résultats montrent que le dysfonctionnement réside essentiellement au niveau de la gestion des ressources humaines. L'analyse des causes et l'APR mettent le point sur un manque de sensibilisation et de formation du personnel responsable, une insuffisance dans la communication cliniciens-laboratoire et dans la formulation des méthodes (procédures, instructions...). Conclusion : L'étude de la PPA en détail montre que toutes les étapes sont critiques. En effet, la maîtrise de cette phase passe par l'application des exigences du GBPL et par la prise de conscience d'une gestion totale de la qualité.

Mots-clés : Management, GBPL, non conformités, documentation.

Hawkins R. Managing the Pre- and Post-analytical Phases of the Total Testing Process. *Ann Lab Med* 2012; 32:5-16. Leblanc RM. Accréditation : les points critiques en pré-analytique. *Opt Bio.* 2013; 486 :23-24 Norme Internationale ISO 15189-2007, relative aux exigences particulières concernant la qualité et la compétence dans les laboratoires d'analyses de biologie médicale.

## **P8o.INDUCTION OF THE EXPRESSION OF A RED PIGMENT PRODUCED BY ACTINOMYCETES ISOLATED FROM SOIL SAMPLES OF RABAT NEIGHBOURHOOD**

*AYOUBI Hasnaa, MOUSLIM Jamal and MENGGAD Mohammed*

*Laboratory of Pathophysiology and Molecular Genetics, Faculty of Sciences Ben M'sick, University Hassan II of Casablanca, 20440, Casablanca, Morocco*

### **Introduction and objectives:**

Microbial natural products have been one of the major sources of novel drugs. Among microorganisms, actinomycetes are the most economically and biotechnologically useful prokaryotes for this purpose. They are responsible for the production of about half of the discovered bioactive secondary metabolites notably antibiotics, antitumour agents, enzymes and immunosuppressive agents. Because of these unique biosynthetic ability that actinomycetes are of industrial interest for several decades.

From all the genera of actinomycetes, the genus *Streptomyces* is represented in nature by the largest number of species and varieties. In fact, 80% of the recognized antibiotics are produced from this genus, and many representatives of this group are able to produce substances of high commercial value and are being extensively screened for novel bioactive compounds. Prodigiosin produced by *Serratia marcescens* is reported to present antibacterial, anticancerous and immunosuppressive activities.

Two of our four strains producing red-like pigment tested have strong antiproliferative effect on mouse malignant cells. In this work, the purpose is to optimize cultural parameters in order to improve the production of red-like pigments supposed to be "prodigiosin analogs" produced by our isolated actinomycetes strains.

### **Materials and methods**

Strains, crud extract Red-like pigment preparations and initial characterization:

Actinomycetes used were isolated from the soil samples collected from three locations in Rabat neighbourhood region, according to standard methods. (Communication 1)

20 ml ISP4 liquid are inoculated with each strain and incubated 6 days at 30 °C in horizontal shaker. Mycelia were transferred to assay tube and extracted with 10 ml ethanol.

Acid-base presumptive test was carried out by adding to 200 µl of pigment in ethanol 10 µl of NaOH 1N (Basic condition) or HCl 1N (Acid condition). The absorption spectrum of each extract was determined by using UV/VIS spectrophotometer.

### **Induction of the expression of Red-like pigment**

Production of red-like pigments carried out in ISP4 agar or liquid.

To test carbon sources and phosphor effect on the the pigments production, different carbon sources at 10g/L (Starch, Glucose, Sucrose, Maltose, Mannose, Lactose, Galactose, Cellulose, Xylose, Arabinose, Fructose, Cellobiose D+, Cellobiose D-) and K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> at different concentration (0.2 g/l, 0.5 g/l, 1 g/l, 1.2 g/l, 1.5 g/l, 2 g/l) are used

For induction of the expression of red pigment by actinomycetes isolated, assay tubes containing 2 ml of ISP4 liquid with different carbon sources and others tubes containing 2 ml of ISP4 liquid with different concentrations of K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> were inoculated of isolates seeded on ISP4 agar medium and grown up for 6 days at 30°C in horizontal shaker.

Red pigment was extracted from mycelia by adding 2 ml of ethanol in each culture.

The absorption spectrum of extracts from the mycelia obtained in media with different carbon sources was determined by using UV/VIS spectrophotometer and the optical density was measured at 534 nm for each extracts from mycelia obtained in media with different concentrations of K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>



**Results:**

All isolates are able to produce diffusible pigments at least in one of the media used: ISP1, ISP2 and ISP4 (communication 1). Production of melanin pigment was detected in seven isolates and a red pigments in six isolates. This red pigment was designed as Red-like pigments according to their similarity with prodigiosin and undecylprodigiosine pigments of *Serratia marcescens* and of *Streptomyces colicoelorum* respectively. Extraction and solubilisation of these pigment from liquid ISP4 cultured mycelium were possible by the four solvent used, namely ethanol, chloroform, methanol or ethyl acetate.

Prodigiosin acid-base presumptive test is positive for the pigments for the six isolates. Basic pH leads change of pigment coloration from red to yellow for the six isolates. The UV-Vis spectrum of the pigment in ethanol showed strong similarity with prodigiosin and undecylprodigiosine pigments. Spectra of the pigments extracted from isolates showed maximum absorbance between 533 nm and 536 nm.

In red-like pigment induction essay, Starch, Maltose, Mannose, Lactose, Galactose, Xylose, Arabinose, Fructose, Cellobiose as a carbon source, induced biosynthesis of red pigment after 3 days of incubation. However, glucose, cellulose, xylose “when autoclaved” and sucrose have not induction effect. On the other hand, when sucrose is used the six isolates failed to grow.

Spectra of the pigments extracted from the induced mycelia showed maximum absorbance between 525 nm and 537 nm. At this optimum absorbance, Mannose allows the maximal production of the pigment as showed by the absorbance values obtained with all sugar used. Effect of phosphor concentration on pigment induction varies from strain to another with an optimum of 0.2 g/L  $K_2HPO_4$ . However, more than 1 g/L of  $K_2HPO_4$  decreases the red pigment production for some isolates. For others, the production increased with increasing phosphate concentration, to an optimum of 2 g/L  $K_2HPO_4$ . This indicates that the strains used react differently to phosphor starvation suggesting their variable signal sensing and/or transduction.

**Conclusion:**

Six isolates are able to produce water-insoluble red- like pigment. As prodigiosin, the pigments produced by the six isolates show a positive an acid-base presumptive test and maximum absorbance between 533 nm and 536 nm.

Among sugar used in this work, the best red pigment inducer is mannose at 10g/L. Induction is also sensitive to phosphate concentration in the medium.

These results suggest that carbon sources and phosphor are both a significant regulatory in the induction of this pigment and probably other secondary metabolites in Actinomycetes.

Mots-clés : actinomycetes, antibacterial activity, red pigments, prodigiosin analogs

## **P55. Investigations autour de 2 épidémies à *Acinetobacter baumannii* OXA-23, PER-7**

Amina Kadi

APHP

Objectifs : Nous avons conduit une enquête microbiologique et épidémiologique suite à deux séries de cas groupés de colonisation/infection, à *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème (ABRI), dans une unité de soins intensifs (USI). Nous avons comparé, rétrospectivement, 6 souches d'un premier épisode de février à avril 2015 et prospectivement, 4 souches d'un second, entre décembre 2015 et janvier 2016, survenu 9 mois après le premier, dans la même USI, après son déménagement dans de nouveaux locaux. Matériels et méthodes Les souches ont été comparées par l'antibiotype, effectué selon les recommandations du CA-SFM 2015, par identification des gènes de résistance par PCR et par typage moléculaire effectué par Multiple Locus VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) Analysis, (MLVA), une analyse du polymorphisme des séquences répétées en tandem. Le séquence type (ST) du clone bactérien a été déterminé par MultiLocus Sequence typing (MLST). Résultats : Les 10 souches des deux séries ont le même profil à l'antibiogramme, une multirésistance aux; bêta-lactamines dont carbapénèmes, fluoroquinolones, aminosides (double zone autour de l'amikacine), Triméthoprim-sulfaméthoxazole et rifampicine. Elles sont restées sensibles à la colistine. Les gènes de résistance détectés sont : une carbapénémase type OXA-23, une BLSE type PER-7 et une méthylase type ArmA. Les 10 souches ont présenté le même profil par MLVA et appartenaient au clone ST 25. Le dépistage rectal du cas index du premier épisode, un patient rapatrié du Koweït, suivi de 5 cas secondaires, était positif à ABRI dès son admission. Le dépistage du deuxième cas index était négatif à l'admission, positif à J9 d'hospitalisation dans l'USI. 3 hypothèses ont été évoquées pour expliquer la transmission de la souche : personnel, matériel déménagé, contacts du premier cas index. La dernière a été éliminée, aucun contact n'a été réadmis dans les nouveaux locaux. Conclusion Les 10 souches des deux épidémies abritent les mêmes gènes de résistance, ont des profils génotypiques identiques et appartiennent au même clone. De plus, leur profil de résistance OXA-23, PER-7 est peu fréquent en France (une trentaine de souches ont été adressées au CNR de résistance aux antibiotiques depuis 2012). À Avicenne, entre 2014 et 2015, il n'y a pas eu d'ABRI OXA-23, PER-7 en dehors de ces souches. Ces éléments renforcent l'hypothèse de la survie, diffusion de ce clone d'ABRI ST25 durant 9 mois dans l'USI, malgré un déménagement à l'intérieur de l'hôpital et des mesures prophylactiques visant à son élimination et illustrent le caractère épidémique et résistant dans l'environnement de ce clone.

Mots-clés : épidémie, *acinetobacter baumannii*, abri, clone, MLVA, MLST

1. Recommandations pour la prévention de la transmission croisée des Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes (BHRé)- Juillet 2013 2. Principles of an outbreak investigation in public health practice. Desenclos JC, Vaillant V, Delarocque Astagneau E, Campèse C, Che D, Coignard B, Bonmarin I, Lévy Bruhl D, de Valk H. Med Mal Infect. 2007 Feb;37(2):77-94 3. PER-7, an Extended-Spectrum Bêta-Lactamase with increased activity toward broad-spectrum cephalosporins in *Acinetobacter baumannii*. Bonnin Ra1, Potron A, Poirel L, Lecuyer H, Neri R, Nordmann P. Antimicrob Agents Chemother. 2011 may;55(5):2424-7

## **P56. EPEC dans les gastroentérites infantiles**

Marie-Françoise Prère(1), Olivier Fayet(2)

(1) CHU Toulouse, (2) LMGM.UMR5100 TOULOUSE

Au début du 20<sup>ème</sup> siècle les E.coli furent suspectés d'avoir un rôle entéropathogène dans les gastroentérites (GE) du nourrisson. La mise en évidence en 1948 d'un sérotype particulier (O111:H2) lors d'épidémies de diarrhée chez les nourrissons à Londres, suivie par la reconnaissance d'autres sérotypes, conduisit à faire reposer le diagnostic des E.coli entéropathogènes EPEC sur le « marquage sérologique ». Le mécanisme de virulence: attachement intime à l'entérocyte et effacement des microvillosités (AEE) a été découvert avec son support moléculaire et l'ensemble des éléments coopérant pour produire la lésion d'AEE. En 1999 nous avons mené une première étude montrant que les E.coli appartenant aux sérotypes dits entéropathogènes (O26, O55, o86, o111, O114, O119, O124, O125, O126, O127, O128, O142) isolés lors des GE des jeunes enfants <2ans possédaient le gène eae de l'intimine dans seulement 17,7% (14/79). Dans une étude identique conduite en 2002 nous avons trouvé des résultats similaires (13,5% des E.coli de « sérotypes EPEC « sont eae+). En 2003 nous avons recherché le gène eae dans les coprocultures d'enfants présentant une GE sans E.coli de « sérotype EPEC « et détecté un E.coli eae+ dans 15% des cas. Nos isolats étaient majoritairement des EPEC dits atypiques, ne possédant pas le gène bfp des bundle forming pili, structures n'intervenant pas dans l'AEE. Devant cette démonstration de l'absence de liaison sérotype et virulence, nous avons recherché de façon systématique le gène eae (et les gènes stx afin de détecter également les EHEC et STEC) dans les coprocultures des enfants. En 2005, de Janvier à Aout, chez les 280 enfants <2ans admis aux urgences de l'hôpital des enfants pour une GE aigue ou chronique, nous avons identifié un EPEC (E.coli eae+) dans 11% des cas (30 isolats avec seulement 7 appartenant aux « sérotypes EPEC « et 1 O157). Les EPEC sont rarement associés à d'autres pathogènes bactériens, par contre nous avons trouvé que la moitié des cas de co-infection virus-bactérie concernait l'association Rotavirus - EPEC (Etude en 2008 et 2009 sur 670 enfants < 3ans). La prévalence des EPEC dans les diarrhées du jeune enfant à l'hôpital des enfants de Toulouse se maintient autour de 10% : 13,8% (130/950) en 2014 chez les enfants <5ans dont 90%(116/130) chez les petits <2ans et 9%(69/825) en 2015 chez les petits <2ans. En conclusion, les EPEC restent les premiers pathogènes bactériens identifiés dans les GE du jeune enfant. Leur recherche doit être effectuée systématiquement, même si la détection du Rotavirus est positive.

Mots-clés : E.coli EPEC; Gastroenterite infantile; gène eae; serotypes

## **P57. Combined treatments involving irradiation in order to develop shelf stable sterile foods**

*Samia Ayari*

*Centre National des Sciences et Technologies Nucléaires*

Irradiation technology was investigated to increase the variety, availability and acceptability of foods for immuno-compromised patients and other potential target groups with special dietary needs. This study was carried out under the CRP project (IAEA CRP-15052) by the National Centre of Nuclear Sciences and Technologies in collaboration with Tunisian National Centre for Bone Marrow Transplant (CNGMO). In the first part of this study, a comparison between the conventional heat treatment and gamma irradiation was performed and it was found that a dose of 5 kGy allowed to obtain a low bacterial ready to eat couscous without affecting its quality. Other researches were intended to evaluate the irradiation effects on cooked and raw vegetables. Vacuum packaged carrot puree and fresh MAP vegetable salads were irradiated at different low doses using a gamma (Co-60) source. It was found that the treatment of carrot puree with moderate heat and vacuum packaging followed by 3 kGy gamma irradiation dose allowed to obtain a non-detectable levels of mesophilic bacteria, yeasts and molds and resulted in higher antioxidant activity with preservation of B-carotene content and with more homogeneous and consistent texture. Fresh salads packaged under MAP (5% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> and 90% N<sub>2</sub>) and irradiated at 4 kGy showed no microbiological risk and preserved perfectly the nutritional qualities. Irradiated bread at 15 kGy developed no mold within an extended storage period by approximately 40 days with a slight decrease of firmness but there were no significant ( $p > 0.05$ ) effect on nutritional contents. Based on the results obtained during this project, it's clearly seen that gamma irradiation treatment alone or in combination with other methods offer food sterilization with more acceptability, availability and variability, which promising of potential industrial applications for immuno-compromised patients.

Mots-clés: Combined treatment, gamma irradiation, sterile stable foods, immunocompromised patients.

## **P58. ANTIBIOGRAMME : VERIFICATION DE METHODE, DE LA COLONIE AU RENDU**

Amina Kadi

APHP

Objectifs : Au laboratoire, la réalisation de l'antibiogramme (ATB) a été récemment modifiée par le passage aux recommandations CA-SFM EUCAST 2015 et l'acquisition d'un lecteur SirScan (iza). La vérification de méthode (vérif.M) sur site a été réalisée en utilisant des outils qualité Matériels et méthodes Un diagramme de Gantt (DG) a été construit, Il tient compte des différentes étapes et de leur exécution dans le temps. Le processus des ATB a été décortiqué par la méthode AMDEC (Analyse des Modes de Défaillance, leurs Effets et leur Criticité). La vérif.M a été réalisée avec 4 souches ATCC (E. coli 25922, P. aeruginosa 27853, S. aureus 25923, E. faecalis 33186). Les paramètres vérifiés sont : inoculum bactérien (DENSIMAT vs dénombrement bactérien; inoculum cible vs fort et faible) ; lecture des diamètres (SIR vs pied de coulisse ; 24h vs 48h) ; contamination interéchantillon Résultats : DG. Les étapes intégrées sont : recenser les modifications des nouvelles recommandations (inoculum, charge disques...) ; redéfinir les panels ; réadapter les commandes ; paramétrer SirScan et système informatique et faire les techniques de vérif.M. L'outil permet une vision globale du projet mais le temps a été sous-estimé. AMDEC. De l'objectif qui est la réalisation de l'ATB, nous avons défini l'élément d'entrée (souche bactérienne) et l'élément de sortie (ATB validé) et détaillé les étapes intermédiaires (réalisation technique, incubation, lecture et interprétation). Ensuite, une analyse de risques (méth.5M) et de leurs effets a été faite et les moyens de maîtrise ont été envisagés. Enfin, nous avons élaboré la grille de criticité avec des critères de gravité, de fréquence et détectabilité. VERIF. M. Nous avons vérifié la concordance entre la DO et le nombre de CFU/mL. La méthode est robuste car il n'y a pas de différence (1 à 2 mm) entre inoculum fort, cible (0,5 McF) et faible (dilué au 1/10), que ce soit en lecture manuelle ou automatisée. Pas de différence significative qui entrainerait des diamètres en dehors des limites acceptables entre les 2 modes de lecture, à 24h et à 48h d'incubation. Nous n'avons pas eu de contamination interéchantillons Conclusion Les outils utilisés nous ont aidés à être en conformité avec les recommandations, vérifier les performances de la méthode et maîtriser l'organisation et le processus analytique. Connaître la criticité de chaque étape nous permettra d'arguer notre stratégie devant le Comité français d'accréditation, telle que la non-vérification du système expert avec des souches résistantes du fait de la faible criticité liée à une détectabilité assurée (biologiste revoit tous les ATB)

Mots-clés : antibiogramme, vérification de méthode, inoculum, SIRSCAN, densimat, AMDEC, CA-SFM

1. Comité qualité (QUAMIC) de la société française de microbiologie. Recommandations 2014  
2. CA-SFM. Recommandations 2015  
3. Measurement of Cell Concentration in Suspension by Optical Density. Scott Sutton, Ph.D  
4. NORME NF EN ISO 15189. Version 2012

5. SH REF 02. Révision 04 : recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon la norme NF EN ISO 15189 : 2012 6. SH GTA 04 : guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes en biologie médicale 7. SH FORM 43 : fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

### **P59. Prévalence des S.aureus producteurs d'exfoliatines en portage nasal**

Laurent Cavalié(1) , Marion Miguères(1) , Benoit Mantion(1) , Marie-Françoise Prère(2)  
(1) CHU Toulouse, (2) CHU, UMR5100 UPS Toulouse

L'objectif de l'étude est d'évaluer la prévalence des S.aureus possédant les gènes de toxines exfoliatives A et B dans les isolats de portage nasal dans notre région. L'étude a concerné 185 isolats de S.aureus provenant d'écouvillonnage nasal réalisé dans le cadre d'un dépistage systématique en préopératoire chez des patients adultes des services de Cardiologie et Cardiologie Vasculaire du CHU de Toulouse. L'échantillon étudié est issu de notre collection de 2011 à 2015, années pendant lesquelles 2896 prélèvements ont été effectués avec 632 S.aureus trouvés (soit 21,8%) dont 62 S.aureus résistants à la méthicilline (SAMR) (2,14%). Dans la collection de 185 isolats (35 à 40 isolats par année) étudiée nous dénombrions 150 S.aureus sensibles à la méthicilline (SAMS) et 35 SAMR. La recherche des gènes d'exfoliatines A et B a été réalisée à l'aide d'une PCR duplex conventionnelle. Résultats: Dans seulement deux isolats nous avons détecté le gène de l'exfoliatine A soit une prévalence de 1,1%. Il s'agissait d'un SAMS chez un patient de 65 ans et d'un SAMR également résistant à l'acide fusidique chez une patiente de 62 ans; il n'y avait pas la moindre trace d'infection en relation avec ce portage dans ces deux dossiers. Aucun isolat ne possédait le gène de l'exfoliatine B. De façon surprenante le profil exfolA+, exfolB+ n'a pas été détecté, alors que dans les cas d'infections à S.aureus producteurs d'exfoliatines diagnostiquées à Toulouse pendant les mêmes années (9 cas) les souches étaient porteuses des deux gènes simultanément. Conclusion : Cette étude, réalisée pour la première fois, montre la rareté des souches de S.aureus productrices d'exfoliatines en portage nasal communautaire en accord avec le petit nombre d'infections trouvé en relation avec cette catégorie de S.aureus virulents dans notre région.

Mots-clés : S.aureus; exfoliatines; portage nasal

## **P60. Using *C. elegans* model to uncover new immune pathways**

*Orane Visvikis*

*INSERM U1065*

Animal host defense against infection requires the expression of defense genes at the right place and the right time. Understanding such tight control of host defense requires the elucidation of the transcription factors involved. By using an unbiased approach in the model *Caenorhabditis elegans*, we discovered that HLH-30 (known as TFEB in mammals) is a key transcription factor for host defense. HLH-30 was activated shortly after *Staphylococcus aureus* infection, and drove the expression of close to 80% of the host response, including antimicrobial and autophagy genes that were essential for host tolerance of infection. TFEB was also rapidly activated in murine macrophages upon *S. aureus* infection and was required for proper transcriptional induction of several proinflammatory cytokines and chemokines. Thus, our data suggest that TFEB is a previously unappreciated, evolutionarily ancient transcription factor in the host response to infection.

Mots-clés : *C. elegans*, *S. aureus*, TFEB, transcription factor, autophagy, antimicrobial genes, inflammation

Innate Host Defense Requires TFEB-Mediated Transcription of Cytoprotective and Antimicrobial Genes. Visvikis et al, *Immunity* 2014



## **P61. Profil Épidémiologique et Antibiorésistance des Isolats d'Hémocultures en Milieu Pédiatrique et Néonatal**

*Ons Haddad, Yosr Kadri, Hajer Rhim, Besma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri*  
*Laboratoire de microbiologie - CHU F B Monastir - Tunisie*

Introduction Les bactériémies sont des infections graves en particulier dans les unités pédiatriques et néonatales. Notre objectif est de déterminer le profil épidémiologique et la sensibilité aux antibiotiques des isolats d'hémocultures dans ces unités dans un CHU tunisien. Matériel et Méthodes Etude rétrospective sur 4 ans (2012-2015), ayant porté sur toutes les souches isolées, au laboratoire de microbiologie du CHU de Monastir-Tunisie, à partir des hémocultures réalisées aux services de pédiatrie et de néonatalogie du même hôpital. Ont été considérées comme BMR : les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération (EBRC3G), *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime et/ou à l'imipénème (PARC et/ou PARI), *Acinetobacter baumannii* résistant à la ceftazidime et/ou à l'imipénème (ABRC et/ou ABRI) et les entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée selon les recommandations du CA-SFM. Résultats Durant la période d'étude, on a colligé 257 isolats dont 70% représentés par des bacilles à Gram négatif (BGN). Les entérobactéries ont constitué 83.9% de ces BGN. Parmi ces entérobactéries, *Klebsiella pneumoniae* a été prédominante (46%) suivie par *Escherichia coli* (17%). Le taux de multirésistance parmi tous nos isolats a été de 28%. Nos BMR ont été représentées par 52 EBRC3G, 10 SARM, 7 PARC et/ou PARI, et 3 ABRC et/ou ABRI. Les EBRC3G ont représenté 34.4% des entérobactéries. Elles ont été productrices de bêtalactamases à spectre élargi dans 96.1% des cas. Les résistances des EBRC3G à la gentamicine, amikacine, ciprofloxacine et tigécycline ont été de 72.3%, 39.3%, 41.3% et 24.8% respectivement. Une résistance à l'imipénème a été notée chez trois souches de *K. pneumoniae*. Nos isolats de *S. aureus* ont été résistants à la méticilline, kanamycine, gentamicine, ofloxacine, érythromycine, tétracycline, acide fusidique et fosfomycine dans 23,4%, 29,4%, 13,9%, 24,6%, 27,8%, 39,9%, 31,2% et 7,6% des cas respectivement. Deux souches de SARM ont été résistantes aux glycopeptides. Les résistances aux antibiotiques, autres que les bêtalactamines, chez nos BGN non fermentants multirésistants ont été plus importantes chez les souches d'*A. baumannii*. Conclusion L'isolement de BMR à partir d'hémocultures en milieu pédiatrique et néonatal est relativement fréquent. Les EBRC3G sont les plus trouvées. La prévention de leur émergence reposerait sur un dépistage précoce, un respect des règles d'hygiène et une antibiothérapie rationalisée.

Mots-clés : bactéries multirésistantes; hémocultures; pédiatrie; néonatalogie

## P62. Expertise de la galerie UMIC Vanco-Teico (BIOCENTRIC) sur *Staphylococcus aureus* : premiers résultats

Brieu N., J. Gallou, C. Pacchetti, C. Bouyssie, H Chardon

Service de diagnostic biologique des maladies infectieuses

Centre Hospitalier du Pays d'Aix

Aix en Provence

Objet : La société BIOCENTRIC a développé une galerie marquée CE permettant la mesure des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) par la méthode de référence en milieu liquide selon la norme ISO 20776. Cette galerie permet la mesure de la CMI d'une souche bactérienne à un seul antibiotique au coup par coup. Une des premières galeries commercialisées porte sur la détermination de la CMI à la teicoplanine et à la vancomycine des souches de *Staphylococcus*. Cette galerie de 12 cupules comporte un témoin, et les concentrations de 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/L pour la vancomycine et 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 mg/L pour la teicoplanine.

Matériel et méthode : Un groupe de 42 souches de *S. aureus* présentant un test « TEICO-5 » [méthode CASFM] positif ont été conservées à -80°C. Le dépistage des souches restées GISA /hGISA positives après conservation a été pratiqué par un second test TEICO-5. La mesure des CMI vancomycine et teicoplanine par la méthode E-TEST, par la méthode de dilution en milieu gélosé et par la méthode Umic Vanco-Teico (BIOCENTRIC) a été effectuée dans un second temps sur ces 42 souches.

### Résultats :

<b>CMI Vancomycine</b>	< 0.25	0.5	1	2	>4
UMIC	17	23	1	1	0
Gélose	0	7	31	4	0
E-TEST	0	0	6	31	5
<b>CMI Teicoplanine</b>					
UMIC	19	14	4	3	2
Gélose	0	6	26	6	4
E-TEST	0	2	17	14	9
<b>Nb TEICO-5 positif</b>					
<b>Selon CMI UMIC</b>					
<b>Vancomycine</b>	5	5	1	1	0
<b>Teicoplanine</b>	2	2	4	2	2

Conclusion : Les CMI vancomycine et teicoplanine mesurées par la méthode de référence avec la galerie UMIC Vanco-Teico (BIOCENTRIC) sont inférieures aux CMI mesurées par la méthode de dilution en milieu gélosé, ces dernières étant également inférieures aux CMI mesurées par la bandelette E-TEST.

### **P63. Stabilité de la résistance de *Helicobacter pylori* à la clarithromycine**

Esther Nina Ontsira Ngoyi(1) , Lucie Benejat(2), Claire Guilloteau(3), Philippe Lehours(4), Francis Megraud(5)

(1) Université de Bordeaux, INSERM U1053, (2) CNR des Campylobacters et Helicobacters, (3) Université de Bordeaux, INSERM U1053, (4) INSERM U1053, Université de Bordeaux, CNR des Campylobacters et Hélicobacters, (5) INSERM U1053, Université de Bordeaux, CNR des Campylobacters et Helicobacters

Objectif Le but de ce travail a été d'étudier la compétition d'isolats de *Helicobacter pylori* sensibles à la clarithromycine et de leurs mutants résistants, en terme de croissance, par co-culture durant une période prolongée. Matériels et méthodes Deux isolats sensibles et leurs mutants résistants à la clarithromycine ont été obtenus de biopsies gastriques de patients, au Centre National de Référence des Campylobacters et Hélicobacters et dénommés 3657S avec son mutant 3657 R puis 3695S avec son mutant 3695 R. Un typage moléculaire par RAPD a été réalisé pour déterminer si chaque isolat sensible et son mutant résistant appartenaient à la même souche. Le séquençage du gène de l'ARNr 23S a été réalisé pour connaître la mutation en jeu. La compétition entre chaque isolat sensible et son mutant résistant a été étudiée à court terme (48h) en les cultivant en bouillon Brucella enrichi de 5% de sérum de veau foetal et à long terme en les co-cultivant sur des cellules épithéliales gastriques AGS, avec passage des cellules deux fois par semaine. La quantification des bactéries a été faite sur gélose Mueller Hinton + 10 % de sang de mouton + polyvitex avec et sans érythromycine à J0 au 15e jour et au 30e jour. Le ratio des bactéries résistantes et sensibles était alors réalisé. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel Graphpad et la différence jugée significative lorsque la probabilité était inférieure à 0,05 (Wilcoxon matched pairs test) Résultats: Le typage RAPD a permis de montrer l'identité génétique des isolats testés. La mutation A2142-43G était retrouvée dans ces isolats résistants. Une culture de 48 heures de chaque souche réalisée isolément sur Bouillon Brucella a noté dans les deux cas une croissance élevée du mutant résistant au bout de 48 heures ( $p > 0,05$ ). Les résultats de la compétition permettaient de noter au bout de 15 jours, un ratio résistant/sensible élevé dans les deux cas avec une différence significative ( $p < 0,05$ ). En revanche, au bout de 30 jours, pour l'isolat 3695, un ratio réduit était noté en faveur de l'isolat sensible ( $p < 0,05$ ) et pour l'isolat 3657 un ratio élevé était noté en faveur de la souche résistante ( $p < 0,05$ ). Conclusions : Pour l'une des souches, l'isolat sensible prend le pas sur l'isolat résistant alors que dans l'autre souche, l'isolat résistant se maintient majoritaire. Le séquençage du génome de ces isolats sera réalisé en vue de la détermination des mutations compensatrices rétablissant la « fitness » de la bactérie.

Mots-clés : *Helicobacter pylori*-résistance-clarithromycine-compétition

## P64. Expertise de la galerie UMIC Vanco-Teico (BIOCENTRIC) sur *Staphylococcus non aureus* : premiers résultats

Brieu N., J. Gallou, C. Pacchetti, C. Bouyssie, H Chardon

Service de diagnostic biologique des maladies infectieuses

Centre Hospitalier du Pays d'Aix

Aix en Provence

Objet : La société BIOCENTRIC a développé une galerie marquée CE permettant la mesure des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) par la méthode de référence en milieu liquide selon la norme ISO 20776. Cette galerie permet la mesure de la CMI d'une souche bactérienne à un seul antibiotique au coup par coup. Une des premières galeries commercialisées porte sur la détermination de la CMI à la teicoplanine et à la vancomycine des souches de *Staphylococcus* (Umic Vanco-Teico). Cette galerie de 12 cupules comporte un témoin, et les concentrations de 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/L pour la vancomycine et 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 mg/L pour la teicoplanine.

Matériel et méthode : Un groupe de 44 souches de *S. non aureus* présentant un test « TEICO-5 » (Mueller Hinton avec 5 mg/L de teicoplanine) positif ont été conservées à -80°C. Ce test est effectué afin de permettre de rendre un résultat « Sensible aux glycopeptides » lorsqu'il est négatif (Recommandation CASFM V2 2015). Après conservation, un second test TEICO-5 ainsi que la mesure des CMI vancomycine et teicoplanine par les méthode E-TEST, dilution en milieu gélosé et Umic Vanco-Teico (BIOCENTRIC) ont été effectués sur ces 44 souches. Les contrôles de qualité ont été réalisés à l'aide des souches *S. aureus* ATCC 29213 et *E. faecalis* ATCC 29212.

### Résultats :

<b>CMI Vancomycine</b> .....	≤ 0.25.....	0.5.....	1.....	2.....	≥4.....
<b>UMIC</b> .....	9.....	32.....	3.....	0.....	0.....
<b>Gélose</b> .....	0.....	0.....	29.....	15.....	0.....
<b>E-TEST</b> .....	0.....	0.....	0.....	19.....	25.....
<b>CMI Teicoplanine</b>					
<b>UMIC</b> .....	8.....	14.....	12.....	5.....	5.....
<b>Gélose</b> .....	0.....	0.....	13.....	22.....	9.....
<b>E-TEST</b> .....	0.....	1.....	8.....	9.....	26.....
<b>Nb TEICO-5 positif</b>					
<b>Selon CMI UMIC</b>					
<b>Vancomycine</b> .....	8.....	29.....	3.....	0.....	0.....
<b>Teicoplanine</b> .....	6.....	13.....	11.....	5.....	5.....

Conclusion : Les CMI vancomycine et teicoplanine mesurées par la méthode de référence avec la galerie UMIC Vanco-Teico (BIOCENTRIC) sont inférieures aux CMI mesurées par la méthode de dilution en milieu gélosé, ces dernières étant également inférieures aux CMI mesurées par la bandelette E-TEST.

## **P65. Bactéries Multirésistantes en Milieu de Réanimation dans un CHU Tunisien**

*Ons Haddad, Yosr Kadri, Hager Rhim, Besma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri*  
*Laboratoire de microbiologie - CHU F B Monastir - Tunisie*

Introduction L'émergence de bactéries multirésistantes (BMR) en milieu de réanimation représente un problème majeur de santé publique, du fait des taux importants de morbidité, de mortalité. Notre objectif est de déterminer le profil épidémiologique et les résistances associées des BMR en milieu de réanimation dans un CHU tunisien. Matériel et Méthodes Etude rétrospective sur 4 ans (2012-2015), ayant porté sur toutes les BMR isolées au laboratoire de microbiologie du CHU de Monastir-Tunisie à partir des différents prélèvements réalisés en milieu de réanimation. Ont été considérées comme BMR : les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (EBRC3G), *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime et/ou à l'imipénème (PARC et/ou PARI), *Acinetobacter baumannii* résistant à la ceftazidime et/ou l'imipénème (ABRC et/ou ABRI) et les entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée selon les recommandations du CA-SFM. Résultats Durant la période d'étude, 756 BMR ont été colligées en milieu de réanimation soit un taux de 27,3% du total des isolats. Ces BMR ont été majoritairement isolées à partir des prélèvements respiratoires (38,7%) et des hémocultures (20,1%). Elles ont été représentées essentiellement par des bacilles à Gram négatif (BGN) (91,4%). Nos BMR ont été représentés par 410 EBRC3G, 151 ABRC et/ou ABRI, 130 PARC et/ou PARI, et 65 SARM. Parmi les EBRC3G, *Klebsiella pneumoniae* a été prédominante (41.4%) suivie par *Escherichia coli* (17,8%). Les résistances des EBRC3G à la gentamicine, amikacine, ciprofloxacine et tigécycline ont été de 76,1%, 40,1%, 66,1% et 33.1% respectivement. La résistance à l'imipénème a été notée chez 21 EBRC3G dont 16 *K. pneumoniae*. Nos isolats d'*A. baumannii* ont été résistants à l'amikacine, ciprofloxacine et à la rifampicine dans 94,6%, 99,2% et 53,1% des cas. Deux souches d'*A. baumannii* ont été résistantes à la colistine. Les fréquences de résistance des souches de *P. aeruginosa* à l'amikacine et à la ciprofloxacine ont été de 50,9% et 64,8%. Nos SARM ont été résistants à la gentamicine, ofloxacine, érythromycine, tétracycline et à l'acide fusidique dans respectivement 37,9%, 37,1%, 37,8%, 51,2% et 46,3% des cas. Une souche unique de SARM a été résistante aux glycopeptides. Conclusion La fréquence d'isolement des BMR en milieu de réanimation et leurs résistances associées sont alarmantes. Il faut limiter la diffusion de ces bactéries, idéalement par leur dépistage à l'admission des patients.

Mots-clés : bactéries multirésistantes; réanimation; entérobactéries, céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération

## **P66. Evolution de la Résistance des Entérobactéries aux Céphalosporines de 3ème Génération**

*Ous Haddad, Yosr Kadri, Hager Rhim, Bisma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri*  
*Laboratoire de microbiologie - CHU F B Monastir - Tunisie*

Introduction L'incidence des souches d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération (EBRC3G) a considérablement augmenté ces dernières années. Notre objectif est d'évaluer l'épidémiologie et la résistance aux antibiotiques de ces souches dans la région de Monastir-Tunisie. Matériel et méthodes Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée sur une période de 4 ans (2012-2015) portant sur toutes les souches d'EBRC3G non redondantes isolées à partir des différents prélèvements réalisés chez les patients hospitalisés ou consultants au CHU Fattouma Bourguiba de Monastir-Tunisie. L'identification bactérienne a été réalisée selon les méthodes bactériologiques conventionnelles. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée selon les recommandations du CA-SFM. Résultats Durant la période d'étude, nous avons colligé 2294 souches d'EBRC3G (soit un taux de 19,2% du total des isolats d'entérobactéries). Ce nombre a varié au fil des années (de 570 en 2012 à 635, 687 et 402 au cours des années 2013, 2014 et 2015 respectivement). Ces isolats ont été parvenus essentiellement à partir des services de chirurgie (27,7%), de réanimation (16,6%) et de pédiatrie/néonatalogie (11,5%). Ils ont été essentiellement isolés à partir des prélèvements urinaires (51,7%), des suppurations (21,9%) et des hémocultures (10,4%). Parmi nos EBRC3G, *Klebsiella pneumoniae* a été prédominante (43,2%) suivie par *Escherichia coli* (16,4%). Une production de bêtalactamase à spectre élargi a été révélée chez 2232 isolats (soit un taux de 97,3%). Les résistances des EBRC3G au tazobactam, gentamicine, amikacine, ciprofloxacine, rifampicine, tétracyclines, tigécycline ont été de 34,2%, 67,2%, 18,1%, 65,8%, 72,4%, 63,8%, 18,6% respectivement. Une résistance à l'imipénème a été détectée chez 32 EBRC3G dont 24 souches de *K. pneumoniae*. Conclusion Cette étude confirme l'ampleur du développement des infections à EBRC3G dans notre CHU, avec une dissémination dans de nombreux services. La fréquence des résistances associées et le risque d'impasses thérapeutiques exigent un renforcement des mesures préventives.

Mots-clés : entérobactéries; céphalosporines de 3ème génération; bêtalactamase à spectre élargi, imipénème

## **P67. Profil Épidémiologique et Sensibilité aux Antibiotiques des Bactéries Isolées des Prélèvements Respiratoires**

*Ons Haddad, Yosr Kadri, Hager Rhim, Bisma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri*  
*Laboratoire de microbiologie - CHU F B Monastir - Tunisie*

Introduction Les infections broncho-pulmonaires constituent une des pathologies les plus fréquentes chez l'homme dont le traitement est devenu de plus en plus difficile à cause de l'émergence des résistances aux antibiotiques. L'objectif de cette étude est d'évaluer le profil épidémiologique et la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des prélèvements respiratoires au CHU de Monastir-Tunisie. Matériel et Méthodes Il s'agit d'une étude rétrospective sur 5 ans (2011-2015), ayant porté sur toutes les souches isolées à partir des prélèvements respiratoires réalisés à visée diagnostique chez les malades hospitalisés ou consultants au CHU de Monastir-Tunisie, au laboratoire de Microbiologie du même CHU. L'identification bactérienne a été réalisée selon les méthodes bactériologiques conventionnelles. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques selon les recommandations du CA-SFM. Résultats Au cours de la période d'étude, nous avons colligé 3372 isolats à partir des prélèvements respiratoires. Nos souches ont été essentiellement isolées à partir d'aspirations trachéales (49,3%) et des crachats (ECBC) (44.2%). Elles ont été parvenues majoritairement des services de réanimation (54.6%) et de médecine (28.5%). Les germes isolés ont été représentés par *A. baumannii* (31.4%), *Pseudomonas aeruginosa* (27%), des entérobactéries (15.9%), *Haemophilus spp* (15.6%) et *Staphylococcus aureus* (10.1%). Les taux respectifs de résistance de nos isolats d'*A.baumannii* à la ceftazidime, imipénème, amikacine et ciprofloxacine ont été de 85,3%, 73%, 83.1% et 88.5%. Ces taux ont été respectivement de 11.6%, 15.5%, 22.5% et 27.4% chez *P. aeruginosa*. Aucune souche n'a été résistante à la colistine pour les deux germes. Nos entérobactéries ont été productrices de bêtalactamase à spectre élargi dans 31.4% des cas. Une résistance à l'imipénème a été notée chez 19 isolats de *K. pneumoniae*. Nos souches d'*Haemophilus spp* ont été productrices de bêtalactamase dans 55.2% des cas et sensibles au céfotaxime dans 100% des cas. La résistance à la méticilline de nos isolats de *S. aureus* a été de 20.7%. Conclusion Face à la fréquence de bactéries multirésistantes isolées à partir des prélèvements respiratoires, il est primordial de promouvoir l'usage rationnel des antibiotiques et le respect des règles d'hygiène afin de limiter la diffusion de ces souches.



## **P68. Profil épidémiologique et sensibilité aux antibiotiques des souches de Staphylococcus aureus dans un CHU tunisien**

*Hajer Rhim, Ons Hadad, Yosr Kadri, Besma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri*  
*Laboratoire de Microbiologie - CHU Fattouma Bourguiba Monastir-Tunisie*

**Introduction** L'incidence croissante des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) est un phénomène préoccupant à l'échelle mondiale. Le but de cette étude est d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. aureus* isolées au CHU de Monastir-Tunisie. **Matériel et méthodes** Il s'agit d'une étude rétrospective sur une période de 4 ans (2012 à 2015), ayant porté sur toutes les souches de *S. aureus*, isolées à partir des différents prélèvements réalisés chez les patients hospitalisés ou consultants au CHU de Monastir-Tunisie, au laboratoire de Microbiologie du même CHU. L'identification bactérienne a été faite selon les méthodes bactériologiques conventionnelles. La sensibilité aux antibiotiques a été réalisée selon les normes du CA-SFM. **Résultats** Durant la période d'étude, on a isolé 1674 souches de *S. aureus*. La majorité ont été résistantes à la pénicilline G (94,2%). La résistance à la méticilline a été de 17,4 %. Elle a grimpé de 15,6% en 2012 à 19,5% en 2015. Nos SARM ont été parvenus essentiellement des services de chirurgie (30,6%), de réanimation (21,6%) et de pédiatrie/néonatalogie (18,8%). Ils ont été majoritairement isolés à partir de suppurations et d'hémocultures avec des fréquences respectives de 55,9% et de 24,6%. Les taux de résistance du total des isolats de *S. aureus* à la kanamycine, streptomycine, gentamicine, érythromycine, lincomycine, tétracycline, acide fusidique, ofloxacine, rifampicine, fosfomycine, cotrimoxazole et au chloramphénicol ont été de 25,4%, 20,9%, 7,3%, 13,7%, 7,5%, 30,7%, 22,5%, 10%, 8%, 4,1%, 2,8% et 2% respectivement. Les résistances des SARM à la streptomycine, kanamycine, gentamicine, érythromycine, tétracycline, acide fusidique, ofloxacine et à la rifampicine ont été de 49%, 68%, 35,7%, 35,4%, 50,8%, 45%, 36,7% et 28,4% respectivement. On a noté l'émergence de 24 souches résistantes aux glycopeptides dont 19 ont été isolées en 2014 et 2015. **Conclusion** L'augmentation du taux des SARM, de leurs résistances associées et l'émergence de la résistance aux glycopeptides sont préoccupantes. Ce qui pose un sérieux problème thérapeutique. Un usage raisonné des antibiotiques et une hygiène rigoureuse seraient primordiales.



## **P69. Bactériémies à bacilles Gram négatif multirésistants dans un CHU tunisien**

*Hajer Rhim, Ons Haddah, Yosr Kadri, Besma Abdi, Sami Noomen, Maha Mastouri*  
*Laboratoire de Microbiologie - CHU Fattouma Bourguiba Monastir-Tunisie*

**Introduction** Les bactériémies à bactéries multirésistantes (BMR) posent un véritable problème de santé publique par leur gravité, leur épidémicité et leur résistance au traitement. L'objectif de cette étude est d'étudier le profil épidémiologique et bactériologique des bactériémies à bacilles Gram négatif multirésistants isolés au CHU de Monastir-Tunisie.

**Matériel et méthodes** Il s'agit d'une étude rétrospective sur 4 ans (2012-2015), ayant porté sur tous les bacilles à Gram négatif multirésistants isolés, d'hémocultures réalisées chez les patients hospitalisés au CHU de Monastir-Tunisie, au laboratoire de microbiologie du même CHU. Ont été considérés comme BMR, les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération (EBRC3G), *Acinetobacter baumannii* résistant à la ceftazidime et/ou à l'imipénème (ABRC et/ou ABRI) et *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime et/ou à l'imipénème (PARC et/ou PARI). L'identification bactérienne a été effectuée selon les méthodes bactériologiques conventionnelles. L'antibiogramme a été réalisé selon les recommandations du CA-SFM.

**Résultats** Au cours de la période d'étude, on a isolé 331 BMR Gram négatif (soit 34,5% du total des bacilles à Gram négatif). Nos isolats ont été parvenus essentiellement des services de réanimation (41,7%), de pédiatrie et de néonatalogie (19,6%). Ils ont été représentés par des EBRC3G, ABRC et/ou ABRI et PARC et/ou PARI dans respectivement 68,3%, 20,8% et 10,9% des cas. Parmi les entérobactéries, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* ont été les plus souvent isolés avec des fréquences de multirésistance au sein de l'espèce de 54,4%, 30,2% et 25,8% respectivement. Les résistances des EBRC3G à la gentamicine, ciprofloxacine, amikacine, et à la tigécycline ont été de 76,4%, 57,5% 25,1%, et 23% respectivement. Nos isolats d'ABRC et/ou ABRI ont été résistants à la ciprofloxacine, amikacine, tigécycline et à la rifampicine dans 84,6% 83,3%, 41,6% et 30% des cas respectivement. Les résistances des PARC et/ou PARI à la gentamicine, amikacine, tigécycline et à la ciprofloxacine ont été de 60,7%, 57,1%, 38,4% et 21,4% respectivement.

**Conclusion** L'isolement de BMR Gram négatif à partir d'hémocultures est assez fréquent dans notre CHU. Les résistances associées sont alarmantes. Un contrôle rigoureux de la prescription d'antibiotiques et des mesures d'hygiène s'impose afin de limiter la diffusion de ces souches dans les différents services.

## **770. Profil actuel des bactériémies au Service des Maladies Infectieuses**

*Latifa Badaoui*

*chu ibn rochd*

Profil actuel des bactériémies au Service des Maladies Infectieuses L. BADAOU1, M. SODQ1, N. DAOUDI 2, A. OULAD LAHSEN1, L. MARIH1, A. CHAKIB1, BELABBAS2 H, K.ZEROUALI2, K. MARHOUM EL FILALI1 1-Service des Maladies Infectieuses – CHU Ibn Rochd – Casablanca – Maroc 2-Laboratoire de Microbiologie– CHU Ibn Rochd – Casablanca – Maroc Objectif Les caractères épidémiologiques, cliniques et bactériologiques des bactériémies varient en fonction du service où l'étude est réalisée. Le but de ce travail est d'étudier les caractères épidémiologiques des bactériémies observées dans un service de Maladies Infectieuses. Matériel et Méthodes Nous avons réalisé une étude rétrospective qui a porté sur 216 épisodes bactériémiques observés chez 216 patients hospitalisés dans le service entre janvier 2013 et juin 2014. le diagnostic de bactériémie a été retenu devant la positivité d'au moins deux hémocultures. Les données ont été recueillies à partir des dossiers papiers des patientes et analysées par epi infos 6. Résultats L'âge moyen de nos malades était de 40 ans, une tare préexistante était présente chez 108 patients (50%), dominée par le diabète (12%), HTA (7%), néphropathie (5%), l'infection à VIH a été retrouvé chez 18% des cas. Une porte d'entrée était identifiée chez 140 malades (65%). Les portes d'entrée urinaire et cutanée étaient les plus fréquentes respectivement dans 48 % et 30 % des épisodes bactériémiques. L'origine nosocomiale de la bactériémie était retenue dans 8% des cas. Les germes les plus fréquemment isolés étaient les bacilles à Gram négatif (54%) au premier rang desquels *Escherichia coli* suivi de *Klebsiella pneumoniae*. Les cocci à Gram positif étaient à l'origine de 46 % des bactériémies avec prédominance de *Staphylococcus aureus*. La mortalité globale était de 15%. La mortalité était de 33% pour la bactériémie à *Klebsiella pneumoniae*. Conclusion Malgré leur faible fréquence et la rareté de l'origine nosocomiale, les bactériémies restent un problème majeur de santé publique. Un diagnostic et une prise en charge précoces sont nécessaires afin de prévenir les complications et de réduire la mortalité

**Mots-clés : bactériémie,germes,mortalité**

1-Bourneton.O, Mutel.T, Heranney.D. Incidence des bactériémies et fongémies aux hôpitaux universitaires de Strasbourg de 2005 à 2007 .Pathologie Biologie February 2010, 58, (1): 29-34 2-Mallat.H, Grohs.P, Levy.A, Étude rétrospective des bactériémies diagnostiquées aux urgences : fréquence, sensibilité des microorganismes et intérêt dans la prise en charge thérapeutique. Médecine et Maladies Infectieuses July 2004, 34, (7) : 310-315 3-Bertrand. X, Costa .Y, Pina .P. Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998–2003 .Médecine et Maladies Infectieuses June 2005, 35,(6) : 329-334 4-Said.H,

Ben Rejeb.M, Khefacha.S , Les bactériémies associées aux soins en milieu de réanimation – étude d’incidence au CHU Sahloul, Sousse, Tunisie (2010–2011), Revue d’Épidémiologie et de Santé Publique October 2013, (61), 4 :S340 5-Omezzine Letaief.A, Battikh.R, Bahri.F, Aspects épidémiologiques et évolutifs des bactériémies dans un service de médecine interne : à propos de 148 cas, Médecine et Maladies Infectieuses August–September 1997, 27, (8–9) :778-781 6-Cleuziou .A, Mottier. D, Baccino .E, Aspects actuels des septicémies en médecine interne : quelle antibiothérapie choisir ? Med Mal Infect. 1985 ; 15 : 372-8. 7- Moumile.K, Carbonne.A, Rouquet. M.-L, Étude descriptive des bactériémies dans un hôpital gériatrique universitaire. Pathologie Biologie December 2004,52, (10) :557-565 8- Rayner b.L, Willcox p.A, Community acquired bacteremia. A prospective survey of 239 cases. Quart J Med1988 , (69) : 907-19. 9- Seydi.M, S Sow.P, Soumaré.M , Les bactériémies au cours du sida à Dakar, Médecine et Maladies Infectieuses June 2003, 33, ( 6) : 323-326 10- Eron.j, Cynthia .G, Septicémie, Médecine interne de Netter 2011 : 702–708 11-Weinstein m.P, Murphy J.R, Reller L.B,The clinical significance of positive blood cultures. A comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. Rev Infect Dis. 1983 , (5 ) : 54-70. 12. Kreger .BE, Craven .DE., Carling. PC., McCabe W.R. - Gram negative bacteremia : reassessment of etiology, epidemiology, and ecology in 612 patients. Am J Med 1980 ; 68 : 332-43. 13-Al Saif.F, Andrieu.E, Litrowski.F , Une septicémie atypique à point de départ cutané, Annales de Dermatologie et de Vénérologie ,December 2013,140, (12) :s590 14-Aubertin.J, Gin.H, Ragnaud.JM Septicémie et diabète June 1982, La Revue de Médecine Interne 3, (2) :177–183 15-Villeveille.T, Vincenti-Rouquette.I, Koeck.J.L , Septicémie fatale à Staphylococcus aureus de sensibilité diminuée aux glycopeptides 2001, Annales Françaises d’Anesthésie et de Réanimation,20, (5) :498–499 16-Vernet-Garnier.V, Brasme.L, Forte.D , Enquête épidémiologique lors de 2 morts subites liées à une septicémie fulminante à Streptococcus pyogenes , Médecine et Maladies Infectieuses June 2004,34, (1) : S135

## **P71. The Antibiofilm®: First Results of A New Antibiotic Susceptibility Test Against Biofilm Installation in Bone and Joint Infections**

*Jason Tasse(1) , Stéphanie Badel-Berchoux(2), Christian Provot(2), Delphine Croisier-Bertin(3), Thierry Bernardi(2), Frédéric Laurent(4)*

*(1) Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital de la Croix Rousse - CNR des staphylocoques - Inserm U1111 - Biofilm Control - Lyon - France, (2) Biofilm Control - Saint Beauzire - France, (3) Laboratoire Vivexia - Dijon - France, (4) Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital de la Croix Rousse - CNR des staphylocoques - Inserm U1111 - Lyon - France*

Introduction: Biofilms are complex communities of microorganisms embedded in an extracellular matrix and adherent to a surface. The development is described as a 4-stage process leading to the formation of a mature biofilm which is resistant to immune system and antibiotic actions. In Prosthetic Bone and Joint Infections (PBJIs), the formation of biofilms is frequent because orthopedic prosthesis and osteosynthetic material are predisposing surfaces to adhesion of microorganisms. Once the material is colonized, treatment failure and relapse of the infection are prevalent. The standard Minimal Inhibitory Concentration (MIC) informs on the antibiotic susceptibility of planktonic bacteria, but is not suited to determine sessile bacteria/biofilm susceptibility. Objective: Here we studied the capacity of antibiotics commonly used in the treatment of PBJIs to prevent the biofilm formation on clinical *S. aureus* isolates by a new test called Antibiofilm®. Methods: Antibiofilm® (BioFilm Control) measures early stage biofilm growth able to block magnetic microbeads and was carried out on 29 strains of *Staphylococcus aureus* isolated from PBJIs. The test was performed in 96-well microplates prefilled with a range of concentrations of dried antibiotics. A suspension in Brain Heart Infusion media including bacteria inocula with magnetic microbeads was added and incubated for 4h.. A biofilm Minimal Inhibitory Concentration (bMIC) was determined for 11 antibiotics for each strain and the standard Minimal Inhibitory Concentration (MIC) was determined by the E-test method. In parallel, the predictivity of Antibiofilm® was evaluated in vivo in a mouse model infected by *S. aureus* on a foreign-body. The efficiency of a cloxacillin treatment with plasma concentration MIC or bMIC was then measured. Results: The MIC and bMIC showed similar values for clindamycin, fusidic acid, linezolid and rifampin. Reversely, daptomycin, fosfomycin, gentamicin and ofloxacin showed bMICs above MICs and breakpoints. Finally, cloxacillin, teicoplanin and vancomycin revealed an intermediate bMIC distribution with a strain-dependent pattern. The in vivo model showed a significant reduction of catheter colonization with cloxacillin at bMIC, and a non-significant reduction of *S. aureus* with cloxacillin at MIC. Conclusion Antibiofilm® could be of great interest after surgical operations on contaminated prostheses and after bacteremia by using antibiotics efficient on the reduction and the prevention of adhesion by bacterial on the device.

Mots-clés : Biofilm, bMIC, *S. aureus*, prevention, Antibiofilmogram, BJI

## **P72. Detection of atypical Chlamydiaceae in roe deer (*Capreolus capreolus*) in south-western France**

*Rachid Aaziz*(1) , *Karine Laroucau*(1) , *Fabien Vorimore*(1) , *Hélène Verheyden*(2), *Denis Picot*(2), *Konrad Sachse*(3)

(1) ANSES Maisons-Alfort, (2) INRA CEFS Castanet-Tolosan, (3) Friedrich-Loeffler-Institut

In most European countries, both numerical size and geographical distribution of wild roe deer (*Capreolus capreolus*) populations have markedly expanded over the past decades. Therefore, concerns about transmission of pathogens between wild roe deer and domestic ungulates has been raised as they can share the same pasture lands. A previous serological survey had revealed the presence of antibodies against a number of pathogens, including *Chlamydia (C.) abortus* in a population of roe deer in a rural area of south-western France (Candela et al., 2014). In the present study, we have examined the presence of chlamydial organisms in roe deer from 2 areas in south-western France, one corresponding to a closed INRA experimental installation (Gardouch site) and the other representing a natural agro-system composed of a mosaic of forest, woodlots, meadows and cultivated crops (Vallons et Coteaux de Gascogne (VCG)). A total of 85 vaginal swabs were sampled from female roe deer, which had been live-captured in 2012 (n=42) and 2013 (n=43). Using a Chlamydiaceae family-specific real-time PCR, only one animal out of 42 captured in 2012 was tested positive and subsequently typed as *C. psittaci*. In contrast, 5/43 animals were positive in 2013. Four of these positives came from a same group captured in the Fabas municipality at VCG. Fecal samples from this group of females captured at Fabas were analyzed, with 6 of them testing positive with the Chlamydiaceae-specific PCR. All of the positive samples collected in 2013 were negative when re-tested with *C. abortus*, *C. psittaci*, *C. pecorum* and *C. suis* specific real-time PCR assays. Comparative sequence analysis of the 16S, 23S rRNA and *ompA* gene sequences from 3 animals as well as the MLST analysis from 2 animals showed that these roe deer groups likely harbored the same bacterium with relatedness to members of the Chlamydiaceae. Notably, the roe deer strain formed a separate entity outside the currently recognized chlamydial species, with *C. trachomatis*, *C. suis* and *C. muridarum* appearing as its closest relatives.

Mots-clés :

Chlamydiaceae; Roe deer (*Capreolus capreolus*); *ompA* ; 16S rRNA ; Phylogenetic analysis

### **P73. A new ELISA assay for Glanders diagnosis**

*Rachid Aaziz(1) , Karine Laroucau(1) , Loïc Comtet(2), Claire Bertin(1) , Cecile Colaneri, Mickael Roche(3), Marcus Dias Falcão(4), Nora Madani(1) , Vania Lucia Santana(5), Mohammed Saqib(6)*

*(1) ANSES Maisons-Alfort, (2) ID Vet Montpellier, (3) ID Vet, (4) LANAGRO BRESIL, (5) LANAGRO RECIFE, (6) Faculty of Veterinary Science PAKISTAN*

KARINE LAROUCAU<sup>1</sup>, CLAIRE BERTIN<sup>1</sup>, MICKAEL ROCHE<sup>2</sup>, FABIEN DONNET<sup>2</sup>, CÉCILE COLANERI<sup>1</sup>, RACHID AAZIZ<sup>1</sup>, MARCUS DIAS FALCÃO<sup>3</sup>, NORA MADANI<sup>1</sup>, PHILIPPE POURQUIER<sup>2</sup>, VANIA LUCIA SANTANA<sup>3</sup>, MOHAMMED SAQIB<sup>4</sup>, LOIC COMTET<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Anses, Animal health laboratory, Maisons-Alfort, France <sup>2</sup> ID Vet, Montpellier, France <sup>3</sup> Lanagro, Recife, Brazil <sup>4</sup> Faculty of Veterinary Science, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan

Glanders is a zoonotic disease caused by *Burkholderia mallei*, a gram-negative bacterium. The internationally mandatory complement fixation test (CFT) for testing of equine sera is repeatedly leading to discrepant results. While false positive results pose a problem for diagnosticians, animal health authorities and owners, false-negative results can turn a risk into a possible threat. An indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on a native semi-purified antigenic fraction has been developed. Specificity was evaluated with sera from non-endemic areas and sensitivity was evaluated with sera coming from endemic areas. ELISA results were compared with CFT, Western-Blot and/or bacteriology. Preliminary validation results showed an excellent specificity and a good sensitivity. External validation of the test in disease endemic areas (Pakistan, Brazil) as well as preliminary results will be presented. This ELISA technique could be a good alternative to actual methods for the diagnosis of glanders.

Mots-clés : Glanders; *Burkholderia mallei*; Complement fixation test; ELISA test

#### **P74. Infections neuro-méningées virales de l'enfant à Tunis**

Aida Bouafsoun El Afrit(1) , Neila Hannachi(2), Hanene Smaoui(3), Sondes Haddad-Boubaker(3), Jalel Boukadida(2), Amel Kechrid(3)

(1) 1 Université de Tunis El Manar, Faculté de Médecine de Tunis, Unité de Recherche UR12ES01 Hôpital d'Enfants Béchir Hamza, Laboratoire de Microbiologie., (2) Laboratoire de Microbiologie Hôpital Farhat Hached de Sousse, (3) Université de Tunis El Manar, Faculté de Médecine de Tunis, Unité de Recherche UR12ES01 Hôpital d'Enfants Béchir Hamza, Laboratoire de Microbiologie.

Objet : Etude du profil étiologique des infections neuro-méningées virales touchant l'enfant. Méthodes: Il s'agit d'une étude prospective concernant des enfants admis à l'Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis entre janvier 2012 et décembre 2015 pour suspicion d'infection neuro-méningées virales. L'étiologie virale a été recherchée par PCR quantitative (qPCR) (Roche) et/ou par sérologie (recherche des IgM spécifiques dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien par des kits ELISA (bioRad, Biotrin, Novagnost). Les virus recherchés étaient: virus herpes simplex (HSV1, HSV2), virus varicella zona (VZV), Entérovirus, virus du West Nile (WNV), virus de la rougeole, des oreillons, de la rubéole et le parvovirus B19 (PVB19). Les infections à HSV, VZV, et Enterovirus ont été confirmées par qPCR. Les autres étiologies ont été confirmées par la sérologie. Résultats: Durant la période d'étude, 320 LCR et 448 sérums ont été collectés chez 320 enfants. L'étiologie virale a été confirmée chez 32 patients (10%). L'âge médian de ces malades était de 40 mois +/- 36 avec des extrêmes allant de 1 à 144 mois. Le sexe ratio était de 1,2. Plus de la moitié des cas est survenue durant la saison chaude (Mai à Juillet). Les cas positifs présentaient une pléiocytose supérieure à 8 éléments blancs/mm<sup>3</sup> avec prédominance lymphocytaire dans 80% des cas, une albuminorrhachie moyenne de 0,58 g/l +/- 0,38 et une glucorrhachie moyenne de 4,02 mmol/l +/- 1,4. Ces infections se répartissent en 8 cas d'encéphalite herpétique (25%), 6 cas de méningite à Enterovirus (18,8%), 5 cas de méningite ourlienne (15,6%), 4 cas d'encéphalite à VZV (12,5%), 3 cas d'encéphalite rubéolique (9,4%), 3 cas d'encéphalite à West Nile virus (9,4%), 2 cas d'encéphalite rougeoleuse (6,3%), et 1 cas d'encéphalite à Parvovirus B19 humain (3,3%). Conclusion: La confirmation des infections neuro-méningées virales chez l'enfant permettent de prescrire un traitement approprié (HSV), d'éviter une antibiothérapie abusive, de surveiller les programmes de vaccination nationaux et les infections à potentiels épidémiques. En Tunisie, un renforcement de la stratégie vaccinale contre la rougeole et la rubéole a été réalisé et une réflexion concernant la vaccination contre les oreillons devrait débiter.

Mots-clés : VIRUS- ENFANT- ENCEPHALITE



## **P75. Identification de la population des tiques et détection moléculaire des espèces de Rickettsies véhiculées à l'extrême Nord Est algérien.**

Loubna Dib Aïssaoui Zitoun

DEPARTMENT DES SCICENCES VETEIRINAIRES UNIVERSITE CHADLI BEN DJEDDID EL TARF

1. Objectives Les tiques sont des ectoparasites hématophages vecteurs de nombreuses maladies bactériennes, virales et parasitaires à l'homme et à l'animal. A l'échelle mondiale, les tiques sont considérées comme le deuxième groupe des vecteurs de maladies infectieuses humaines après les moustiques. Aux Etats Unis et en Europe, elles sont au premier rang (Parola P, Raoult D.2002). Ces dernières années, de nombreuses maladies émergentes transmises par les tiques sont rapportées, entre autres les rickettsioses qui sont actuellement considérées comme des maladies émergentes ou ré-émergentes avec 21 maladies décrites. L'épidémiologie des rickettsioses à tiques est directement liée aux caractéristiques écologiques ou comportementales des tiques vectrices (P.parola et al, 2001). L'objectif de notre travail est d'établir une cartographie de la distribution saisonnière des tiques et de différentes espèces de rickettsies transmises et pouvant avoir un impact sur la santé humaine dans l'extrême Est algérien, on utilisant les techniques de biologie moléculaire. 2. Matériels et Méthodes Dans notre enquête, un total de 600 tiques ont été prélevées sur des bovins élevés en semi extensif dans la région d'EL Tarf , pendant une année . La première étape consiste à l'identification morphologique des tiques à la loupe binoculaire selon la clé d'identification d'Estrada pena et al (2008). La deuxième étape consiste à l'extraction d'ADN de ces tiques la recherche de Rickettsia spp en utilisant les primers amplifiant le *gltA* and *rOmp* genes 05 espèces de tiques ont été identifiées la région d'El Tarf ; ces espèces incluent (*B.annulatus* ,*Ixodes ricinus* ,*Rhipicephalus bursa* , *Hyalomma marginatum*, *Hyalomma detritum* et *Heamphysalis sulcata*) avec une activité saisonnière propre à chacune . En utilisant les techniques moléculaires basés sur la PCR- séquençage des gènes *gltA* et *rOmpA* de Rickettsia , l'ADN des rickettsies est identifié dans 584 tiques confirmant la présence de 7 espèces de Rickettsie : *R. monacensis*, *R.helvetica*, *R.raoultii* , *R.aeschlimanea*, *R.mongolotimonea*, *R. massiliae*, *R.barbarea*, de *R.aeschlimanii*, *R.massiliae*. Ce travail a permis de mettre en évidence pour la première fois certaine espèces de Rickettsia dans les tiques. La présence de ces bactéries pathogènes reflète le danger potentiel que représentent ces vecteurs sur la santé humaine et animale à la fois .

Mots-clés : tiques, saisonnalité, Rickettsie, émergence, vecteur

117. Parola P. and Raoult D. Tick-borne bacterial diseases in humans, an emerging infectious threat. Clin Infect Dis 2001;32(6):897-928



## **P76. Induction et Régulation de l'opéron fru2 de *Streptococcus agalactiae***

Kévin Patron

UMR1282-Infectiologie et santé publique

*Streptococcus agalactiae* représente la première cause d'infections néonatales chez l'Homme et est aussi un pathogène émergent chez l'adulte immunodéprimé et les personnes âgées. Les souches de *S. agalactiae* appartenant aux complexes clonaux CC 1 et 10 sont retrouvées fréquemment lors d'infections de l'adulte. Elles possèdent l'opéron fru2 qui est intégré dans un îlot génomique. (Patron, K., et al. 2015). Cet opéron est composé de 7 gènes qui codent un activateur transcriptionnel de la famille DeoR-like/MtIR (Fru2R), un transporteur PTS (PTSFru2), et trois enzymes potentiellement impliquées dans la voie non oxydative des pentoses phosphates. De par sa composition, et sa répartition au sein de l'espèce, l'opéron fru2 pourrait avoir un rôle dans l'adaptation de certaines souches de *S. agalactiae* à des conditions environnementales particulières retrouvées lors de l'infection de l'adulte. Nous avons donc cherché à identifier certaines conditions environnementales permettant l'activation de l'opéron fru2 afin de pouvoir comprendre son mécanisme de régulation. Nous avons montré que le promoteur de l'opéron fru2 est activé (i) en phase stationnaire tardive de croissance en milieux complexes (TH, BHI), (ii) en présence de D-allose, ou de D-ribose lors de croissance en milieu chimiquement défini, et (iii) après un contact prolongé avec certains liquides biologiques humains (LCR, liquide amniotique). Nous avons également prouvé que la protéine Fru2R régule l'activité de l'opéron fru2 en se fixant sur une région promotrice en amont de fru2. Trois histidines et une cystéine ont été identifiées comme essentielles à l'activité de Fru2R. Finalement, nous avons montré qu'il y a une interaction physique entre le PTSFru2 et le régulateur Fru2R. La délétion des gènes codant le PTSFru2 ou la mutation de deux acides aminés essentiels de ce transporteur entraîne par ailleurs une perte d'activation du promoteur fru2. Ces résultats suggèrent que le PTSFru2 en reconnaissant un sucre de l'environnement est capable de moduler de manière directe l'activité du régulateur Fru2R. Ceci pourrait permettre à la bactérie de s'adapter à diverses conditions environnementales lors de la colonisation et l'infection de l'hôte.

Mots-clés : *Streptococcus agalactiae*, GBS, D-allose, D-ribose, PTS, MtIR

Patron K., Gilot P., Camiade E., Mereghetti L. 2015. An homolog of the Frz Phospho enolpyruvate:carbohydrate phosphoTransferase System of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* is encoded on a genomic island in specific lineages of *Streptococcus agalactiae*. *Infect Genet Evol.* 32:44-50

## **P77. Etude d'un transporteur MmpL10-like chez *Mycobacterium abscessus***

*Violaine Dubois*

UVSQ

*Mycobacterium abscessus* est une mycobactérie fréquemment isolée chez les patients atteints de la mucoviscidose (Roux et al, 2009). C'est un pathogène intracellulaire vrai de macrophages (Byrd et Lyon, 1999) dans lesquels elle parvient à se multiplier. Il a été montré que la paroi mycobactérienne offre une protection multiple aux mycobactéries pathogènes et participe à leur pathogénèse : son intégrité est donc cruciale pour leur survie intracellulaire. Le rôle de certaines protéines dans la virulence mycobactérienne comme les protéines MmpL (*Mycobacterial membrane protein Large*), impliquées dans l'export voire la synthèse de lipides pariétaux, a été étudié chez *Mycobacterium tuberculosis* (Converse et al, 2003). L'objectif des travaux présentés est la caractérisation du phénotype de survie intracellulaire au sein de macrophages d'un mutant de la paroi de *M. abscessus*. Le mutant étudié a été isolé d'une banque de mutants obtenus par transposition dans une souche clinique (43S). Il a été sélectionné comme étant fortement impacté dans sa survie intra-macrophages à partir d'un crible de co-culture à grande échelle des mutants. Le gène muté a été identifié par clonage dans un plasmide pUC19. Un orthologue a été recherché chez *M. tuberculosis* par Bidirectional Best Hit (BBH) (OpSCAN). Des macrophages murins (J774.2) ont été infectés avec le mutant et la souche 43S. La survie intracellulaire des bactéries a été évaluée par dénombrement des unités formant colonies à 3 H, 24 H et 72 H post-infection. L'adhérence du mutant a été testée 30 min après une infection à 4°C. L'internalisation a été évaluée selon les mêmes conditions suivies d'1 H d'incubation à 37°C. Le site d'insertion du transposon a été identifié au milieu d'un gène *mmpL*. Aucun orthologue n'a été trouvé chez *M. tuberculosis* par BBH mais des analyses par Blast et des recherches de Best Hits ont démontré sa proximité avec les gènes *mmpL8*, 10 et 12, la plus grande proximité étant trouvée avec le gène *mmpL10*. Le tout a été confirmé par deux études phylogénétiques. L'adhérence du mutant aux macrophages est fortement diminuée (50%) ainsi que son internalisation et sa survie intracellulaire (15%). Le fait que l'adhérence du mutant soit fortement diminuée est en faveur d'une atteinte pariétale, confirmée par des chromatographies sur couche mince, et la forte atténuation de sa survie intracellulaire témoigne de l'importance d'une telle atteinte. On montre ici l'importance de la paroi mycobactérienne dans le processus infectieux chez *M. abscessus* et notamment le rôle d'une protéine MmpL non-décrite.

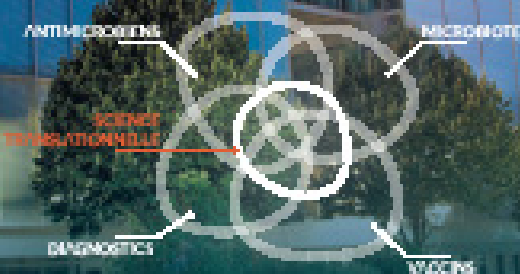
Mots-clés : macrophages, *Mycobacterium abscessus*, survie intracellulaire, paroi mycobactérienne, MmpL

Roux, A.-L., Catherinot, E., Ripoll, F., Soismier, N., Macheras, E., Ravilly, S., et al. (2009). *J Clin Microbiol*. Byrd T.F. et Lyons C.R. (1999). *Infect Immun*. Converse S.E., Mougous J.D., Leavell M.D., Leary J.A., Bertozzi C.R., et Cox J.S. (2003). *Proc Natl Acad Sci U S A*.



RÉMULTIPLIER LA CRÉATIVITÉ, AUGMENTER LA VALEUR, ENSEMBLE

Le premier institut d'innovation technologique en microbiologie



Favoriser, réaliser, accélérer et valoriser des projets innovants et ambitieux dans le domaine de la santé, avec et pour des partenaires publics et privés

LYON

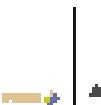
Boulevard BIOASTER  
30, avenue Tony Garnier 69631 Lyon, France  
04 78 99 41 41 / 12 000

DUJON

Boulevard G. BENOIST  
13, rue du Centre de Recherche 78041 Paris, France  
01 62 14 8 20 13 82

[contact@bioaster.org](mailto:contact@bioaster.org)

[bioaster.org](http://bioaster.org)



la plateforme collaborative d'accès aux échantillons biologiques

<https://biospecimens.bioaster.org>

## **P78. ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DE L'EAU POUR HEMODIALYSE AU CHU DE YAOUNDE**

Cédric Gueguim(1) , Hortense Gonsu Kamga(2), Alain Ragon(3), Emmanuel Nnanga Nga(4), Francois Kaze Folefack(5)

(1) Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé 1, (2) Laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé/Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaounde 1, (3) Laboratoire de contre des eaux, pôle Uro-néphrologie hôpital de la conception Marseille/France, (4) Faculté de Médecine et des Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Douala, (5) Centre d'hémodialyse du CHU de Yaoundé/ Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé 1

Introduction et objectif : Un contrôle rigoureux de la qualité microbiologique de l'eau dans les services d'hémodialyse est important car le système immunitaire des patients atteints d'insuffisance rénale chronique est affaibli 1,2. L'objectif de cette étude était de déterminer la qualité microbiologique de l'eau pour hémodialyse dans le service d'hémodialyse du Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé. Méthodologie : Douze échantillons d'eau prélevés chaque mois à différents sites du circuit d'hémodialyse: A (entrée des filtres), B (sortie des filtres/entrée de l'osmoseur) et C (sortie de l'osmoseur/pré du générateur) entre Juillet et Octobre 2015 ont été analysés. Les bactéries ont été isolées après filtration de 100 mL d'eau de chaque site à travers une membrane de nitrocellulose de microporosité 0,45 µm déposée à la surface de la gélose Tryptone Glucose Extract Agar (TGEA) puis, incubée à température ambiante pendant 7 jours. Après repiquage sur différents milieux, les isolats bactériens purs ont été identifiés par leurs caractères culturaux et galeries biochimiques commercialisés. Résultats : Le dénombrement des colonies était largement au-dessus des normes internationales requises (≥100 UFC/ml), soit un pourcentage de 83,3% (10/12) de non-conformité. Parmi les bactéries identifiées, neuf (09) étaient des bacilles à Gram négatif dont *Pasteurella haemolytica*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas paucimobilis*, *Aeromonas salmonicida* et *Klebsiella Pneumoniae* subsp *Ozaenae*, trois (03) bacilles à Gram positif tous des *Bacillus* sp et six (06) cocci à Gram positif tous des staphylocoques à coagulase négative. Les genres bactériens les plus fréquemment isolés étaient *Pseudomonas* (30,4%), *Staphylococcus* (26,1%), *Aeromonas* (13%), *Bacillus* (13%), *Klebsiella* (13%) et *Pasteurella* (4,3%). Conclusion : Dans cette étude, la détection d'une variété de bactéries dans l'eau d'hémodialyse indique la nécessité d'un contrôle régulier de l'eau pour hémodialyse par le centre d'hémodialyse du CHU de Yaoundé, afin de garantir une meilleure qualité de vie des patients soumis à ce traitement.

Mots-clés : Eau, Hémodialyse, Microbiologie, Contamination

1. JABER, B.L. Bacterial infections in hemodialysis patients: pathogenesis and prevention. *Kidney Int.*, 67: 2508-2519, (2005) 2. PONTORIERO, G.; POZZONI, P.; ANDRULLI, S. & LOCATELLI, F. The quality of dialysis water. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 18: 21-25, (2003)

## **P79. Caractéristiques des cas de Tuberculose neuro-méningée au CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie.**

*Hanifa Ziane*

*service de microbiologie médicale, CHU Mustapha Bacha*

La tuberculose neuro-méningée(TbNM) est responsable d'une morbi-mortalité importante. Cette gravité impose un diagnostic précoce. OBJECTIF Décrire les caractéristiques des cas de TbNM dans le but de rappeler l'actualité de cette maladie. MATERIEL ET METHODES Etude rétrospective de huit cas de TbNM diagnostiqués au laboratoire de microbiologie médicale, à Alger, entre 2007 et 2015. RESULTATS Huit cas de TbNM ont été observés chez des patients âgés de 18 à 81ans. Les signes cliniques étaient variables, en partie responsables du retard diagnostic. Des localisations pulmonaires (n=2), pleurale (n=1), et une miliaire tuberculeuse ont été observées. L'analyse cyto bactériologique et biochimique du LCR a révélé : une cytologie variable de <2 à 900 éléments/mm<sup>3</sup>, une hyperproteïnorrhachie (1.5 à 2.10g/l) et une hypoglycorachie (0 à 0.2g/l). La recherche du bacille tuberculeux a été positive dans un seul cas, alors que la culture l'a été dans 87.5%. L'évolution s'est faite vers le décès dans 75% des cas.

CONCLUSION Seule une étroite collaboration entre clinicien et microbiologiste améliorerait la prise en charge de ces formes graves, en attendant l'implémentation de nouvelles techniques diagnostiques.

Mots-clés : Algérie, tuberculose neuro-méningée, morbi-mortalité, bacille tuberculeux