



Activité de traitements par ciprofloxacine et/ou amikacine, en condition planctonique et en biofilm, vis-à-vis de souches de *Pseudomonas aeruginosa* surexprimant un efflux

A Soares, K. Alexandre, F. Lamoureux, L. Lemée, F. Caron, M. Pestel-Caron, M. Etienne

► To cite this version:

A Soares, K. Alexandre, F. Lamoureux, L. Lemée, F. Caron, et al.. Activité de traitements par ciprofloxacine et/ou amikacine, en condition planctonique et en biofilm, vis-à-vis de souches de *Pseudomonas aeruginosa* surexprimant un efflux. 3ème Journée Normande de Recherche Biomédicale, Sep 2018, Rouen, France. . hal-02268721

HAL Id: hal-02268721

<https://normandie-univ.hal.science/hal-02268721>

Submitted on 21 Aug 2019

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

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

Activité de traitements par ciprofloxacine et/ou amikacine, en condition planctonique et en biofilm, vis-à-vis de souches de *Pseudomonas aeruginosa* surexprimant un efflux.

A. Soares^{1,2}, K. Alexandre^{1,3}, F. Lamoureux⁴, L. Lemée^{1,2}, F. Caron^{1,3}, M. Pestel-Caron^{1,2}, M. Etienne^{1,3}

¹GRAM EA2656, Université de Rouen Normandie, Rouen ; ²Laboratoire de Bactériologie, CHU de Rouen ; ³Service de Maladies infectieuses et tropicales, CHU de Rouen ;

⁴Service de Pharmacologie Toxicologie, CHU de Rouen

Introduction

Le traitement des infections à *Pseudomonas aeruginosa* fait appel *in vivo* à des bithérapies, recommandées pour la prévention de la sélection de mutants résistants. L'intérêt des bithérapies n'est pas démontré pour les infections en biofilm. **L'objectif de ce travail a été de tester l'efficacité en biofilm et en condition planctonique de monothérapies de ciprofloxacine ou d'amikacine et d'une bithérapie ciprofloxacine + amikacine, vis-à-vis de souches surexprimant un efflux.**

Méthodes

- 4 souches de *P. aeruginosa* : souche de laboratoire PAO1 et 3 souches cliniques : sauvage (WT), efflux MexAB-OprM (AB) et MexCD-OprJ (CD)
- sensibles à la ciprofloxacine (CMI de 0,06 à 0,5 mg/L) et à l'amikacine (CMI de 0,5 à 2 mg/L)
- Exposition *in vitro* de cultures planctoniques (pendant 24h) et en biofilm (pendant 72h) à :
- ciprofloxacine - 4 mg/L - (AUC/CMI>125) / amikacine - 40 mg/L - (Cmax/CMI>10) / association ciprofloxacine + amikacine
- Dénombrement :
- de la population totale sur milieux gélosés sans antibiotique (MH2)
- des mutants résistants sur milieux gélosés + antibiotique (ciprofloxacine ou amikacine) à 4 x CMI
- Mesure des CMI de population à 0, 1 et 72h en biofilm
- Dosage de la ciprofloxacine et amikacine en biofilm à 72h

Tableau 1 : Caractéristiques des souches de *P. aeruginosa* étudiées

Souche	CMI (mg/L)		Fréquence de mutation (300 mg/L RIF)	Surexpression des mécanismes d'efflux		
	CIP (S≤0.5 -R>0.5)	AMIK (S≤8 -R>16)		MexAB	MexXY	MexCD
PAO1	0.125	2	1.8 x 10 ⁻⁸	-	-	-
WT	0.06	2	3.4 x 10 ⁻⁹	-	-	-
AB	0.06	2	8.1 x 10 ⁻⁹	+	-	-
CD	0.5*	0.5	3.5 x 10 ⁻⁸	-	-	+

*Pas de mutation dans le QRDR

CIP : ciprofloxacine ; AMIK : amikacine ; RIF : rifampicine

Résultats

En culture planctonique (7,7±0,4 log UFC/mL) et en biofilm (8,2±0,5 log), réduction bactérienne initiale >2,6 log en 4h de mono ou bithérapie pour tous les isolats.

❖ En culture planctonique (figure 1) :

- Pour les souches PAO1, WT et AB :

→ Après 24h de traitement par ciprofloxacine ou amikacine : stérilisation des cultures

- Pour la souche CD :

→ Après 24h de traitement par amikacine : stérilisation de la culture

→ Après 8h de traitement par ciprofloxacine :

- re-croissance bactérienne
- cellules résistantes à la ciprofloxacine CMI>32 mg/L
- mutation dans le QRDR (GyrA Thr-83-Ile + ParC Ser-80-Leu)

→ prévenue par l'association ciprofloxacine + amikacine

Résistance
phénotypique ET
génotypique

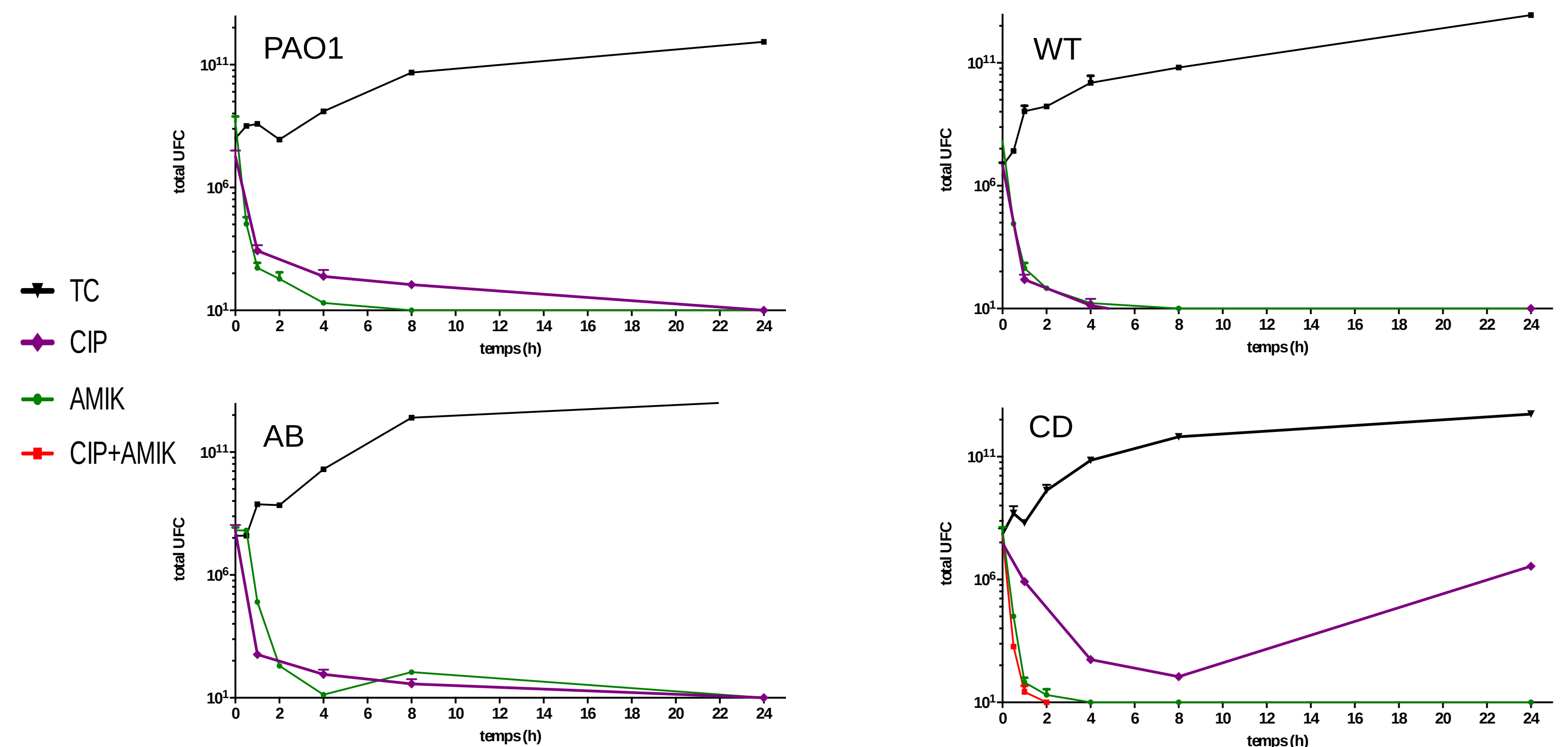


Figure 1 : Courbes de réduction bactérienne en culture planctonique après traitement par ciprofloxacine, amikacine, ciprofloxacine + amikacine selon le mécanisme d'efflux exprimé par la souche. TC : témoin de croissance ; CIP : ciprofloxacine ; AMIK : amikacine

❖ En biofilm (figure 2) :

- Entre 1h et 72h, sous mono ou bithérapie, et pour toutes les souches

→ Isolement inconstant de cellules résistantes

- CMI>4 fois la CMI initiale
- sans mutation dans le QRDR
- Représentant en moyenne 0,07% (±0,002%) de la population survivante
- SANS JAMAIS de RE-CROISSANCE

Résistance inconstante,
transitoire, minoritaire

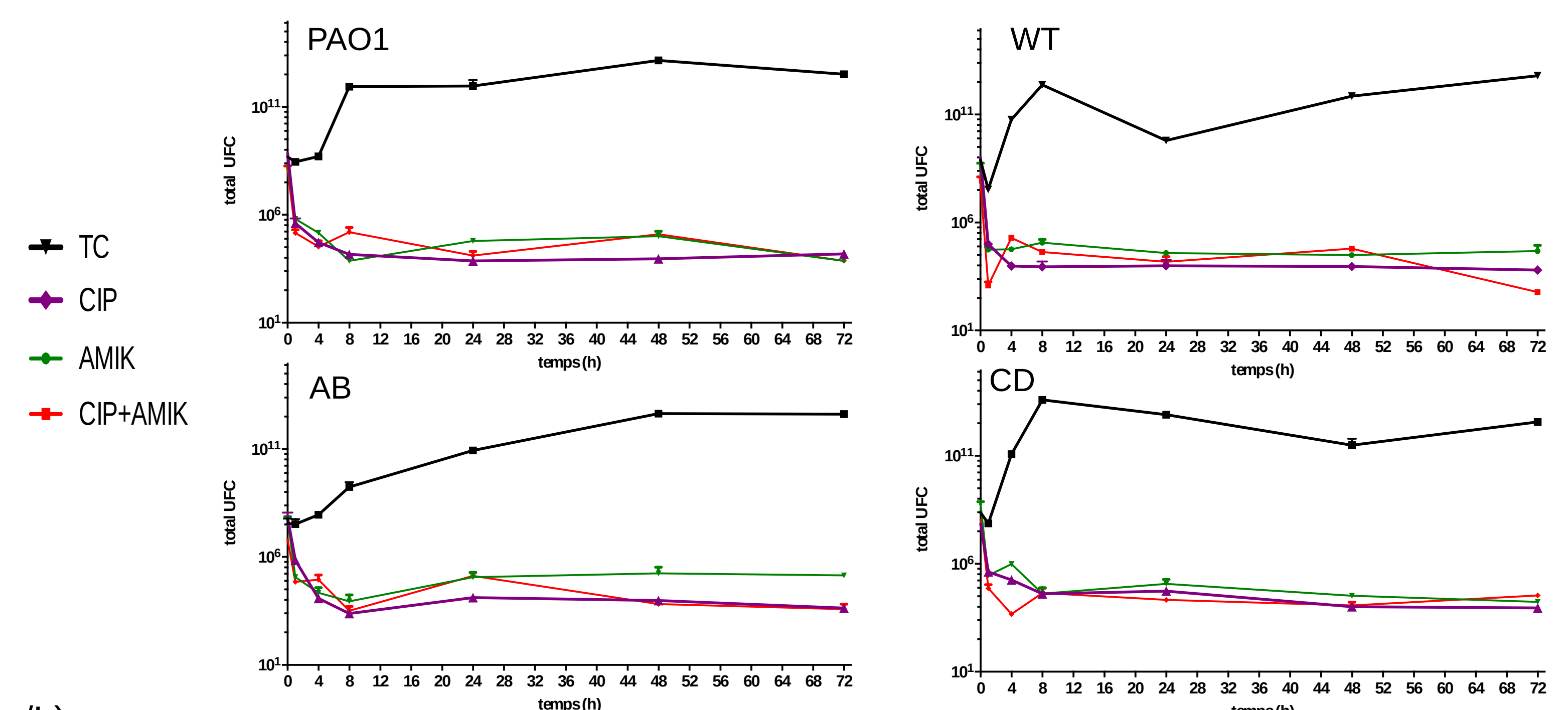


Figure 2 : Courbes de réduction bactérienne en biofilm après traitement par ciprofloxacine, amikacine, ciprofloxacine + amikacine selon le mécanisme d'efflux exprimé par la souche. TC : témoin de croissance ; CIP : ciprofloxacine ; AMIK : amikacine

- Après 72h de traitement par mono (ciprofloxacine ou amikacine) ou bithérapie, pour toutes les souches :

- concentrations d'antibiotique stables (ciprofloxacine : 6,5 ± 1,3 ; amikacine : 49,8 ± 3,6 mg/L)
- absence de re-croissance de mutants résistants
- concentrations bactériennes respectivement de 3,5, 4 et 2,6 log UFC/mL
- sans différence significative selon les souches ni selon le traitement antibiotique (p>0,05)

- Population survivante MAJORITAIRE après 72h de traitement composée de cellules persistantes :

- <1% de la population initiale (figure 3)
- SANS variation de la CMI dans le temps

Tolérance/Persistence phénotypique,
adaptative, majoritaire

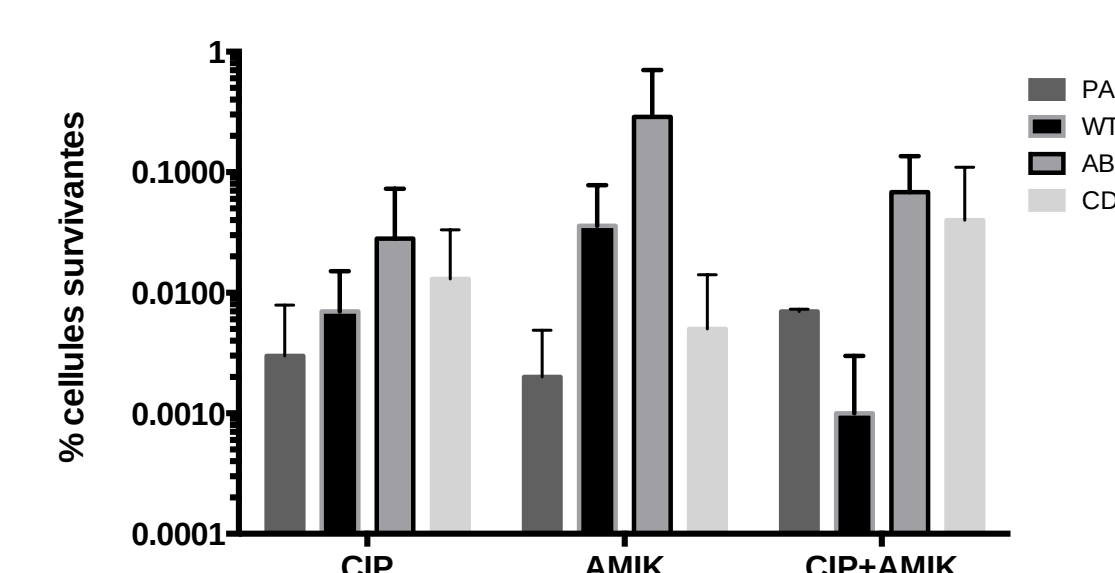


Figure 3 : Pourcentage de cellules survivantes après 72h de traitement antibiotique (ciprofloxacine, amikacine, ciprofloxacine + amikacine) selon le mécanisme d'efflux exprimé par la souche

Conclusion

En culture planctonique, la bithérapie (ciprofloxacine + amikacine) prévient la sélection de mutants résistants lorsque la souche surexprime un efflux à la ciprofloxacine (MexCD-OprJ).

En biofilm, la bithérapie (ciprofloxacine + amikacine) paraît inutile n'apportant ni réduction bactérienne supérieure ni prévention de l'émergence de mutants résistants, du fait de l'expression par toutes les souches testées d'un mécanisme de tolérance adaptative.