



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE

UFR AGROFORESTERIE

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE
Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2023-2024
N° D'ORDRE : 102

CANDIDAT
Nom : GBEGBE
Prénoms : Dého Aristide

THESE DE DOCTORAT

Mention : BIOLOGIE-SANTE

Spécialité : Microbiologie et Biologie Moléculaire

**Epidémiologie et profil génomique des isolats
bactériens impliqués dans les infections des voies
urinaires de certains patients du Centre
Hospitalier Régional de Daloa : Exploration de
leurs gènes de résistance et de virulence**

Soutenue publiquement

Le : 16/11/2024

JURY

**Président : M. KOFFI N'Goran Mathurin, Professeur Titulaire, Université
Jean LOROUGNON GUEDE**

**Directeur : M. ANGAMAN Djédoux Maxime, Professeur Titulaire, Université
Jean LOROUGNON GUEDE**

**Rapporteur : M. KOUASSI Kra Athanase, Maître de Conférences, Université
Jean LOROUGNON GUEDE**

**Examineurs : M. AKRE Djako Sosthène Thierry, Maître de Conférences,
Université Jean LOROUGNON GUEDE**

**Mme. GBONON M'Bengue Valérie Carole, Maître de
Recherche à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire**

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	i
DÉDICACE.....	vii
REMERCIEMENTS	viii
ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES	xi
LISTE DES TABLEAUX	xii
LISTE DES FIGURES.....	xiii
LISTES DES ANNEXES.....	xv
INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : GÉNÉRALITÉS	5
1. INFECTIONS DES VOIES URINAIRES (IVU)	6
1.1. Définition des infections des voies urinaires.....	6
1.2. Classification et symptômes des IVU	6
1.3. Aperçu historique des infections des voies urinaires (IVU).....	7
1.4. Mode de transmission des IVU	8
1.5. Facteurs de risque des IVU	11
2. SITUATION ÉPIDÉMIOLOGIQUE DES IVU	12
2.1. Dans le monde.....	12
2.2. En Amérique.....	13
2.3. En Europe.....	14
2.4. En Asie	14
2.5. En Océanie	15
2.6. En Afrique	15
2.7. En Côte d'Ivoire	15
3. DIAGNOSTIC DES IVU.....	16
3.1. Diagnostic clinique.....	16
3.2. Diagnostic bactériologique (ECBU)	16

TABLE DES MATIÈRES

3.2.1. Conditions de prélèvement, de conservation, de transport et d'analyse des échantillons urinaires	17
3.2.2. Identification des bactéries dans les urines	18
3.2.2.1. Identification des caractères morphologiques (Coloration de Gram)	18
3.2.2.2. Identification des caractères biochimiques	18
3.2.2.2.1. Portoir réduit de Le Minor pour l'identification biochimique des entérobactéries ..	18
3.2.2.2.2. Test de catalase	19
3.2.2.2.3. Test d'oxydase	19
3.2.2.2.4. Test de la DNase.....	20
3.2.2.2.5. Identification des champignons dans les urines	21
3.2.2.2.6. AntibioGramme et recherche de la production de β -lactamases à spectre élargi.....	21
3.3. Diagnostic moléculaire des IVU	22
4. LES MICROORGANISMES IMPLIQUÉS DANS LES IVU	23
4.1. Prévalence des microorganismes impliqués dans les IVU	23
4.2. Traitement des IVU	24
4.3. Mécanisme d'action des antibiotiques	25
4.3.1. Mécanisme d'action des β -lactamines.....	25
4.3.2. Mécanisme d'action des aminosides	25
4.3.3. Mécanisme d'action des fluoroquinolones.....	25
4.3.4. Mécanisme d'action de la rifampicine	26
4.4. Résistance aux antibiotiques des microorganismes impliqués dans les IVU	26
4.5. Virulence des microorganismes impliqués dans les IVU	28
5. APPORT DU SÉQUENÇAGE NOUVELLE GÉNÉRATION (NGS) EN ÉPIDÉMIOLOGIE BACTÉRIENNE	30
5.1. Principes généraux du séquençage	30
5.2. Applications cliniques	31
5.2.1. Caractérisation d'une épidémie	31
5.2.2. Développement d'outils de sérologie	32
5.2.3. Identification de pathogènes.....	33

TABLE DES MATIÈRES

5.3.4. Détection de l'antibiorésistance	33
5.2.5. Criblage des gènes de virulence et virulome.....	34
DEUXIEME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES	35
1.MATÉRIEL	36
1.1. Cadre de l'étude	36
1.2. Population d'étude	38
1.3. Matériel biologique	38
1.4. Matériel technique.....	38
1.4.1. Matériel de collecte des données épidémiologiques	38
1.4.2. Matériel de collecte des isolats bactériens	38
1.3.3. Matériel pour la revivification et la culture des isolats collectés	38
1.3.4. Appareillage	39
1.4. Matériel et réactifs pour la caractérisation moléculaire des souches	39
1.4.1. Matériel et réactifs pour l'extraction de l'ADN et l'amplification de l'ADNr 16S	39
1.4.2. Matériel pour le séquençage de l'ADN génomique et des amplicons	40
1.4.3. Outils et bases de données pour les analyses bio-informatiques.....	40
2. MÉTHODES	41
2.1. Technique de collecte des données épidémiologiques	41
2.1.1. Type d'étude	41
2.1.2. Critères d'inclusion	41
2.1.3. Critères d'exclusion.....	41
2.1.4. Echantillonnage	41
2.1.4.1. Collecte des données épidémiologiques.....	41
2.2.4.2. Collecte des échantillons bactériens.....	41
2.3. Caractérisation moléculaire des isolats bactériens collectés	42
2.3.1. Revivification des isolats bactériens collectés	42
2.3.2. Extraction d'ADN génomique des isolats bactériens.....	42

TABLE DES MATIÈRES

2.3.3. Amplification des ADNr 16S par PCR.....	43
2.3.4. Electrophorèse sur gel d'agarose	44
2.3.4.1. Préparation du gel d'agarose.....	44
2.3.4.2. Migration des produits d'amplification et révélation	44
2.4. Séquençage et analyse des séquences d'ADNr 16S.....	45
2.5. Evaluation du profil génomique des isolats bactériens collectés	45
2.5.1. Séquençage de Nouvelle Génération (NGS)	45
2.5.2. Analyse bioinformatique des séquences d'ADN génomiques des isolats bactériens.....	46
2.5.2.1. Contrôle qualité et assemblage des séquences d'ADN génomiques	46
2.5.2.2. Annotation des génomes assemblés	47
2.5.2.3. Identification taxonomique des isolats bactériens et analyse phylogénétique	47
2.5.2.4. Prédiction de la résistance et de la virulence intrinsèques	47
2.5.2.6. Prédiction des éléments génétiques mobiles	48
2.5.2.7. Prédiction des gènes de virulence et de résistance liés aux plasmides.....	48
2.5.2.8. Prédiction des gènes de résistance et de virulence liés aux chromosomes	48
2.5.2.9. Typage de séquences multilocus (MLST)	48
2.6. Analyses statistiques.....	49
TROISIEME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSION	50
1.RÉSULTATS	51
1.1. Détermination de l'incidence des IVU dans la ville de Daloa de 2019 à 2022.....	51
1.1.1. Situation socio-démographique des patients reçus au Laboratoire	51
1.1.1.1. Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction du sexe	51
1.1.1.2. Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction de l'âge	52
1.1.1.3. Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction de leur lieu d'habitation ...	53
1.1.1.4. Répartition des patients en fonction des services les référant au Laboratoire	54
1.1.2. Incidence des IVU dans la ville de Daloa	55
1.1.2.1. Incidence globale des IVU de 2019 à 2022.....	55

TABLE DES MATIÈRES

1.1.2.2. Sexe ratio (H/F).....	56
1.1.2.3. Incidence globale des IVU en fonction des tranches d'âge des patients.....	57
1.1.2.4. Sexe ratio (H/F) par tranche d'âge.....	58
1.1.2.5. Incidence annuelle des IVU dans la ville de Daloa.....	59
1.1.2.6. Incidence annuelle des IVU par sexe dans la ville de Daloa	60
1.1.3. Fréquence d'isolement des microorganismes impliqués dans les IVU à Daloa.....	61
1.1.3.1. Fréquence d'isolement des groupes bactériens	61
1.1.3.2. Fréquence d'isolement des espèces bactériennes impliquées dans IVU	62
1.1.3.3. Fréquence d'isolement annuelle des bactéries impliqués dans les IVU.....	63
1.1.3.4. Fréquence d'isolement des bactéries impliqués dans les IVU en fonction des tranches d'âge des patients	64
1.1.3.5. Fréquence d'isolement annuelle des bactéries impliquées dans les IVU en fonction du sexe.....	65
1.1.3.6. Fréquence d'isolement des bactéries impliquées dans les IVU par tranche d'âge en fonction des années	66
1.1.4. Taux de la résistance des germes impliqués dans les IVU à Daloa.....	67
1.1.4.1. Taux de la résistance des entérobactéries impliquées dans les IVU.....	67
1.1.4.2. Taux de la résistance des entérobactéries les plus impliquées dans les IVU à Daloa .	69
1.1.4.3. Taux de résistance aux antibiotiques des souches de Staphylococcus	70
1.1.4.4. Taux de résistance des souches de Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques	72
1.1.4.5. Prévalence des phénotypes de résistances aux bêta lactamases à spectre élargi (BLSE) observé chez les entérobactéries isolées.....	72
1.2. Identification des isolats bactériens.....	73
1.3. Description des profils génomiques des isolats bactériens	76
1.3.1. Qualité des séquences génomiques assemblées	76
1.3.2. Caractéristiques des génomes annotés	78
1.3.3. Identification taxonomique et analyse phylogénétique des isolats bactériens	84

TABLE DES MATIÈRES

1.3.3.1. Identification taxonomique et analyse phylogénétique des isolats 21LM07, 21LM367 et 21LM1136	84
1.3.3.2. Identification taxonomique et analyse phylogénétique de l'isolat 20LM111	86
1.3.3.3. Identification taxonomique et analyse phylogénétique des isolats 21LM561	88
1.3.4. Prédiction de la résistance et de la virulence intrinsèque des isolats bactériens	90
1.3.5. Prédiction des éléments génétiques mobiles	92
1.3.6. Prédiction de la résistance et de la virulence plasmidique	93
1.3.7. Prédiction de la résistance et de la virulence chromosomique	94
1.3.8. Typage des séquences multilocus (MLST)	96
2.DISCUSSION	97
2.1. IVU à Daloa : Incidence, écologie microbienne et résistance des microorganismes impliqués aux antibiotiques usuels.....	97
2.1.1. Incidence des IVU à Daloa.....	97
2.1.2. Écologie microbienne des IVU à Daloa	99
2.1.3. Résistance des microorganismes impliqués dans les IVU à Daloa aux antibiotiques..	101
2.2. Caractérisation moléculaire des isolats bactériens impliqués dans les IVU à Daloa	104
2.3. Profil des génomes bactériens	105
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	114
REFERENCES.....	119
ANNEXES	145

DÉDICACE

Je dédie cette thèse

À la mémoire de mon regretté père GBEGBE Irigo,

À ma mère BOMISSO Ziho et

*À mes garçonnets, GBEGBE Prince-Evans et GBEGBE Didier
Hans*

REMERCIEMENTS

Cette thèse est l'aboutissement d'un long parcours jonché de difficultés, d'incertitudes, de découragement mais aussi de passion, de reprise de confiance en soi et de challenge. Son dénouement n'aurait pu être possible sans le concours, le soutien et les encouragements de personnes auxquelles nous tenons à exprimer notre profonde gratitude.

Aux autorités de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE

Je remercie tout d'abord les autorités de l'Université qui ont œuvré pour la réalisation de ce travail. Mes remerciements au Professeur ADOHI KROU Viviane, Présidente de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE pour la bonne marche de l'Université.

Je remercie également les Vice-présidents de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, le Professeur SORO Dogniméton et le Professeur KONE Issiaka pour leur implication dans la formation, la recherche et la visibilité externe de notre institution.

J'adresse mes chaleureux remerciements au Docteur TONESSIA Dolou Charlotte, Maître de Conférences, Directrice de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) en Agroforesterie, pour m'avoir favorisé le bon déroulement de ce travail.

Mes remerciements vont également au Laboratoire d'Agro-valorisation de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE et tout particulièrement à son Directeur, le Professeur BEUGRE Grah Avit Maxwell, pour m'avoir permis de réaliser cette entreprise à priori délicate.

A nos maîtres et juges

Un sage africain disait « la connaissance est la seule chose qu'on peut donner sans pouvoir la reprendre ». Je remercie donc toutes ces personnes qui ont bien voulu me donner la connaissance car donner sans pouvoir reprendre, nécessite une certaine confiance en celui à qui l'on donne. Ainsi, je remercie mon Directeur de thèse, le Professeur ANGAMAN Djédoux Maxime pour tous ses apports et soutien tant sur le plan, académique, organisationnel et aussi relationnel, ses encouragements continus tout au long de la thèse. Je vous remercie de m'avoir orienté sur la bonne voie, celle du travail et de la patience. Je suis fier d'avoir été l'un de vos disciples.

Mes remerciements distingués et toute ma gratitude à tous les membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce travail, en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs orientations et propositions.

REMERCIEMENTS

Au Professeur KOFFI N’Goran Mathurin, Professeur Titulaire (Spécialité : Génétique et Epidémiologie Moléculaire) à l’UFR Environnement de l’Université Jean LOROUGNON GUEDE, je vous remercie d’avoir accepté de présider ce jury. En effet, cher Maître, bien que vous soyez un scientifique chevronné, votre humanisme suscite une grande admiration. Je vous remercie également pour tout le savoir que vous nous avez prodigué. C’est alors un réel plaisir pour moi de vous compter parmi les membres de jury de cette thèse.

Au Docteur KOUASSI Kra Athanase, Maître de Conférences (Spécialité : Microbiologie et Sécurité Alimentaire) à l’UFR Agroforesterie de l’Université Jean LOROUGNON GUEDE, je vous remercie de la perspicacité avec laquelle vous avez analysé cette thèse. Votre qualité de scientifique rigoureux nous a permis d’améliorer ce manuscrit. Merci aussi de toujours partager avec nous votre expérience et votre bonne humeur.

Au Docteur AKRE Djako Sosthène-Thierry, Maître de Conférences (Spécialité : Biochimie-Microbiologie) à l’UFR Agroforesterie de l’Université Jean LOROUGNON GUEDE, cher Maître, grande est la joie qui m’anime de vous avoir dans ce Jury comme examinateur. Je vous remercie de toutes vos observations et suggestions qui ont contribué à l’amélioration du document. Aussi, je vous remercie de l’opportunité que vous m’avez donné de travailler dans le Laboratoire d’Analyse médical dans lequel vous étiez actionnaire grâce à laquelle j’ai beaucoup appris en analyse médicale en conciliant la théorie à la pratique. Je vous suis reconnaissant car cette opportunité m’a ouvert plusieurs portes.

Au Docteur GBONON M’Bengue Valérie Carole, Maître de Recherche (Spécialité : Microbiologie) à l’Institut Pasteur de Côte d’Ivoire, chère Maître, je vous suis très reconnaissant d’avoir accepté d’examiner ce document. Je ne vous connais pas personnellement, mais mon ami Docteur N’ZI N’Goran Parfait dont vous avez été le Co-Directeur de thèse m’a parlé de votre grande culture scientifique qui fait de vous une référence dans votre domaine qui est la microbiologie. Je suis honoré qu’un scientifique de votre rang examine mon mémoire de thèse. Je vous remercie de votre contribution à l’amélioration de ce manuscrit.

Que tous les enseignants de la filière BIOLOGIE-SANTE et tous ceux qui de loin ou de près ont contribué à notre formation trouvent dans ces lignes un vibrant hommage à leur haute personnalité scientifique et toute ma gratitude pour m’avoir ouvert les horizons du monde scientifique. Mes vifs remerciements à l’endroit des Docteurs ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan, OKOU Obou Constantin, KOFFI Allali Eugène, AKRE Djako Sosthène-Thierry et COULIBALY Bakary pour leur soutien indéfectible et assistance pendant ma maladie.

REMERCIEMENTS

A tous ceux qui ont facilité mon intégration et adaptation au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa

Je me souviens aussi que le même sage africain disait que « c'est la multi-coloration du tapis qui fait sa beauté ». Il était certain qu'au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR j'acquerrais de nouvelles connaissances. Je tiens donc à remercier tous ceux qui ont énormément contribué à mon intégration et adaptation au sein de ce Laboratoire. Il s'agit de tout le personnel du Laboratoire avec à leur tête Docteur MONTHAUT Sylvia Vénérer Epse ZOKOU, la responsable du service et Monsieur ALLE Aguié Patrice biotechnologiste. Je vous prie de recevoir mes sincères remerciements pour m'avoir permis de réaliser ce sujet au sein de votre Laboratoire dans les meilleures conditions. Les moments passés ensemble ont été pour moi un réel plaisir. J'ai concilié la théorie à la pratique et appris beaucoup en bactériologie médicale. Vos conseils et suggestions ont été d'un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pu être mené à bon port.

A mes amis et condisciples

Je tiens à remercier Docteur N'ZI N'Goran Parfait et Docteur BOKO Adjoua Christiane Eunice pour leur soutien tant dans les moments de joie comme de difficulté durant ce travail. J'adresse mes remerciements et encouragements aux autres collègues de thèse notamment KAMBOU Sansan, N'GUESSAN Kouamé Abraham, KOUASSI Affoué Tatiana, YAO Dago Liliane et KACOU Okran Christophe. Des remerciements pour tout ce que nous avons pu partager déjà et des encouragements pour garder le cap. Aussi, je remercie tous les amis de la filière BIOLOGIE-SANTE, particulièrement BAIBO Guy Léonce et BRAHIMA Kouamé Koffi Raoul avec lesquels je partage mon quotidien. Je vous suis très reconnaissant de votre soutien et vos encouragements.

A tous les membres de la famille GBEGBE

Je tiens à remercier tous les membres de la famille GBEGBE, pour leur prière, leur conseil et leur soutien indéfectible. Je remercie mes petits frères pour le temps accorder à mes enfants durant mes absences. Je remercie également ma mère BOMISSO Ziho pour ces prières et sa patience.

ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES

ANOVA : Analyse de variance (Analysis of variance)

BLAST : Outil de recherche d'alignements locaux de base (Basic Local Alignment Search Tool)

BLSE : Bêtalactamase à spectre élargi

CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CDC : Centre Américain de Prévention et de Contrôle des Maladies

CHR : Centre Hospitalier Régional

CTAB : Bromure de Cétyltriméthylammonium

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

ECDC : Centre Européen de Contrôle des Maladies

ECPEx : *Escherichia coli* pathogènes extra-intestinaux

ECUP : *Escherichia coli* uropathogènes

IST : Infection Sexuellement Transmissible

IVU : Infection des Voies Urinaires

IVUC : Infection des Voies Urinaires Compliquée

IVUNC : Infection des Voies Urinaires Non Compliquée

NCBI : Centre National d'Information sur la Biotechnologie

NGS : Séquençage Nouvelle Génération

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

pH : potentiel hydrogène

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise

UFR : Unité de Formation et de Recherche

UJLoG : Université Jean LOROUGNON GUEDE

VFDB : Base de Données des Facteurs de Virulence

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

SE : Service Externe

DAV : Dispensaire Antivénérien

CDV : Centre de Dépistage Volontaire

ORL : Otorhinolaryngologie

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Gènes de résistance connus de quelques pathogènes urinaires	27
Tableau II : Facteurs de virulence des quelques pathogènes urinaires	29
Tableau III : Equipement de Laboratoire utilisé.....	39
Tableau IV : Amorces utilisés pour l'identification moléculaire des isolats bactériens	40
Tableau V : Mix réactionnel de la PCR.....	44
Tableau VI: Fréquence d'isolement des espèces bactériennes.....	62
Tableau VII : Similarité entre les isolats reçus et les espèces du catalogue de NCBI.....	74
Tableau VIII : Statistiques des génomes assemblés	77
Tableau IX : Facteurs de virulence de la souche de <i>Priestia flexa</i> 21LM367	91
Tableau X : Eléments génétiques mobiles contenus dans les différents génomes	93
Tableau XI : Gènes de virulence de l'isolat 12LM367 liés au chromosome	95

LISTES DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Pathogénèse des infections urinaires, a) infection non compliquée, b) infection urinaire compliquée.....	10
Figure 2 : BLSE chez <i>Escherichia coli</i> : Test de synergie par la méthode de diffusion ou disques. A/ souche sensible B/ souche productrice de BLSE	22
Figure 3: Différentes étapes du séquençage de l'ADN bactérien	31
Figure 4 : Représentation graphique de la zone d'étude.....	37
Figure 5: Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction du sexe	51
Figure 6: Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction de l'âge	52
Figure 7: Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction de leur lieu d'habitation .	53
Figure 8: Répartition des patients en fonction des services	54
Figure 9: Incidence globale des IVU de 2019 à 2022	55
Figure 10: Incidence globale des IVU de 2019 à 2022 en fonction du sexe.....	56
Figure 11: Incidence globale des IVU en fonction des tranches d'âge des patients.....	57
Figure 12: Incidence globale des IVU en fonction du sexe par tranche d'âge	58
Figure 13: Incidence annuelle des IVU dans la ville de Daloa	59
Figure 14: Incidence annuelle des IVU par sexe.....	60
Figure 15: Fréquence d'isolement des groupes de bactérie	61
Figure 16: Fréquence d'isolement annuelle des bactéries impliquées dans les IVU à Daloa...	63
Figure 17: Fréquence d'isolement des bactéries impliquées dans les IVU en fonction des tranches d'âge des patients.....	64
Figure 18: Fréquence annuelle d'isolement des bactéries impliquées dans les IVU en fonction du sexe.....	65
Figure 19: Fréquence d'isolement des bactéries impliquées dans les IVU par tranche d'âge en fonction des années	67
Figure 20: Taux de résistance des entérobactéries impliquées dans les IVU à Daloa.....	68
Figure 21: Taux de résistance des entérobactéries les plus impliquées dans les IVU.....	70
Figure 22: Taux de résistance des souches de <i>Staphylococcus</i> aux antibiotiques.....	71
Figure 23: Taux de résistance des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	72
Figure 24: Profil électrophorétique des gènes de l'ADNr 16S des 5 isolats bactériens	73
Figure 25: Représentation graphique du génome annoté de l'isolat 21LM367 réalisée avec l'outil Proskee	79

LISTE DES FIGURES

Figure 26 : Représentation graphique du génome annoté de l'isolat 21LM07 réalisée avec l'outil Proskee	80
Figure 27: Représentation graphique du génome annoté de l'isolat 21LM1136 réalisée avec l'outil Proskee	81
Figure 28: Représentation graphique du génome annoté de l'isolat 21LM561 réalisée avec l'outil Proskee	82
Figure 29: Représentation graphique du génome annoté de l'isolat 20LM111 réalisée avec l'outil Proskee	83
Figure 30: Arbre phylogénétique contenant les isolats 21LM07, 21LM367,21LM1136 généré avec TYGS	85
Figure 31: Arbre phylogénétique contenant l'isolat 20LM111 généré avec TYGS	87
Figure 32: Arbre phylogénétique contenant l'isolat 21LM561 généré avec TYGS	89

LISTES DES ANNEXES

LISTES DES ANNEXES

Annexe 1 : Matériel technique

Annexe 2 : Profil électrophorétique des gènes de l'ADN 16S des 5 isolats bactériens

Annexe 3 : Chromatogramme des séquences nucléotidiques des gènes de l'ADN 16S généré par Chromas

Annexe 4 : Représentation graphique des contenus en GC des génomes assemblés

Annexe 5 : Région de phage générée avec l'outil PHASTEST

Annexe 6 : Rapport du contrôle qualité des séquences brutes de l'isolat 21LM1136 avec l'outil Fastp

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses d'origine bactérienne figurent parmi les 10 principales causes de mortalité dans le monde selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Parmi celles-ci, les infections des voies urinaires (IVU) sont notables. Les IVU se caractérisent par une prolifération anormale de microorganismes dans les voies urinaires (Kalinderi *et al.*, 2018). Elles affectent environ 405 millions de personnes, entraînant 0,23 million de décès et coûtant plus de 6 milliards de dollars américains chaque année à l'échelle mondiale (Wagenlehner *et al.*, 2016 ; Belete & Saravanan, 2020 ; Islam *et al.*, 2022). Ces infections jouent un rôle majeur en pathologie néphrologique en raison de leur fréquence aussi bien chez les femmes et les hommes de tout âge. Les IVU représentent un sérieux problème de santé publique du fait de leurs conséquences, comme l'insuffisance rénale et la septicémie (Chemlal *et al.*, 2015).

Cependant, dans le contexte actuel de résistance élevée aux antibiotiques, comprendre les informations épidémiologiques des IVU est crucial (Wagenlehner *et al.*, 2016). En Côte d'Ivoire, l'épidémiologie des IVU communautaires reste un défi, avec un manque de données, particulièrement en dehors d'Abidjan. Par exemple, une étude a rapporté une prévalence de 18 % des IVU néonatales à Abidjan (Kouassi-M'Bengue *et al.*, 2008), mais les données sont limitées pour des villes comme Daloa. Le diagnostic des IVU est essentiellement basé sur l'examen cytot bactériologique des urines (ECBU). Toutefois, l'interprétation des résultats de l'ECBU est souvent confrontée à des incohérences et difficultés pouvant mener à des erreurs diagnostiques et à des prescriptions inappropriées d'antibiotiques (Leroy & Mariani-Kurkdjian, 2004).

Au Pays-Bas, des études ont révélé des taux d'erreur diagnostique allant de 37,5 % à 44 % (Lammers *et al.*, 2001 ; Koeijers *et al.*, 2007). Ces erreurs entraînent des faux positifs et des faux négatifs. Les faux négatifs ont des conséquences sérieuses tel que le sous traitement des IVU, pouvant mener à un sepsis sévère et à des séquelles rénales. Tandis que les faux positifs mènent à une méconnaissance du vrai diagnostic, à une augmentation des coûts et à l'exposition inutile aux effets secondaires des antibiotiques (Lammers *et al.*, 2001). L'usage excessif d'antibiotiques pour les IVU présumées impacte significativement l'écologie bactérienne, favorisant une augmentation des résistances bactériennes (Fenwick *et al.*, 2000 ; Freeman *et al.*, 2009). De plus, le seuil utilisé couramment pour diagnostiquer une IVU est de 10^5 unités formant colonie (UFC) par millilitre (Anger *et al.*, 2019). Ce seuil ressort d'une étude réalisée dans les années 1950 pour distinguer la contamination de la véritable bactériurie. Alors, ce seuil de 10^5 UFC/mL était le meilleur moyen de prédire la bactériurie (Kass, 1956). Mais, des données plus récentes suggèrent qu'un seuil de 10^2 UFC/mL, peut indiquer une cystite chez les femmes présentant des symptômes aigus (Hooton *et al.*, 2013), ce qui remet en question la

manière de gérer les cultures positives. Aussi, la culture conventionnelle de l'urine sélectionne les bactéries qui sont principalement aérobies et à croissance rapide, comme *Escherichia coli*, *Enterococcus* et les espèces de *Staphylococcus* (Perez-Carrasco *et al.*, 2021). Pourtant, la majorité des bactéries commensales humaines sont à croissance lente, anaérobies, ou ne se développent pas bien dans les cultures conventionnelles, de sorte que leur rôle dans la physiopathologie de l'infection urinaire n'est pas clair (Szlachta-McGinn *et al.*, 2022). Il se pose donc un problème de diagnostic qui justifie la recherche de méthodes alternatives comme le diagnostic moléculaire utilisant le séquençage nouvelle génération (NGS) (Perez-Carrasco *et al.*, 2021).

Le NGS, au-delà de l'identification des pathogènes, permet une caractérisation moléculaire directe et complète, pouvant prédire des phénotypes de résistance aux antibiotiques ou identifier des génotypes spécifiques dans les infections bactériennes ou virales. Il est également utile pour retracer l'histoire d'épidémies, comme dans le cas des infections nosocomiales ou de l'épidémie d'Ebola de 2014 (Faye *et al.*, 2015 ; Quick *et al.*, 2016), et pour anticiper les menaces infectieuses émergentes. Les tests moléculaires pour le diagnostic des IVU, tels que le séquençage de nouvelle génération (NGS) et la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), ont récemment gagné en popularité en raison des difficultés liées à l'utilisation de la culture d'urine conventionnelle. Les méthodes de diagnostic moléculaire annoncent une sensibilité accrue dans la détection des pathogènes urinaires. Avec le développement de méthodes moléculaires de profilage des communautés microbiennes, telles que le NGS et la PCR, on sait désormais que la vessie héberge une gamme variée de bactéries, même chez les individus sains et asymptomatiques (Szlachta-McGinn *et al.*, 2022). Le NGS est une technique indépendante de la culture qui permet d'identifier les micro-organismes d'un échantillon donné, en contournant certaines des limites de la culture d'urine conventionnelle (Perez-Carrasco *et al.*, 2021). À notre connaissance, aucune étude en Côte d'Ivoire n'aurait encore associé les techniques de séquençage nouvelle génération aux méthodes classiques de microbiologie dans le diagnostic des IVU. Ainsi, la méconnaissance des souches bactériennes impliquées rend difficile la prise en charge de ces affections. Ces différents constats ont suscité les questions suivantes :

- quelle est l'incidence des IVU dans la ville de Daloa ?
- quels sont les microorganismes impliqués dans les IVU à Daloa ?
- quel est le profil génomique des pathogènes impliqués dans les IVU ?

INTRODUCTION

Cette étude vise à fournir des informations actualisées sur l'incidence des IVU dans la ville de Daloa de janvier 2019 à décembre 2022, à caractériser et à évaluer le profil génomique des isolats bactériens impliqués. La présente étude a pour objectif principal de contribuer à la surveillance épidémiologique et à une meilleure connaissance de l'incidence des IVU à Daloa.

Elle vise spécifiquement en impliquant l'utilisation des approches NGS à :

- déterminer l'incidence des IVU dans la ville de Daloa de 2019 à 2022 ;
- identifier quelques isolats bactériens dans les IVU à Daloa ;
- décrire les profils génomiques de quelques isolats bactériens impliqués dans les IVU en vue d'explorer leurs gènes de résistance et de virulence ainsi que les éléments génétiques mobiles.

Outre l'introduction et la conclusion, le présent manuscrit est subdivisé en trois parties. La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique donnant une vue générale sur les IVU et les techniques de séquençage nouvelle génération. La seconde partie présente le matériel et les méthodologies qui ont servi à la réalisation de ce travail et la troisième partie traite des résultats obtenus et la discussion.

Après une conclusion générale suivi de perspectives, le manuscrit se termine par la présentation des références, support de réalisation de cette étude.

PREMIERE PARTIE : GÉNÉRALITÉS

1. INFECTIONS DES VOIES URINAIRES (IVU)

1.1. Définition des infections des voies urinaires

Les infections des voies urinaires (IVU) sont des infections qui se produisent dans n'importe quelle partie du système urinaire, y compris la vessie, les reins, l'urètre ou les uretères (Bargotya *et al.*, 2020). Ces infections sont généralement causées par des bactéries bien que des virus ou des parasites puissent également en être responsables. Les symptômes caractéristiques d'une IVU comprennent des douleurs ou brûlures lors de la miction, une fréquence accrue d'urination, une urine trouble ou malodorante, et parfois de la fièvre ou des douleurs lombaires. La cystite, une forme commune d'IVU, se réfère spécifiquement à une inflammation de la vessie, généralement due à une infection bactérienne (Bilsen *et al.*, 2023). La présence d'une infection urinaire peut souvent être confirmée par l'analyse d'un échantillon d'urine, qui montrera la présence de bactéries et/ou de globules blancs (Bilsen *et al.*, 2023).

1.2. Classification et symptômes des IVU

La classification des IVU est importante pour leur prise en charge clinique et la recherche. Traditionnellement, les IVU sont classées en fonction des symptômes cliniques, des données de Laboratoire et des résultats microbiologiques. La classification actuelle des IVU a été élaborée en 1988 par le Centre de Prévention et de Contrôle de Maladies Infectieuses (CDC) des États-Unis et mise à jour par la Food and Drug Administration des États-Unis en 1992, et par la Société Européenne de Microbiologie Clinique et des Maladies Infectieuses (ESCMID) en 1993 puis revue en 2008, par la Société Américaine des Maladies infectieuses (IDSA). Par ailleurs, les limites de cette classification ont été documentée (Johansena *et al.*, 2011). Les IVU se développent sous divers types, notamment la bactériurie asymptomatique, une infection aiguë, chronique et récurrente (Smelov *et al.*, 2016). La récurrence de l'IVU, trois fois ou plus par an, ainsi que deux IVU ou plus en moins de 6 mois est considérée comme une IVU récurrente (Nuutinen & Uhari, 2001). Les IVU aiguës peuvent être classées en deux catégories en fonction de leur localisation : les IVU inférieures et les IVU supérieures (Foxman, 2014 ; Smelov *et al.*, 2016). Les infections urinaires peuvent également être classées cliniquement en deux types, les infections urinaires compliquées (IVUC) et non compliquées (IVUNC) (Zacchè & Giarenis, 2016). Le traitement des IVUC constitue un défi pour les médecins, et sont caractérisées par l'altération ou l'obstruction du système urinaire. Elles sont attribuées aux patients qui utilisent des dispositifs médicaux tels que des cathéters. Les IVUNC sont souvent observées chez les

patients ambulatoires ayant un système urinaire sain qui n'utilisent pas de dispositifs médicaux. (Lichtenberger & Hooton, 2008 ; Hooton, 2012).

Étant donné que certains des symptômes des IVU inférieures et supérieures sont similaires, l'identification du type d'IVU doit être effectuée sur la base d'examens cliniques et de résultats de Laboratoire (Mulvey, 2002; Foxman, 2014). Néanmoins, les IVU inférieures, comme la cystite, la prostatite ou l'urétrite, s'accompagnent généralement d'une dysurie et d'une fréquence accrue d'urination, tandis que la fièvre et les douleurs au flanc ou à l'angle costo-vertébral sont associées aux IVU supérieures. (Masajtis-Zagajewska & Nowicki, 2017). Les signes supplémentaires d'IVU comprennent une hématurie macroscopique, une nouvelle ou aggravation de l'incontinence, des urines malodorantes et des douleurs sus-pubiennes (Schmiemann *et al.*, 2010; Gupta & Trautner, 2012). Les symptômes non spécifiques peuvent aller de l'anorexie, à une modification de l'état mental, fatigue et faiblesse (Mody & Juthani-Mehta, 2014). Les symptômes moins classiques des infections urinaires peuvent se présenter particulièrement dans des populations uniques. Par exemple, un manque d'appétit, une incapacité à faire monter la fièvre, une confusion et une fatigue peuvent être observés chez les personnes âgées (Matthews & Lancaster, 2011).

1.3. Aperçu historique des infections des voies urinaires (IVU)

Les infections urinaires ont été reconnues comme un problème de santé publique tout au long de l'histoire (Brauer *et al.*, 2022). D'après les preuves historiques, les infections des voies urinaires ont été documentées dès l'Égypte ancienne, avec des références trouvées dans des écrits médicaux datant d'environ 1500 avant notre ère. Ces écrits indiquent que les symptômes des infections urinaires, tels que les mictions fréquentes et les douleurs pendant la miction, étaient déjà reconnus dans l'antiquité. Dans les civilisations grecque et romaine de l'antiquité, les infections urinaires étaient attribuées à des déséquilibres des humeurs corporelles. Toutefois, ce n'est qu'au XIX^e siècle que des progrès significatifs ont été réalisés dans la compréhension et le traitement des infections urinaires. Au cours du XIX^e siècle, les scientifiques et les médecins ont commencé à comprendre le rôle des bactéries dans les infections urinaires. Ils ont pu identifier des bactéries telles que *Escherichia coli* comme les principaux agents pathogènes responsables des infections urinaires. Au XX^e siècle, le développement des antibiotiques a révolutionné le traitement des infections urinaires. Cela a conduit à des thérapies plus efficaces et plus ciblées pour les infections urinaires, réduisant le risque de complications et améliorant les résultats pour les patients. Dans le monde d'aujourd'hui, qui évolue rapidement, les

infections urinaires restent un problème de santé important, qui touche chaque année des millions de personnes dans le monde (Jafri *et al.*, 2014).

L'évolution de la compréhension des infections des voies urinaires (IVU) a été significative au fil des décennies. Flores-Mireles *et al.* (2015) ont mis en lumière que les IVU sont causées par une gamme étendue de pathogènes, y compris des bactéries Gram-négatif et Gram-positif, soulignant la complexité de ces infections. Klein & Hultgren (2020) ajoutent que l'histoire des IVU est profondément marquée par la récurrence et la résistance aux traitements, faisant des infections urinaires récurrentes un défi majeur en matière de santé publique. Medina & Castillo-Pino (2019) fournissent une vue d'ensemble narrative de l'épidémiologie et du fardeau des IVU, mettant en évidence leur impact significatif sur les systèmes de santé à travers le monde. De plus, Mancuso *et al.* (2023) discutent des facteurs associés aux IVU, incluant les mécanismes de pathogénicité des bactéries responsables et l'émergence de la résistance aux antibiotiques, ce qui souligne les défis continus dans la gestion des IVU. En somme, les IVU représentent un domaine de recherche en constante évolution, nécessitant une approche multidisciplinaire pour comprendre et traiter efficacement ces infections.

1.4. Mode de transmission des IVU

La transmission de l'agent infectieux à l'organisme hôte constitue toujours la première étape de l'infection, car l'agent pathogène doit entrer au contact physique avec son hôte potentiel comme illustré par la Figure 1. Alors, dans le cas de l'IVU, il a été présumé que l'infection résulte du mouvement de bactéries intestinales dans les voies urinaires. Vraisemblablement, si les uropathogènes se déplacent du tractus gastro-intestinal vers la vessie, ils peuvent également se déplacer dans la direction opposée. Ceci étant il est probable que les mains soient contaminées pendant la miction, ce qui peut transférer directement l'uropathogène à un partenaire lors d'une activité intime ou indirectement transmettre l'uropathogène via la nourriture ou l'eau. L'activité sexuelle peut conduire à une transmission directe de la cavité vaginale à l'urètre d'un partenaire sexuel et vice versa, ou indirectement lors du sexe oral (Bailey *et al.*, 1986).

Cependant, l'IVU commence généralement par une contamination péri-urétrale par un uropathogène résidant dans l'intestin, suivie d'une colonisation de l'urètre et d'une migration ultérieure de l'agent pathogène vers la vessie. Dans la vessie, les interactions hôte-pathogène déterminent en fin de compte si les uropathogènes réussissent la colonisation ou sont éliminés. De multiples adhésines bactériennes reconnaissent les récepteurs de l'épithélium de la vessie et médient la colonisation. Ainsi, les uropathogènes tels que *Escherichia coli* Uropathogène

(ECUP) envahissent l'épithélium de la vessie, en produisant des toxines et des protéases pour libérer les nutriments des cellules hôtes puis synthétisent des sidérophores pour obtenir du fer. En se multipliant et en surmontant la surveillance immunitaire de l'hôte, les uropathogènes peuvent ensuite remonter jusqu'aux reins, se fixant à nouveau via des adhésines ou des pili pour coloniser l'épithélium rénal et produire ensuite des toxines endommageant les tissus. Aussi, les uropathogènes sont-ils capables de traverser la barrière épithéliale tubulaire pour accéder à la circulation sanguine, puis déclencher la bactériémie. Certaines uropathogènes responsables des IVU non compliquées (IVUNC), tels que *Escherichia coli* uropathogène, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus saprophyticus*, ont le pouvoir de se fixer directement à l'épithélium de la vessie (Khandelwal *et al.*, 2009). ECUP et *K. pneumoniae* se fixent aux uroplakines, qui protègent la vessie des mammifères contre les agents nocifs présents dans l'urine (Khandelwal *et al.*, 2009 ; Lee, 2011). Outre les uroplakines, les intégrines $\alpha 3 \beta 1$, situées à la surface des cellules uroépithéliales, peuvent également servir de récepteurs pour ECUP (Eto *et al.*, 2007). En revanche, les infections des voies urinaires compliquées (IVUC) sont initiées lorsque les bactéries se fixent à une sonde urinaire, à un calcul rénal ou vésical, ou bien lorsqu'elles sont retenues dans les voies urinaires par une obstruction physique. Certains agents pathogènes (par exemple, ECUP) peuvent provoquer des infections urinaires simples ou compliquées. Cependant, d'autres comme *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus* spp. provoquent majoritairement des IVUC. Par la suite, ces uropathogènes forment souvent des biofilms responsables de la colonisation et la persistance (Niveditha *et al.*, 2012 ; Fusco *et al.*, 2017).

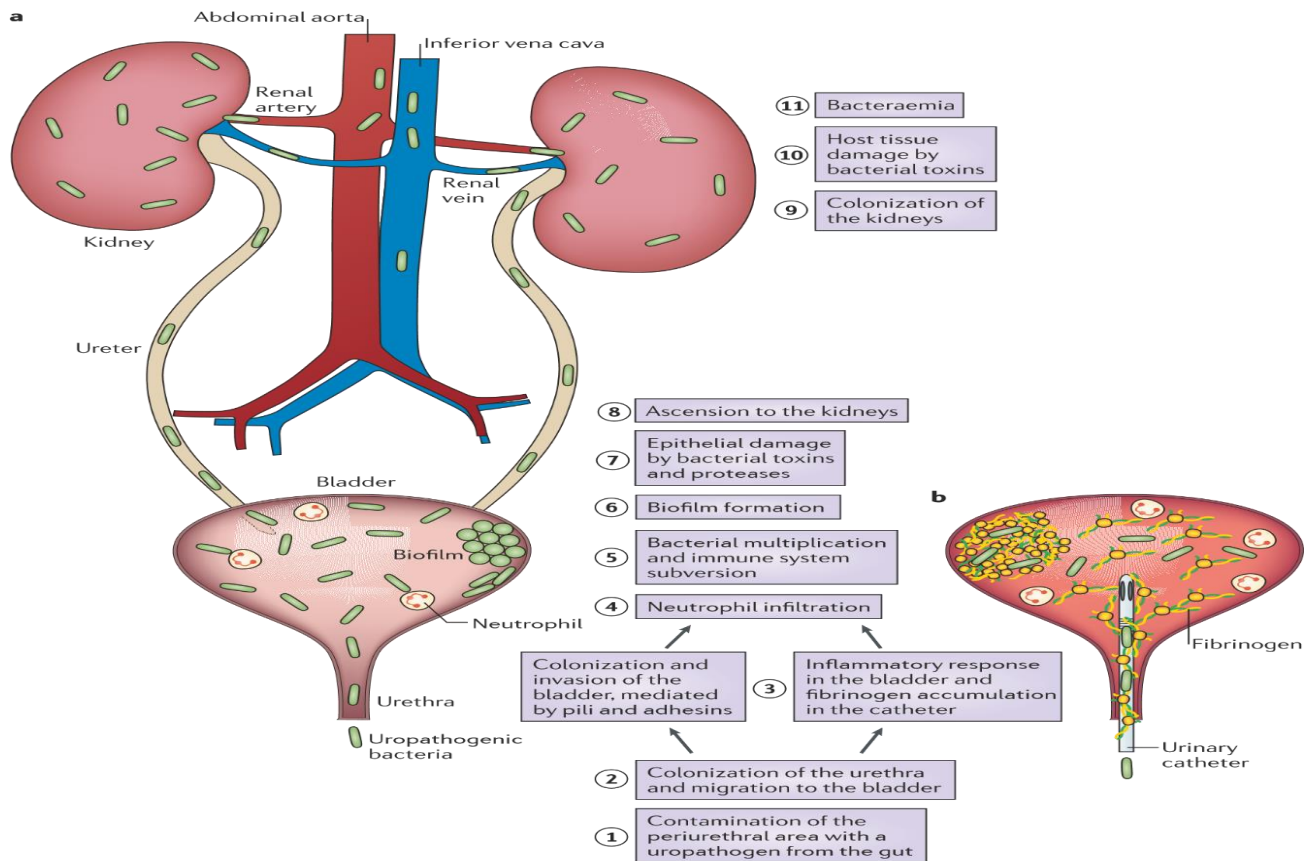


Figure 1 : Pathogénèse des infections urinaires, a) infection non compliquée, b) infection urinaire compliquée (Flores-Mireles *et al.*, 2015)

Les infections des voies urinaires non compliquées (IVUNC) commencent lorsque les uropathogènes résidant dans l'intestin prolifèrent dans la zone péri-urétrale pour coloniser l'urètre (étape 1). Migration ultérieure des uropathogènes vers la vessie (étape 2). Expression des pili et des adhésines entraînent la colonisation et l'invasion des cellules parapluie superficielles (étape 3). Réponses inflammatoires de l'hôte, y compris l'infiltration de neutrophiles (étape 4). Multiplication de certaines bactéries qui ont échappé au système immunitaire, soit par invasion des cellules hôtes, soit par des changements morphologiques (étape 5) et formation de biofilm (étape 6). Production des toxines et des protéases par ces bactéries qui induisent des dommages aux cellules hôtes (étape 7). Libération des nutriments essentiels à la survie des bactéries et favorisant leur ascension vers les reins (étape 8). Colonisation rénale (étape 9) entraîne la production de toxines bactériennes et des lésions des tissus de l'hôte (étape 10). Si elles ne sont pas traitées, les infections urinaires peuvent évoluer vers bactériémie si l'agent pathogène traverse la barrière épithéliale tubulaire dans les reins (étape 11). Ces étapes 1 à 11 sont illustrées sur la figure 1a. Les uropathogènes qui causent les infections urinaires compliquées suivent les mêmes étapes initiales que celles décrites pour les infections non compliquées, y compris la colonisation périurétrale (étape 1), progression vers l'urètre et migration vers la vessie (étape 2). Cependant, pour que le pathogène puisse provoquer une infection, la vessie doit être compromise. La cause la plus fréquente d'une vessie compromise est le cathétérisme. En raison de la réponse immunitaire robuste induite par le cathétérisme (étape 3), le fibrinogène s'accumule sur le cathéter, fournissant un environnement idéal pour la fixation d'uropathogènes qui expriment des protéines liant le fibrinogène. L'infection induit une infiltration de neutrophiles (étape 4), mais après leur fixation initiale aux cathéters enduits de fibrinogène, les bactéries se multiplient (étape 5), forment des biofilms (étape 6), favorisent les lésions épithéliales (étape 7) et peuvent provoquer une infection des reins (étapes 8 et 9), où la production de toxines induit des lésions tissulaires (étape 10). S'ils ne sont pas traités, les uropathogènes qui causent les infections urinaires compliquées (figure 1b) peuvent également évoluer vers une bactériémie en traversant la barrière cellulaire épithéliale tubulaire (étape 11).

1.5. Facteurs de risque des IVU

Les facteurs d'infection des voies urinaires varient selon le pays, la situation géographique et la forme de l'IVU. Néanmoins, les facteurs de risque des IVU peuvent être de nature comportementale (l'hygiène personnelle, l'utilisation d'une contraception : spermicide, relations sexuelles), anatomique (le sexe, les problèmes de prostate), l'immunité compromise (le diabète) ou génétique (Emiru *et al.*, 2013 ; Storme *et al.*, 2019).

Parlant du risque de contracter les IVU liées au comportement de l'hôte, il convient de noter que certains comportements comme l'activité sexuelle abusive favorise le déplacement des bactéries dans l'urètre aussi bien chez la femme que chez l'homme, augmentant ainsi le risque d'infection. Les hommes homosexuels sexuellement actifs constituent un groupe à risque accru des IVU aiguës, et *Escherichia coli* peut contribuer à l'urétrite non gonococcique dans cette population (Barnes *et al.*, 1986). L'utilisation des préservatifs, des diaphragmes et des spermicides augmente également le risque d'infection en raison de l'aggravation du traumatisme surtout chez la femme et de obstruction de l'écoulement de l'urine (Foxman *et al.*, 1997). La réceptivité des cellules urothéliales aux bactéries augmente en cas d'utilisation de contraceptifs imbibés de spermicides et en cas de toilette inadaptée (Johnson, 1991). Aussi, subir une intervention chirurgicale pour quelque raison que ce soit et surtout s'il s'agit d'une manipulation du tractus génito-urinaire par la mise en place d'un cathéter déplace les bactéries dans la vessie et crée un portail pour l'invasion bactérienne favorisant ainsi le risque d'infection.

Du point de vue anatomique et fonctionnel, le risque d'infection est plus élevé chez la femme que chez l'homme. L'anatomie génitale urinaire de la femme, en particulier l'urètre court et proche de la zone périanale augmente le risque d'infection chez celle-ci. Les femmes enceintes courent un risque plus élevé de pyélonéphrite, en raison des changements anatomiques et physiologiques qui surviennent pendant la grossesse (Ramos *et al.*, 2012). Le changement du pH vaginal chez la femme ménopausée favorise la colonisation des entérobactéries dans le vagin et le dérèglement de la flore vaginale. Les modifications hormonales pendant les périodes prémenstruelles et post-menstruelles chez la femme augmente le risque d'infection. Des anomalies anatomiques et fonctionnelles tels que le dysfonctionnement neurogène de la vessie dû à une lésion de la moelle épinière, l'obstruction des voies urinaires, les malformations urologiques, les reflux vésico-urétéraux, les tumeurs et les cancers des voies urinaires favorisent l'adhésion des bactéries aux cellules urothéliales entraînant ainsi la colonisation du périnée, du vagin et de la muqueuse urétrale (Tolkoff-Rubin & Rubin, 1997, Foxman., 2002). Par ailleurs, les troubles cognitifs sont aussi les facteurs de

risque d'infection (Caljouw *et al.*, 2011). Il a été démontré que la défaillance du système immunitaire de l'hôte expose aux IVU. En effet, certaines maladies métaboliques comme le diabète expose à la survenue d'IVU, les facteurs qui augmentent le risque d'IVU chez les diabétiques comprennent l'âge, le contrôle métabolique et les complications à long terme, principalement la néphropathie diabétique et la cystopathie (Brown *et al.*, 2005). Aussi, la grossesse est-elle un facteur de risque de développement des IVU chez la femme car étant un état physiologique d'immunodépression acquise, elle entraîne la perte des capacités normales d'élaboration d'anticorps sériques. Ainsi, la grossesse développe la glycosurie et entraîne l'augmentation physiologique du volume plasmatique qui diminue la concentration urinaire favorisant ainsi la croissance bactérienne dans l'urine (Hawa, 2006 ; Lucas & Cunningham, 1993). Des symptômes urogénitaux surviennent chez presque toutes les femmes pendant la grossesse. La fréquence des symptômes d'hyperactivité vésicale commence dès le début de la grossesse, tandis que les symptômes d'incontinence urinaire augmentent avec l'âge gestationnel, bien que la majorité restent tolérables (van Brummen *et al.*, 2006). Certaines maladies immunitaires, tel que le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) causé par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) et les infections sexuellement transmissibles (IST) partagent les mêmes facteurs de risque que les IVU. A cet effet elles favorisent les IVU autant que les schistosomiasis et la tuberculose (Cissé, 2019 ; Tolkoff-Rubin & Rubin, 1997).

En ce qui concerne les facteurs génétiques, une étude réalisée à New York, comparant 49 femmes ayant des cystites récurrentes et 49 femmes sans antécédent des IVU, a démontré que le phénotype non sécréteur du facteur de Lewis des groupes sanguins ABO était un facteur de risque potentiel d'infection urinaire (Vorkafer, 2011 ; Sheinfeld *et al.*, 1989). En effet, l'antigène HLA-A3 est plus fréquent chez les patients ayant des IVU récurrentes en raison de la réceptivité urothéliale accrue.

2. SITUATION ÉPIDÉMIOLOGIQUE DES IVU

2.1. Dans le monde

Les IVU sévissent dans le monde entier causant d'énorme perte en vie humaine, économique et ayant des conséquences drastiques sur la santé. Il est difficile d'évaluer avec précision l'incidence et la prévalence des IVU, car ce ne sont pas des maladies à déclaration obligatoire dans la plupart des pays du monde même aux États-Unis (Foxman, 2002). Cette situation est encore compliquée par le fait qu'un diagnostic précis dépend à la fois de la présence de symptômes et d'une culture d'urine positive, bien que dans la plupart des contextes

ambulatoires, ce diagnostic soit posé sans le bénéfice de la culture (Foxman, 2002). Néanmoins, Islam *et al.* (2022) estiment qu'en 2019, 405 millions de personnes étaient atteintes de l'IVU dont 0,23 million en sont décédées. Par ailleurs, la prévalence mondiale des IVU nosocomiales est estimée à 9,4 % coutant à l'économie mondiale plus de 6 milliards de dollars américains en traitements et en pertes de travail (Wagenlehner *et al.*, 2016 ; Belete & Saravanan, 2020). Ces affections sont hétérogènes en ce qui concerne leur étiologie, leurs manifestations cliniques, leur évolution et les microorganismes incriminés sont variés, avec des changements significatifs selon les années, les pays ou les régions (Behzadi *et al.*, 2015 ; Tandogdu & Wagenlehner, 2016). En outre, la difficulté et la complexité de la prise en charge des IVU sont dues à un large éventail de facteurs de virulence et de multirésistances impliqués dans la pathogénicité et la résistance des uropathogènes, (Hozzari *et al.*, 2020 ; Ahmadi *et al.*, 2022). Malgré les progrès réalisés dans leur diagnostic et leur prise en charge, les infections urinaires restent associées à des taux d'incidence et de mortalité élevés (Foxman, 2002). Il existe peu de données à l'échelle mondiale sur la prévalence et les tendances à long terme des IVU. Des informations complètes aux niveaux national et régional sur le fardeau des IVU sont importantes pour les décideurs politiques en ce qui concerne l'allocation des ressources limitées disponibles et l'établissement de politiques de santé publique efficaces.

2.2. En Amérique

En Amérique, particulièrement aux États-Unis, 11 millions de cas d'IVU sont recensés chaque année avec environ 100 000 hospitalisations et 13 000 décès selon les rapports du Centre de prévention et de Contrôle des Maladies (CDC) (Gordon & Jones, 2003 ; Kumar & Das, 2017 ; Ngong *et al.*, 2021). Financièrement, la prise en charge des IVU a coûté à l'état Américain 3,50 milliards de dollars en 2015 (Flores-Mireles *et al.*, 2015). Les IVU représentent 12,9 % des infections nosocomiales et la deuxième cause de consultation en médecine ambulatoire aux États-Unis (Magill *et al.*, 2014). Le groupe prédominant de patients atteints des IVU dans ce pays sont les femmes (Zielske *et al.*, 1981). En utilisant les données du registre américain, Taur et Smith, (2007) ont extrapolé que chaque année, 7 millions de femmes solliciteraient des soins ambulatoires en raison des IVU. Dans une étude autodéclarée, 10,8 % des femmes ont déclaré avoir eu une infection urinaire au cours des 12 derniers mois (Foxman *et al.*, 2000). Au demeurant, la cystite reste la principale IVU chez les femmes car la pyélonéphrite représente 13 % des cas d'IVU et l'on diagnostique une pyélonéphrite pour 28 cas de cystite avec une prévalence annuel de 25 cas pour 10 000 femmes dont l'âge est compris entre 15 et 34 ans (Hooton, 2012 ; Takhar & Moran, 2014). En général, selon Colgan *et al.* (2006) et den Heijer

et al. (2012) les hommes sont moins infectés avec une prévalence comprise entre 1,5 et 9 % qui augmente après 60 ans aux Etats-Unis d'Amérique.

2.3. En Europe

En Europe, l'IVU est la deuxième cause de consultation en médecine ambulatoire et bien qu'elle soit une pathologie fréquente avec environ 12 IVU sur 1000 consultations médicales, son coût réel est encore inconnu (Vincent *et al.*, 1995 ; Hooton & Stamm, 1997 ; Bruyère *et al.*, 2015). La prévalence des IVU serait de 19,6 % et varie en fonction du contexte clinique selon l'étude de surveillance du Centre européen de contrôle des maladies (ECDC), elles étaient la principale infection nosocomiale dans les centres de psychiatrie, de gériatrie et de réadaptation, tandis qu'elles étaient la deuxième cause fréquente dans les services de médecine et de gynécologie-obstétrique (Suetens *et al.*, 2018). Singulièrement en France, plus de 2 millions de cas d'IVU étaient hospitalisés de 2017 à 2021 dont l'incidence ajustée était de 900 cas pour 100 000 habitants, prédominant chez les femmes et augmentant avec l'âge. Les infections urinaires simples représentaient près de 2/3 des cas (63,5 %), suivies des pyélonéphrites (23,6 %) et des prostatites (12,4 %). Plus des 3/4 soit 76,8 % des patients avait au moins une comorbidité (de Lafforest *et al.*, 2021). Une étude observationnelle réalisée en 2003 auprès d'un panel de 1587 médecins généralistes a révélé que l'IVU représentait 7 % des consultations en France dont le coût de prise en charge est estimé à 3,700 millions d'euros (Haab *et al.*, 2006 ; Bruyère *et al.*, 2015). Par ailleurs, aux Pays-Bas, l'IVU représente 1 % de l'ensemble des consultations (Lugtenberg *et al.*, 2010). En 2010, son incidence moyenne annuelle chez les hommes est de 156 pour 10 000 alors qu'elle est de 922 pour 10 000 chez les femmes tandis qu'elle était de 1319 pour 10 000 chez les hommes de 85 ans (den Heijer *et al.*, 2012). L'IVU représente également environ 1 à 3 % des consultations de médecine générale aux Royaume-Unis (Schmiedemann *et al.*, 2010).

2.4. En Asie

En Asie, les IVU pèsent considérablement sur la santé publique, présentant divers modèles de prévalence et profils de résistance aux antimicrobiens. Des revues approfondies et systématiques ont été consacrées à l'étude de ces affections dans les pays asiatiques, illustrant une prévalence estimée à 9,8 % qui atteint 14 % chez les femmes enceintes et indiquant l'émergence alarmante de souches résistantes aux antibiotiques sur le continent (Alhazmi *et al.*, 2023). En particulier dans la région d'Asie-Pacifique, les IVU sont associées à une morbidité et une mortalité importante, en particulier dans les hôpitaux, et entraînent un fardeau financier

estimé annuellement à un milliard de dollars américains (Hsueh *et al.*, 2011). Ces infections sont présentes aussi en Arabie Saoudite, où elles représentent 10 % des consultations, constituant la deuxième cause d'admission aux urgences dans le pays (Almutawif & Eid, 2023).

2.5. En Océanie

En Océanie, en 1994, 1 203 enfants ont été admis pour IVU en Nouvelle-Galles du Sud, pour un coût estimé à 6 millions de dollars australiens. Aussi, 46 230 procédures d'imagerie rénale non hospitalisées ont été réalisées chez des enfants de moins de 15 ans atteints d'IVU pour un coût de 53 millions de dollars australiens (Craig *et al.*, 1997). Depuis 1981, l'incidence annuelle des infections des voies urinaires nécessitant une hospitalisation a augmenté et est passé de 0,5 % à 0,9 % pour 1 000 enfants, en grande partie à cause d'une augmentation du nombre de jeunes enfants admis de 0,6 à 2,0 pour 1 000 enfants de moins de 5 ans. Entre 2015 et 2016, les IVU constituaient 1,2 % des consultations de médecins généralistes en Australie et représentaient à ce titre le cinquième problème le plus fréquemment pris en charge. (Britt *et al.*, 2016).

2.6. En Afrique

En Afrique, particulièrement en Afrique subsaharienne la prévalence globale des IVU est de 32,12 % dont le principal agent étiologique est *Escherichia coli* avec une fréquence d'isolement de 86,4 % (Mwang'onde & Mchami, 2022). Par ailleurs, cette prévalence varie d'un pays à l'autre et d'une situation géographique à l'autre. Ainsi, l'Afrique du Sud se classant en tête des pays les plus affectés (67,6 %) ; suivi du Nigéria (43,65 %) ; de la Zambie (38,25 %) ; de l'Ouganda (35,66%) ; de l'Éthiopie (37,47 %) ; de la Tanzanie (23,7 %) ; du Ghana (19,2 %) ; du Kenya (18,53 %) et du Sénégal (5,1 %), (Mwang'onde & Mchami 2022).

2.7. En Côte d'Ivoire

En Côte d'Ivoire, la prévalence globale des IVU n'est pas connue. Néanmoins Kouassi-M'Bengue *et al.* (2008) ont rapporté une prévalence de 18 % des IVU chez les nouveau-nés à Abidjan. Amorissani *et al.* (2006) ont révélé dans une étude réalisée au Centre Hospitalier Universitaire de Cocody que l'IVU représentait 18,9 % des infections néonatales et sa fréquence parmi les nouveau-nés reçus étaient de 7,7 % avec une prédominance masculine (sex ratio = 1,4). Ces auteurs ont montré que les IVU chez les nouveau-nés étaient dues aux bactéries *Escherichia coli* (23,5 %), *Klebsiella sp.* (20,58 %), *Enterobacter sp.* (20,59 %) *Levinea sp.* (8,82 %), *Staphylococcus aureus* (11,76 %), *Staphylococcus coagulase négative* (11,76 %) et

Enterococcus faecalis (2,95%). Selon une étude menée à l'unité de néphrologie pédiatrique du CHU de Yopougon, le syndrome néphrotique de l'enfant représente 25 % de l'activité de consultation et 33 % de l'activité hospitalière (Amorissani *et al.*, 2006).

3. DIAGNOSTIC DES IVU

3.1. Diagnostic clinique

Les IVU peuvent être difficiles à diagnostiquer cliniquement car elles peuvent se présenter différemment selon les sous-groupes, et les tests couramment utilisés en cabinet et en Laboratoire peuvent confondre davantage le tableau. Le diagnostic clinique des IVU est essentiellement basé sur les antécédents médicaux qui peuvent soit augmenter ou diminuer la probabilité de ces affections. Ainsi, les facteurs tels que la dysurie, la pollakiurie, la nycturie l'incontinence urinaire présente ou accrue, la macro-hématurie, l'urine trouble ou malodorante, la douleur sus-pubienne, les infections antérieures des voies urinaires ainsi que l'irritation vaginale ont été établis comme signes évocateurs des IVU (Bent *et al.*, 2002).

3.2. Diagnostic bactériologique (ECBU)

Le diagnostic des IVU repose sur l'Examen Cytobactériologique des Urines (ECBU) qui permet de confirmer l'infection par l'isolement, l'identification de l'agent responsable et la réalisation d'un antibiogramme. L'ECBU permet de clarifier les signes inflammatoires de l'arbre urinaire à travers la mise en évidence et la quantification des leucocytes (leucocyturie) et des microorganismes responsables (bactériurie ou candidurie).

Cependant, la réalisation de cet examen nécessite des mesures drastiques et des principes fondamentaux pour une meilleure interprétation des résultats qui sont entre autres les conditions de prélèvement, de conservation et de transport des échantillons. Alors, les conditions de prélèvement, de conservation et de transport défectueuses peuvent modifier considérablement la nature et le niveau de la bactériurie aussi bien que la leucocyturie puis gêner l'interprétation des résultats. De nombreux laboratoires définissent comme seuil 10^5 unités formant colonie (UFC)/mL d'urine. Cependant, ce seuil passe à côté de nombreuses infections pertinentes. Il existe donc d'autres recommandations qui recommandent le diagnostic d'infection urinaire à partir d'une numération de 10^3 UFC/mL, en fonction des types de bactéries détectées (Schmiemann *et al.*, 2010).

3.2.1. Conditions de prélèvement, de conservation, de transport et d'analyse des échantillons urinaires

Le prélèvement consiste à recueillir l'urine vésicale, normalement stérile en évitant sa contamination lors de la miction par la flore commensale qui colonise l'urètre et la région périnéale. On prélève de préférence les urines du matin ou des urines ayant séjourné au moins 3 heures dans la vessie. Alors, les méthodes de prélèvement utilisées sont adaptées aux circonstances et aux patients. Chez un patient non sondé la méthode la plus classique consiste, après une toilette locale des organes génitaux externes, à prélever 20 à 30 mL du second jet d'urines dans un pot de prélèvement stérile après élimination du premier jet. La toilette locale est effectuée avec un antiseptique ou plus simplement avec de l'eau savonneuse suivie d'un rinçage à l'eau. Chez une femme qui présente des pertes, l'utilisation d'une protection vaginale est essentielle. Chez le nourrisson, l'usage de poche plastique stérile appliquée sur la peau soigneusement nettoyée est conseillé. Chez le sujet incontinent ou handicapé, le recueil par sondage urinaire à l'aide d'une sonde de petit calibre n'est acceptable que chez la femme si le recueil des urines lors de la miction est impossible. Toutefois cette manœuvre est à éviter chez l'homme car pourvoyeuse de prostatites. Le recueil par collecteur pénien, voire par cathétérisme sus-pubien en cas de rétention d'urine est préférable chez l'homme incontinent ou handicapé. Chez le patient porteur de sonde urinaire, il faut éviter de prélever dans le sac collecteur, et de rompre le caractère clos du système en déconnectant la sonde du sac collecteur pour prélever les urines. Le recueil se fera par ponction directe dans la paroi de la sonde après désinfection. Les urines recueillies doivent être acheminées rapidement au laboratoire. Elles ne doivent jamais être conservées plus de deux (2) heures à température ambiante avant la mise en culture pour éviter une multiplication bactérienne dont la rapidité varie avec la nature du micro-organisme (Cavallo & Garrabé., 2002). Néanmoins, elles peuvent être conservées à +4°C pendant au moins 24 h sans modification de la bactériurie (Cavallo & Garrabé., 2002). Entre 3 et 4 heures de temps après le prélèvement on observe une différence de croissance logarithmique des microorganismes dans les urines laissées à 22 °C et les urines placées à + 4 °C. Au-delà de 12 h à + 4 °C, la bactériurie ne sera pas modifiée, mais les leucocytes peuvent s'altérer et se grouper en amas. Il existe des systèmes de transport stabilisateurs utilisant l'acide borique et en conditionnement stérile unitaire qui permettent une conservation de l'urine jusqu'à 24 à 48 h à température ambiante sans modification notable de la bactériurie et de la leucocyturie (Cavallo & Garrabé, 2002).

L'analyse cytot bacté riologique inclut des procédures standard, telles que l'observation directe au microscope après préparation à l'état frais et la réalisation de la coloration de Gram, pour une première évaluation des caractéristiques morphologiques des éventuels micro-organismes présents. Suite à une étape de préparation pré-analytique minutieuse, les échantillons sont cultivés sur des milieux sélectifs et incubés durant une période de 18 à 24 heures, favorisant la croissance spécifique des agents pathogènes urinaires. Les cultures positives font l'objet de tests complémentaires incluant l'identification morphologique, biochimique et antigénique des bactéries, afin d'établir un diagnostic précis et guider les options thérapeutiques.

3.2.2. Identification des bactéries dans les urines

3.2.2.1. Identification des caractères morphologiques (Coloration de Gram)

La technique de coloration de Gram est une méthode de coloration différentielle qui vise à distinguer les bactéries selon les propriétés physico-chimiques de leur paroi cellulaire. Le processus débute par la préparation d'un frottis à partir de colonies bactériennes fraîchement cultivées pendant 18 à 24 heures. Le frottis est séché et fixé pour l'analyse. La coloration débute par l'ajout du violet de gentiane sur le frottis. Après une minute le frottis est rincé à l'eau. La lame est ensuite couverte de lugol avant d'être décolorée avec de l'alcool à 90° pendant trente secondes, permettant ainsi de différencier les bactéries à Gram-positives des Gram-négatives. Le frottis est finalement contre-coloré avec de la safranine pendant trente secondes, puis rincé une nouvelle fois et séché. L'observation des échantillons se fait au microscope optique en utilisant un objectif de puissance 100x, avec application d'huile d'immersion pour améliorer la résolution de l'image (Sultana *et al.*, 2001). Cette méthode permet une identification précise de la structure bactérienne, facilitant le diagnostic microbiologique.

3.2.2.2. Identification des caractères biochimiques

3.2.2.2.1. Portoir réduit de Le Minor pour l'identification biochimique des entérobactéries

Le Portoir réduit de Le Minor constitue une approche méthodologique essentielle pour l'identification biochimique des entérobactéries. Cette technique se fonde sur l'utilisation d'un ensemble de cinq milieux de culture distincts, à savoir les milieux Kligler-Hajna, Urée-Indole, Mannitol-Mobilité, Lysine-Fer, et Citrate de Simmons, pour examiner une gamme variée de caractéristiques biochimiques. Pour la réalisation de ce test, chaque milieu est soigneusement ensemencé puis incubé à 37 °C pour une durée de 18 à 24 heures, permettant ainsi l'évaluation

de divers métabolismes bactériens. Ces milieux de culture permettent de mettre en évidence des réactions biochimiques clés, telles que la fermentation du glucose (Glu), du lactose (Lac), et du mannitol, la production de gaz (Gaz) et d'hydrogène sulfuré (H_2S), l'activité de l'uréase (Ur) et de l'indole (Ind), ainsi que la capacité d'utiliser le citrate comme unique source de carbone, et l'activité des enzymes lysine décarboxylase et lysine désaminase. La combinaison de ces tests fournit une signature biochimique distincte pour chaque souche d'entérobactérie étudiée, facilitant ainsi leur identification précise et la compréhension des mécanismes métaboliques spécifiques (Yao, 2018).

3.2.2.2.2. Test de catalase

Le test de catalase est un indicateur biochimique crucial pour la classification et l'identification bactérienne permettant de distinguer efficacement les familles *Staphylococcaceae* et *Micrococcaceae*, qui sont catalase-positives, et *Streptococcaceae*, catalase-négative. Ce critère de différenciation ne s'arrête pas aux genres, mais s'étend également à la discrimination entre espèces au sein d'un même genre, telles que *Aerococcus urinae* (catalase-positive) et *Aerococcus viridians* (catalase-négative), ainsi qu'entre certains organismes Gram-négatifs comme *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, et *Campylobacter coli* (toutes catalase-positives) par rapport à d'autres espèces de *Campylobacter* catalase-négatives. Le test est d'autant plus pertinent pour distinguer les bactéries aérobies des anaérobies obligatoires, ces dernières étant habituellement dépourvues de catalase. Il aide également à identifier les souches aérotolérantes de *Clostridium* (catalase-négative) par rapport aux espèces de *Bacillus* (catalase-positive), soulignant ainsi l'importance de la catalase dans la tolérance à l'oxygène.

La procédure du test de catalase est simple mais informative : elle consiste à déposer une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) sur une colonie bactérienne isolée. La présence de bulles d'oxygène résultant de la décomposition de l'eau oxygénée en eau et oxygène signale une réaction positive, indiquant la présence de l'enzyme catalase. À l'inverse, l'absence de bulles traduit une réaction négative. Cette méthode fournit un moyen rapide et fiable d'orienter le diagnostic microbiologique et la classification taxonomique des bactéries (Abdelali, 2016).

3.2.2.2.3. Test d'oxydase

Le test d'oxydase constitue une méthode essentielle dans le processus d'identification microbiologique, basée sur la capacité de certaines bactéries à produire de l'oxydase, une

enzyme impliquée dans la chaîne respiratoire. Cette technique repose sur l'utilisation d'un disque imprégné de réactif d'oxydase, qui est ensuite mis en contact avec un échantillon de colonies bactériennes. La réaction d'oxydation catalysée par l'enzyme entraîne un changement de couleur du réactif vers des teintes violettes ou mauves, signe d'un résultat positif, indiquant ainsi la présence de l'enzyme oxydase. À l'inverse, l'absence de changement de couleur indique un résultat négatif, signifiant que les bactéries testées ne produisent pas cette enzyme spécifique. Le test d'oxydase joue un rôle crucial dans le distinguo entre différentes familles et genres bactériens, notamment pour identifier les bactéries aérobies strictes possédant le complexe cytochrome C oxydase. Il est particulièrement utile pour la discrimination entre les genres *Neisseria* et *Pseudomonas* (oxydase positives) et d'autres bactéries à Gram-négatives (oxydase négatives). En fournissant une indication rapide sur la présence de l'enzyme oxydase, ce test facilite le processus de diagnostic microbiologique et contribue à l'orientation des étapes subséquentes d'identification (Delarras, 2007).

3.2.2.2.4. Test de la DNase

Le test de la DNase repose sur l'évaluation de la capacité d'isolats bactériens à produire l'enzyme DNase, qui dégrade l'ADN. Pour ce faire, les isolats sous investigation ainsi que deux souches témoins - une positive, capable de produire la DNase, et une négative, incapable de le faire - sont mis en culture sur un milieu contenant de l'ADN, généralement sous forme de gélose, par application de stries courts. Après une période d'incubation de 18 à 24 heures à 37 °C, les plaques de Petri sont traitées avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 5 %. Cette étape est cruciale car l'HCl réagit avec l'ADN non dégradé, causant sa précipitation et, par conséquent, l'opacification du milieu autour des colonies qui n'ont pas produit de DNase. La présence d'une zone claire autour des colonies d'intérêt indique la dégradation de l'ADN, donc une activité DNase positive. Cette zone d'éclaircissement résulte de l'absence d'ADN précipité, l'enzyme ayant dégradé l'ADN présent dans le milieu. À l'inverse, l'absence de cette zone claire autour des colonies témoigne d'une activité DNase négative, l'ADN polymérisé ayant été précipité par l'acide chlorhydrique, rendant le milieu opaque. Le test de la DNase est particulièrement utile pour distinguer entre les espèces bactériennes basées sur leur capacité à produire ou non cette enzyme spécifique. Cette méthode offre un moyen simple et efficace d'identifier certaines bactéries pathogènes, notamment celles capables de causer la lyse des cellules hôtes via la dégradation de leur ADN (Kateete *et al.*, 2010).

3.2.2.2.5. Identification des champignons dans les urines

Pour la détection des agents fongiques, tels que les espèces de *Candida*, l'approche adoptée est le test de blastèse, également connu sous le nom de test de formation de tubes germinatifs. Cette méthode implique l'incubation des colonies fongiques isolées dans 1 mL de sérum humain ou animal, à une température de 37°C pendant une durée de 3 heures. Le principe du test repose sur la capacité de certaines espèces de *Candida* à former un tube germinatif en présence de sérum, un prolongement cellulaire qui n'apparaît pas dans des conditions normales de culture. La présence de tubes germinatifs est un indicateur fiable de la croissance de *Candida albicans*, permettant ainsi une identification rapide et spécifique de cette souche pathogène. Ces techniques, combinant l'observation microscopique et les tests de culture spécifiques, offrent une approche complète pour l'identification des champignons pathogènes présents dans les échantillons biologiques. Elles contribuent de manière significative au diagnostic et à la gestion des infections fongiques (Bartels *et al.*, 1969).

3.2.2.2.6. Antibiotogramme et recherche de la production de β -lactamases à spectre élargi

A partir d'une culture de 24 h des souches à tester, une suspension bactérienne est préparée dans une solution de NaCl (0,85 %) de volume 2 mL pour atteindre une turbidité équivalente à celle du standard 0,5 de la gamme Mc Farland. La densité de l'inoculum est ajustée à l'aide d'un densitomètre. Ensuite, une inoculation de la gélose Mueller Hinton (MH) est réalisée suivie du dépôt des disques imprégnés d'antibiotiques. Après une incubation à 37°C pendant 18 à 24 h, la lecture est effectuée puis les résultats sont interprétés selon les indications du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie EUCAST/CASFM. La recherche de la production de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries est effectuée par l'observation des images en forme de bouchon de champagne ou d'entonnoir autour des disques d'antibiotiques d'amoxicilline-acide-clavulanique, de cefotaxime, de ceftriaxone et d'aztréonam disposés sur la gélose Müeller-Hinton préalablementensemencée (Bakour *et al.*, 2014). La figure 2 illustre la production de BLSE chez *Escherichia coli*.

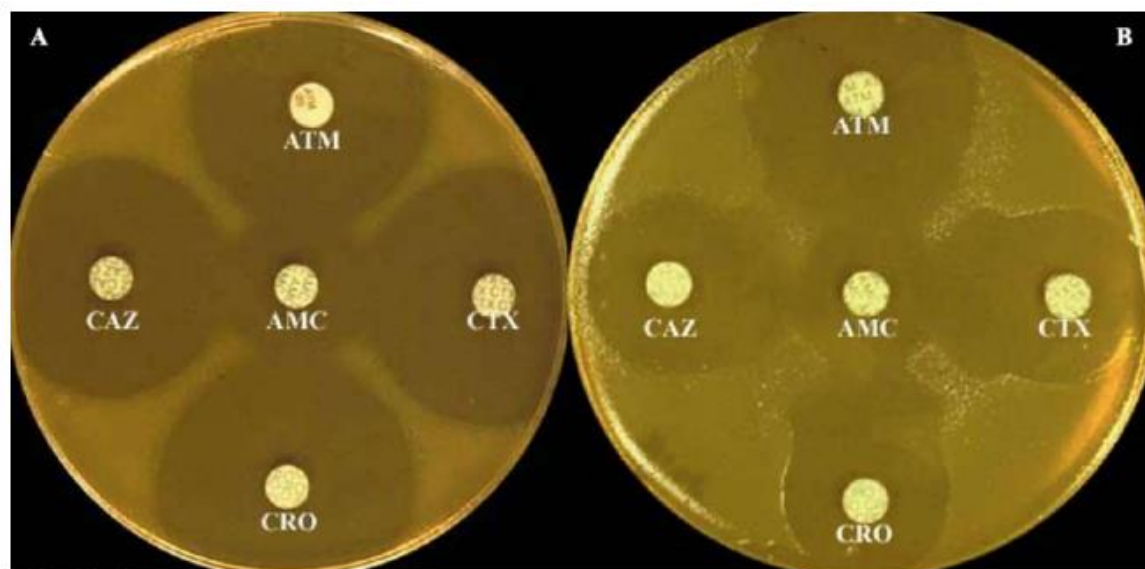


Figure 2 : BLSE chez *Escherichia coli* : Test de synergie par la méthode de diffusion ou disques. A/ souche sensible B/ souche productrice de BLSE (Philippon *et al.*, 2022)

3.3. Diagnostic moléculaire des IVU

Bien que la culture traditionnelle de l'urine soit considérée comme le test par excellence pour la détection et l'identification des pathogènes urinaires, les méthodes moléculaires tels que la PCR et le NGS ont suscité un intérêt dans le diagnostic des IVU. La résistance aux antimicrobiens devenant à la fois plus courante et plus complexe, le traitement efficace des infections urinaires dépend encore plus de l'identification précise des agents pathogènes. La culture de certains organismes peut être fastidieuse et difficile et peut nécessiter deux jours ou plus. Alors que, les résultats de la PCR peuvent être obtenus en un jour ou moins. Des études ont montré que la PCR avait une sensibilité et une spécificité supérieures. Ces travaux ont permis de recommander la PCR pour l'identification rapide des agents pathogènes en cas de septicémie. L'étude de Wojno *et al.* (2020), en est une parfaite illustration. En effet, ces auteurs ont dans une étude comparée de la culture urinaire et du diagnostic par PCR réalisée sur 582 patients observé que la PCR a détecté des uropathogènes chez 326 patients (56 %, 326/582), tandis que la culture d'urine a détecté des pathogènes chez 217 patients (37 %, 217/582). Cette étude a révélé aussi que la PCR et la culture ont concordé dans 74 % des cas (431/582). Elles étaient toutes deux positives dans 34 % des cas (196/582) et toutes deux négatives dans 40 % des cas (235/582). Cependant, la PCR et la culture n'étaient pas d'accord dans 26 % des cas (151/582). La PCR était positive alors que la culture était négative dans 22 % des cas (130/582), et la culture était positive alors que la PCR était négative dans 4 % des cas (21/582). Des

infections polymicrobiennes ont été signalées chez 175 patients (30 %, 175/582), dont 166 par PCR et 39 par culture. En outre, des infections polymicrobiennes ont été identifiées chez 67 patients (12 %, 67/582) pour lesquels les résultats de la culture étaient négatifs.

4. LES MICROORGANISMES IMPLIQUÉS DANS LES IVU

Les micro-organismes pathogènes de l'IVU sont variés, avec des changements significatifs d'une année à l'autre et des différences selon les pays ou les régions (Behzadi *et al.*, 2015). La plupart des IVU est causée par des bactéries, dont les plus courantes appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (Flores-Mireles *et al.*, 2015). Les espèces de *Escherichia coli* uropathogènes (ECUP) constituent un groupe hétérogène de *Escherichia coli* pathogènes extra-intestinaux (ECPEX) qui semblent provenir de l'intestin et peuvent être disséminés par voie orale-fécale, par des produits alimentaires contaminés et par contact sexuel (Dhakal *et al.*, 2008). À ce jour, sept phylogroupes majeurs de *Escherichia coli* ont été identifiés (A, B1, B2, C, D, E et F) sur la base des propriétés phénotypiques et génotypiques. Il a été démontré que les souches ECUP appartiennent principalement aux groupes phylogénétiques B2 et D (Clermont *et al.*, 2013). Les souches ECUP, en tant que cause la plus répandue d'infections urinaires, représentent environ 80 % des infections urinaires non compliquées, 95 % des infections nosocomiales, ainsi que la moitié des infections nosocomiales (Kucheria *et al.*, 2005 ; Dhakal *et al.*, 2008 ; Foxman, 2010). Dans les différentes études menées sur les uropathogènes collectés auprès de patients hospitalisés et ambulatoires, il a été constaté que les isolats UPEC étaient les bactéries les plus courantes chez les patients atteints d'IVU (Tabasi *et al.*, 2016).

4.1. Prévalence des microorganismes impliqués dans les IVU

Selon des études antérieures, les infections urinaires représentent environ 40 % de toutes les infections contractées à l'hôpital et 50 % des bactériémies qui peuvent prolonger l'hospitalisation et augmenter le taux de morbidité et de mortalité des patients (Mathai *et al.*, 2001; Saint *et al.*, 2008). Mais, plusieurs autres études suggèrent que les bacilles à Gram négatif, surtout la famille des *Enterobacteriaceae*, sont les micro-organismes les plus courants dans l'apparition des IVU. Entre-temps, *Escherichia coli* est à l'origine de plus de 81% des cas d'IVU (Cybulski *et al.*, 2013 ; Jalilian *et al.*, 2014) par la suite, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* et *Enterococci* ont été identifiés comme étant les causes des IVU (Mortazavi-Tabatabaei *et al.*, 2019).

4.2. Traitement des IVU

Malgré la disponibilité de plusieurs lignes directrices internationales pour la prise en charge médicamenteuse des IVU, les caractéristiques cliniques, l'étiologie et les schémas de sensibilité aux antimicrobiens différant d'un pays à l'autre rendent difficile le choix des antibiotiques. Les lignes directrices actuellement pour la prise en charge médicamenteuse des IVU aiguës non compliquées en Europe et en Amérique du Nord varient en raison des différences d'étiologie et de sensibilité aux antimicrobiens entre ces régions (Kang *et al.*, 2018). Ainsi les lignes directrices récemment mises à jour par la Société Américaine des Maladies Infectieuses (IDSA) et la Société Européenne de Microbiologie et des Maladies Infectieuses (ESCMID), publiées en 2011, soulignent l'importance de prendre en compte l'impact des organismes résistants associés à l'utilisation d'agents antimicrobiens (Gupta *et al.*, 2011). Une fois qu'il est déterminé que le patient souffre d'une infection urinaire et si celle-ci est compatible avec une cystite ou une pyélonéphrite compliquée ou non, un antibiotique peut alors être sélectionné (Gupta *et al.*, 2011). Toutefois, il est impératif de connaître les bactéries responsables de l'infection et les schémas locaux de sensibilité lorsqu'on envisage un antibiothérapie (Bader *et al.*, 2017). La société Américaine de maladies infectieuses (IDSA) en collaboration avec la Société Européenne de Microbiologie et des Maladies Infectieuses ont établi des lignes directrices en matière de traitement pour les femmes non enceintes et préménopausées atteintes de cystite non compliquée, en l'absence d'autres conditions comorbides et d'anomalies urologiques (Gupta *et al.*, 2011). Par ailleurs, ces lignes directrices recommandent qu'en raison de la résistance aux fluoroquinolones, répandue chez de nombreuses souches de *Escherichia coli*, les fluoroquinolones ne doivent pas être utilisées pour le traitement empirique des IVUC. Pour les IVU inférieurs et non compliqués, la nitrofurantoïne ou la Fosfomycine et le Cotrimoxazole (Triméthoprime/Sulfaméthoxazole) peuvent toujours être utilisés de manière empirique. Les IVUC graves doivent être traitées de manière empirique avec des antibiotiques à large spectre, tels que les carbapénèmes ou la Pipéracilline-Tazobactam. Une fois que les bactéries spécifiques et leur sensibilité sont connues, le traitement doit être ajusté (Bader *et al.*, 2010). Étant donné que la disponibilité de lignes directrices sur les infections urinaires n'entraîne pas à elle seule une amélioration des résultats du traitement des IVU, des méthodes plus intensives ont été utilisées pour améliorer le respect des lignes directrices (Davey *et al.*, 2017). Ces méthodes incluent l'utilisation de l'audit et du feedback, ou l'utilisation de méthodes de diffusion de lignes directrices actives ou multifformes telles que des sessions et des séminaires de formation médicale continue.

4. 3. Mécanisme d'action des antibiotiques

4.3.1. Mécanisme d'action des β -lactamines

Les β -lactamines se fixent sur des protéines cibles (les Protéines liant les Pénicillines) après avoir traversé la paroi bactérienne. Ces Protéines liant les Pénicillines sont impliquées dans la synthèse et le remodelage du peptidoglycane, constituant principal de la paroi bactérienne. La fixation des β -lactamines sur les Protéines liant les Pénicillines est facilitée du fait que les β -lactamines présentent une analogie structurale entre le noyau β -lactame et le dipeptide terminal D-alanyl-D-alanine, du pentapeptide constitutif du peptidoglycane (Stratton, 2000). La fixation des β -lactamines sur les Protéines liant les Pénicillines bloque le fonctionnement de ces enzymes. Ainsi, l'inactivation des transpeptidases déclenche un ensemble de réaction qui aboutit à l'inactivation des inhibiteurs des autolysines bactériennes qui dégrade le peptidoglycane, entraînant finalement la lyse bactérienne et l'effet d'auto-suicide (Stratton, 2000).

4.3.2. Mécanisme d'action des aminosides

Les aminosides agissent en 3 étapes. La première étape consiste à la traversée de la membrane externe et du peptidoglycane via les porines par les aminosides en se concentrant au niveau de la membrane cytoplasmique (Changeur & Cherruault, 2009). Ensuite, la production d'énergie par des métabolismes oxydatifs pour le transport des aminosides (Bryskier, 1999). Enfin, les aminosides se fixent sur le ribosome spécifiquement au site A de l'ARN ribosomal 16S qui compose le ribosome bactérien 30S et provoquent la fixation d'un ARN transfert incorrect sur l'ARN messager qui induit la synthèse de protéines erronées (Touati, 2013)

4.3.3. Mécanisme d'action des fluoroquinolones

Les fluoroquinolones ont pour principales cibles l'ADN gyrase ou topoisomérase II et la topoisomérase IV (Muylaert & Mainil, 2013). Ils interagissent avec le complexe ADN-enzyme (l'ADN gyrase liée à ADN bactérien ou avec la topoisomérase IV liée à l'ADN bactérien) en créant des changements de conformation qui aboutissent à l'inhibition de l'activité enzymatique. Ainsi, le nouveau complexe fluoroquinolone-enzyme-ADN formé bloque la progression de la fourche de réplication inhibant ainsi la synthèse normale de l'ADN (Cambau & Guillard, 2012).

4.3.4. Mécanisme d'action de la rifampicine

L'action de la rifampicine se traduit par un blocage transcriptionnel. Elle se lie de à la sous-unité bêta de l'ARN polymérase codée par le gène *rpoB* (Xu *et al.*, 2005). Ainsi, cette liaison inhibe l'initiation de la transcription de l'ADN bactérien et la formation de l'ensemble des ARN (ARN messagers, des ARN de transferts et des ARN ribosomiaux).

4.4. Résistance aux antibiotiques des microorganismes impliqués dans les IVU

La résistance aux antibiotiques des microorganismes responsables des infections des voies urinaires (IVU) est une préoccupation croissante en médecine (Tableau I). Les études récentes indiquent que la résistance aux agents antimicrobiens couramment utilisés, tels que l'ampicilline et la nitrofurantoïne, est très élevée (Paul, 2018). Une étude de 2019 a révélé que plus de 92 % des bactéries causant les IVU sont résistantes à au moins un antibiotique courant (Ahmed *et al.*, 2019). Cette résistance est souvent constatée contre les antibiotiques les plus couramment utilisés. Par exemple, une fréquence élevée de résistance a été observée pour des antibiotiques comme le cotrimoxazole, la ciprofloxacine, le cefuroxime, la cephadrine et l'amoxicilline, avec des taux de résistance variant de 66,67 % à 93,75 % (Ahmed *et al.*, 2019). De plus, il a été constaté que plus de 85 % des UPEC (*Escherichia coli* uropathogène) et des *Enterobacteriaceae* et *Staphylococci* sont résistants aux antibiotiques couramment utilisés comme l'ampicilline et l'amoxicilline (Du *et al.*, 2023). Cette tendance à la résistance croissante souligne la nécessité d'une approche plus prudente dans la prescription d'antibiotiques et l'importance de développer de nouvelles stratégies de traitement pour lutter efficacement contre les IVU.

GÉNÉRALITÉS

Tableau I : Gènes de résistance connus de quelques pathogènes urinaires

Espèce bactérienne	Gènes de résistance connus
<i>Escherichia coli</i>	bla_TEM, bla_SHV, bla_CTX-M, mcr-1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	bla_KPC, bla_NDM, bla_OXA-48
<i>Proteus mirabilis</i>	bla_TEM, bla_SHV, qnr
<i>Citrobacter spp.</i>	bla_CMY, bla_DHA, qnr
<i>Enterobacter spp.</i>	bla_ACT, bla_CMY, bla_SHV
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	mexA, mexB, mexC, mexD, mexE
<i>Acinetobacter baumannii</i>	bla_OXA-23, bla_OXA-24/40, bla_OXA-58
<i>Staphylococcus aureus</i>	mecA (MRSA), vanA, vanB (VRSA)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	mecA, vanA
<i>Streptococcus spp.</i>	ermB, mefA, penA
<i>Enterococcus faecalis</i>	vanA, vanB, vanC, vanD, vanE, vanG
<i>Bacillus spp.</i>	tet, erm, van, mec

bla_TEM: Code pour une bêta-lactamase, conférant une résistance aux pénicillines ; bla_SHV: Un autre gène de bêta-lactamase, similaire à bla_TEM ; bla_CTX-M: Produit une bêta-lactamase à spectre étendu, conférant une résistance aux céphalosporines ; mcr-1: Confère une résistance à la colistine, un antibiotique de dernier recours ; bla_KPC: Code pour une carbapénémase, rendant la bactérie résistante aux carbapénèmes ; bla_NDM: Un autre gène de carbapénémase ; bla_OXA-48: Produit une enzyme dégradant les carbapénèmes. bla_TEM, bla_SHV: Comme pour *Escherichia coli* ; qnr: Confère une résistance aux quinolones ; bla_CMY, bla_DHA: Gènes codant pour des bêta-lactamases ; qnr: Résistance aux quinolones ; bla_ACT, bla_CMY, bla_SHV: Gènes de bêta-lactamases ; mexA, mexB, mexC, mexD, mexE: Gènes impliqués dans les pompes d'efflux, réduisant la concentration intracellulaire des antibiotiques ; bla_OXA-23, bla_OXA-24/40, bla_OXA-58: Gènes codant pour des enzymes hydrolysant les carbapénèmes ; mecA (MRSA): Confère une résistance à la méthicilline ; vanA, vanB (VRSA): Résistance aux glycopeptides comme la vancomycine ; ermB: Résistance aux macrolides ; mefA: Résistance aux macrolides ; penA: Résistance à la pénicilline ; vanA, vanB, vanC, vanD, vanE, vanG: Gènes de résistance aux glycopeptides comme la vancomycine ; tet: Résistance aux tétracyclines ; erm: Résistance aux macrolides.

4.5. Virulence des microorganismes impliqués dans les IVU

La virulence des souches uropathogènes est un aspect crucial dans l'étude des infections des voies urinaires (IVU). Un large éventail de facteurs de virulence sont impliqués dans la pathogénicité des agents uropathogènes, ce qui complique la prise en charge de ces infections complexes (Hozzari *et al.*, 2020 ; Ahmadi *et al.*, 2022). Une étude de Maris (2016) évaluant la diversité des facteurs de virulence parmi différentes souches de *Escherichia coli*, a mené à la découverte de nouveaux clones pathogènes. En outre, des travaux ont identifié la présence de souches de *Escherichia coli* productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE), un facteur (enzyme) qui contribue à la résistance aux antibiotiques et augmente potentiellement leur virulence (Bettcher *et al.*, 2021). Ces découvertes soulignent l'importance de comprendre la virulence des souches uropathogènes pour développer de meilleures stratégies de prévention et de traitement des IVU, en tenant compte de leur capacité à résister aux traitements et à provoquer des infections sévères.

Les facteurs de virulence d'importance reconnue dans la pathogenèse des IVU comprennent les adhésines (P fimbriae, certaines autres adhésines résistantes au mannose et fimbriae de type 1), le système aérobactine, l'hémolysine, la capsule K et la résistance à la destruction du sérum (Johnson, 1991). En général, plus une souche exprime des facteurs de virulence, plus elle est susceptible de provoquer une infection grave. Certains facteurs de virulence favorisent spécifiquement le développement de la pyélonéphrite, d'autres favorisent la cystite, d'autres enfin favorisent la bactériurie asymptomatique (Johnson, 1991). Les facteurs de virulence actuellement définis contribuent clairement à la virulence des souches de type sauvage, mais sont généralement insuffisants à eux seuls pour transformer un organisme avirulent en pathogène, démontrant que d'autres propriétés de virulence encore indéfinies attendent d'être découvertes. Le Tableau II présente les facteurs de virulence de quelques pathogènes urinaires.

GÉNÉRALITÉS

Tableau II : Facteurs de virulence des quelques pathogènes urinaires (Flores-Mireles *et al.*, 2015)

Uropathogène	Facteurs de virulence				
	Adhérence	Toxine	Evasion immunitaire	Acquisition de fer	Autre
UPEC	Pili F1C	HlyA	HlyA	Aerobactine	Antigène43
	Pili P	CNF1	Antigènes capsulaires	Enterobactine	Flagelle
	Pili S		CNF1	Salmochéline	
	Pili Type 1		Yersiniabactine	Yersiniabactine	
	Adhésines Dr				
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	Type 1 pili	ND	Capsule	Aerobactine	ND
	Type 3 pili			Entérobactine	
<i>Proteus mirabilis</i>		Haemolysin (HpmA and HlyA)			
	MR/P pili		Capsule	Protéobactine	Flagelle
	NAFs		ZapA	Yersiniabactine apparentée	Uréase
	PMFs				
	Adhésine AipA				
	Adhésine TaaP	Pta			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ADN extracellulaire	ND	Capsule	Pyochéline	Quorum sensing
	Exopolysaccharides (alginate, PEL et PSL)		Elastase	Pyoverdine	
			ExoS		
			Phospholipase		
			Rhamnolipides		
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Adhésine Aas	Aas	ND	ND	Uréase
	Adhésine SdrL				
	Adhésine Uaf				
<i>Enterococcus faecalis</i>	Pili Ebp	ND	Epa	ND	Sortase A
	Adhésine Ace				SigV
	Adhésine Esp				MsrA et MsrA
<i>Enterococcus faecium</i>	Pili Ebp	ND	ND	ND	ND
	Adhésine Esp				

AipA : adhésion et invasion médiées par l'autotransporteur de *Proteus* ; CNF1 : facteur nécrosant cytotoxique1 ; Ebp : associé à l'endocardite et au biofilm ; Epa: antigène polysaccharidique entéroccocque ; Esp: protéine de surface entéroccocque ; ExoS: exoenzyme S ; F1C pili : pili du groupe immunologique C de type 1 ; HlyA: α -hémolysine ; HpmA : hémolysine ; MR/P: *Proteus*-like résistant au mannose ; Msr: méthionine sulfoxyde réductase ; NAF : fimbria non agglutinant ; ND: non déterminé ; PMF : fimbria de type P. *mirabilis* ; P pili : pili associé à la pyélonéphrite ; Pta: agglutinine toxique de *Proteus* ; TaaP : autotransporteur d'autoagglutinine trimérique de *Proteus* ; UPEC : *Escherichia coli* uropathogène

5. APPORT DU SÉQUENÇAGE NOUVELLE GÉNÉRATION (NGS) EN ÉPIDÉMIOLOGIE BACTÉRIENNE

5.1. Principes généraux du séquençage

La notion de séquençage haut-débit est apparue en 2000 avec la 1^{ère} génération. Les avancées en séquençage génomique ont révolutionné la compréhension du génome humain et d'autres organismes. La méthode de séquençage de Sanger, longtemps la plus utilisée, a permis le séquençage de divers génomes, y compris celui de l'être humain, marquant une avancée majeure dans la génomique (Jordan, 2021). Le séquençage d'un génome implique la détermination de la séquence nucléotidique de l'ADN présent dans chaque cellule d'un organisme, fournissant des informations détaillées sur sa composition génétique (Lamoril *et al.*, 2008). Des techniques plus récentes, comme le pyroséquençage, offrent un séquençage rapide et moins coûteux par rapport à la méthode de Sanger, ouvrant la voie à une utilisation plus large de ces technologies (Fahime & Ennaji, 2007).

Les technologies de séquençage de nouvelle génération permettent une exploration plus approfondie et plus efficace du génome, bien qu'elles soulèvent des enjeux en termes d'accès et d'étude (Mardis, 2008). Ces avancées ont des implications importantes dans divers domaines, notamment la médecine, la biologie, et la recherche génétique, permettant une compréhension plus précise des bases génétiques des maladies et ouvrant la voie à de nouvelles approches thérapeutiques. Les applications liées au séquençage haut-débit font intervenir une phase de biologie humide et une phase de biologie sèche. En Laboratoire de biologie moléculaire, la phase de biologie humide consiste à extraire et à purifier l'ADN du pathogène à séquencer. La qualité des résultats de séquençage dépend de la méthode d'extraction de l'ADN. Ainsi, différentes méthodes de lyses cellulaires utilisées régulièrement sont : la lyse mécanique par sonication ou par broyage à billes, la lyse chimique par détergents et la lyse enzymatique avec du lysozyme ou de la protéinase K (Di Bella *et al.*, 2013). Certains kits commerciaux sont capables d'extraire à la fois l'ARN et l'ADN des micro-organismes. Le séquençage haut-débit repose ensuite sur trois étapes successives (Figure 3).

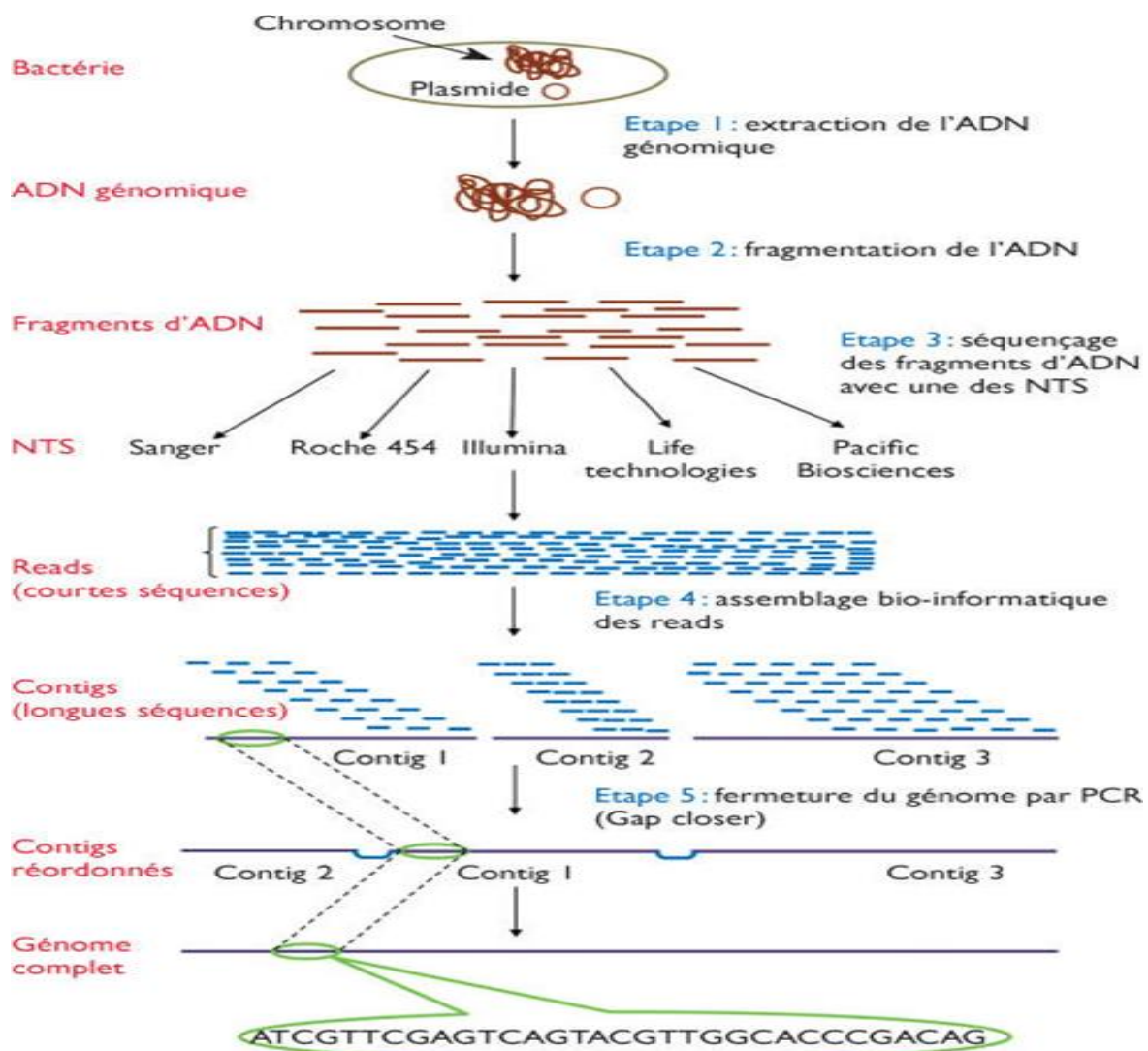


Figure 3: Différentes étapes du séquençage de l'ADN bactérien

5.2. Applications cliniques

5.2. 1. Caractérisation d'une épidémie

Mis à part l'identification de pathogènes et la détermination de la résistance aux anti-infectieux, fondamentaux pour la prise en charge des patients, les Laboratoires de microbiologie sont fréquemment confrontés à des investigations d'épidémies. L'avènement du NGS a nécessité le développement de nombreux outils bio-informatiques pour l'étude complète des génomes séquencés. L'un des apports principaux du séquençage NGS est la caractérisation des épidémies. Les méthodes de la biologie moléculaire basées sur la PCR pour la caractérisation des relations entre les agents étiologiques d'une éventuelle épidémie, dont le chef de file est

l'électrophorèse en champs pulsé, sont peu discriminantes, difficile d'interprétation et fastidieuses (Delettre, 2023). En effet, aujourd'hui, les approches génomiques de typage basées sur le séquençage de génomes complets permettent une très grande résolution avec notamment le core génome MLST, le whole genome MLST et surtout la phylogénie basée sur les SNP (Delettre, 2023).

Par conséquent, le séquençage de nouvelles générations a montré son efficacité dans la prise en charge et la détermination de la chaîne de transmission inter-individuelle permettant de remonter à la source de l'épidémie. En Europe, une épidémie de syndromes hémolytiques et urémiques causée par *Escherichia coli* sérotype O104 :H4, une souche entérohémorragique rare, productrice de Shiga-toxine a été investiguée par le séquençage de nouvelles générations en 2011 (Grad *et al.*, 2012). L'analyse des séquences des génomes entiers de plusieurs isolats provenant des foyers épidémiques allemands et français a montré que les isolats allemands forment un clade au sein des isolats plus divers de l'épidémie française (Grad *et al.*, 2012). En outre, une souche de *Chlamydia trachomatis* qui échappait à la plupart des PCR commerciales a pu être caractérisée par le séquençage de nouvelles générations en Suède. En effet, le séquençage de son génome entier a permis d'observer une délétion de 377 pb, au niveau du plasmide cryptique, une région ciblée par les PCR utilisées jusqu'alors (Unemo *et al.*, 2010). L'investigation de la pandémie à coronavirus a été aisée grâce au NGS. L'analyse phylogénétique des séquences génomiques de l'agent viral responsable de la pandémie à coronavirus a montré que ce virus était étroitement lié (96,3 % d'homologie) au coronavirus RaTG13 de la chauve-souris et a été nommé Covid-19, par l'OMS (Helmy *et al.*, 2020). Dans le domaine du cancer, l'utilisation du NGS a permis une caractérisation massive des gènes impliqués dans la maladie (Shyr *et al.*, 2013 ; Wakai *et al.*, 2019). Cet essor de "l'oncogénomique" a accru le développement de médicaments anticancéreux et la confirmation des cas (Martin-Liberal *et al.*, 2017 ; Garralda *et al.*, 2019). L'identification des marqueurs génétiques spécifiques aux tumeurs et leur corrélation avec les biomarqueurs génomiques approuvés et le résultat du traitement est un nouveau processus de diagnostic et de traitement de ces affections (Garralda *et al.*, 2019).

5.2.2. Développement d'outils de sérologie

Le séquençage génomique a permis de développer des outils de sérologie grâce à la caractérisation des protéomes (Bonhomme *et al.*, 2008 ; Kebbi-Beghdadi *et al.*, 2012). Récemment, Kebbi-Beghdadi et collaborateurs ont identifié des protéines immunogéniques et proposé un nouveau test sérologique pour diagnostiquer *Waddlia chondrophila*, une bactérie

intracellulaire apparentée aux *Chlamydia*, qui est associée à la fausse couche chez les humains et à l'avortement chez les ruminants par approche combinée de la génomique et de la protéomique sur ce pathogène (Baud *et al.*, 2011 ; Kebbi-Beghdadi *et al.*, 2012).

5.2.3. Identification de pathogènes

L'avènement du séquençage à haut débit en microbiologie clinique a ouvert la voie à de nouvelles approches diagnostiques dans le domaine des maladies infectieuses. La détection, l'identification et la caractérisation des microorganismes pathogènes constituent les étapes majeures dans le diagnostic et la mise en place d'un traitement antimicrobien approprié.

Cependant, les méthodes standards de diagnostic microbiologique sont dans certains cas confrontées à des difficultés d'interprétation. L'émergence de nouvelles infections, résultant des voyages internationaux et du réchauffement climatique, ont favorisé la mise en place de méthodes de diagnostic innovantes telles que le NGS. Le NGS en microbiologie regroupe des approches de séquençage ciblées (métataxonomie) et non ciblées (métagénomique). La métataxonomie basée sur le séquençage des marqueurs phylogénétiques tels que les régions hypervariables de l'ADN ribosomique (ADNr)16S pour les bactéries, et ITS (Internal transcribed spacers), ou ADNr 18S ou 28S pour les micromycètes ou les parasites, permet d'en analyser la composition et la diversité. Mais l'approche métataxonomique n'est pas applicable pour les virus, ceux-ci n'ayant pas de gènes « universels ». La métagénomique non ciblée, permet quant à elle de détecter, identifier et caractériser un microorganisme responsable d'une infection non documentée par des techniques classiques de microbiologie. Par ailleurs, l'approche métagénomique ne permet pas de phénotyper les microorganismes impliqués dans les infections. Par contre, l'analyse NGS permettra de mettre en évidence que le génome de l'hôte, spécialement en cas d'approche métagénomique non ciblée dans un échantillon à faible charge microbienne présentant une quantité de cellules eucaryotes importantes.

5.3.4. Détection de l'antibiorésistance

L'émergence de la résistance des microorganismes aux anti-infectieux constitue un problème majeur de santé publique ces dernières décennies. Par conséquent, cette impasse conduit à faire recours au NGS dans des situations où l'antibiogramme est difficile, voire impossible à réaliser pour orienter la prise en charge thérapeutique du patient (D'Humières *et al.*, 2021). Ces approches sont davantage utilisées par des Laboratoires de référence, en attente de kits commercialisés qui permettront d'obtenir un antibiogramme génomique d'interprétation facilitée et standardisée. Il est possible de détecter une antibiorésistance génomique en

comparant des données de séquençage du génome complet du microorganisme d'intérêt à des banques de données internationales ResFinder ou Antibiotic resistance genes database (ARDB) (D'Humières *et al.*, 2021). À l'heure actuelle, l'analyse de résistome a été proposée en bactériologie et en virologie, mais des études génomiques ont été réalisées sur la détection de la résistance d'autres micro-organismes comme *Plasmodium*, sans implications thérapeutiques directes en santé pour l'instant (Hupalo *et al.*, 2016).

5.2.5. Criblage des gènes de virulence et virulome

L'identification des gènes de virulence impliqués dans la physiopathologie d'une infection est une étape fondamentale pour suivre l'émergence de certaines pathologies. Les facteurs de virulence, y compris les toxines bactériennes ou fongiques, contribuent à la pathogénicité. Pour caractériser ces facteurs, différentes stratégies ont été développées. Ces stratégies consistent à comparer les souches isolées cliniquement à des souches de référence de la même espèce en analysant les îlots génomiques connus pour héberger des gènes de virulence sur des banques de données internationales (Šterbenc *et al.*, 2019). Plus récemment, la méthode Metagenomics Genome Phenome Association en abrégé MetaGPA a été développée pour permettre de relier l'information génétique des métagénomiques à un phénotype fonctionnel défini ou observé (Yang *et al.*, 2021). Cette méthode, qui fonctionne de manière similaire aux études d'association pangénomique (Genome wide association study, GWAS) utilisées pour identifier les gènes impliqués dans les maladies génétiques humaines, permet de trouver des gènes microbiens associés à un phénotype fonctionnel spécifique d'un échantillon donné (Yang *et al.*, 2021). Cette méthode très prometteuse pourrait être utile dans la caractérisation de virulome spécifique à des situations pathologiques en santé humaine ou animale.

DEUXIEME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. MATÉRIEL

1.1. Cadre de l'étude

L'étude a été menée au Centre Hospitalier Régional (CHR) de Daloa, le chef-lieu de la région du Haut-Sassandra. Daloa, avec une population estimée à 421 879 habitants en 2021 est la quatrième ville la plus peuplée de la Côte d'Ivoire. Il est situé au Centre-Ouest du pays et est caractérisée par une croissance démographique rapide. Cette augmentation de la population souligne l'importance croissante des besoins en soins de santé et en recherche médicale dans la région. Établi en 1961 et situé au quartier Kirmann, le CHR s'étend sur 27 hectares, dont 15 sont déjà développés. Il se distingue comme le seul établissement de santé de la région possédant un Laboratoire de Bactériologie-Virologie. Ce Laboratoire est le seul établissement public dans la région à effectuer des Examens Cytobactériologiques, ce qui en fait le centre de référence en la matière. En conséquence, le CHR de Daloa est un site stratégique pour conduire des études épidémiologiques et cliniques, bénéficiant d'un accès à une population variée et de ressources médicales adaptées. Ainsi, les recherches menées sur l'épidémiologie des infections des voies urinaires (IVU) et d'autres enjeux sanitaires au CHR de Daloa offrent des perspectives significatives sur les tendances en santé publique, les modèles de maladies, la prévalence des pathologies, et l'efficacité des traitements dans une région en pleine expansion. Ces études ont des implications importantes pour l'amélioration des soins de santé en Côte d'Ivoire, soulignant l'impact potentiel de ces travaux au-delà de la région immédiate (Figure 4).

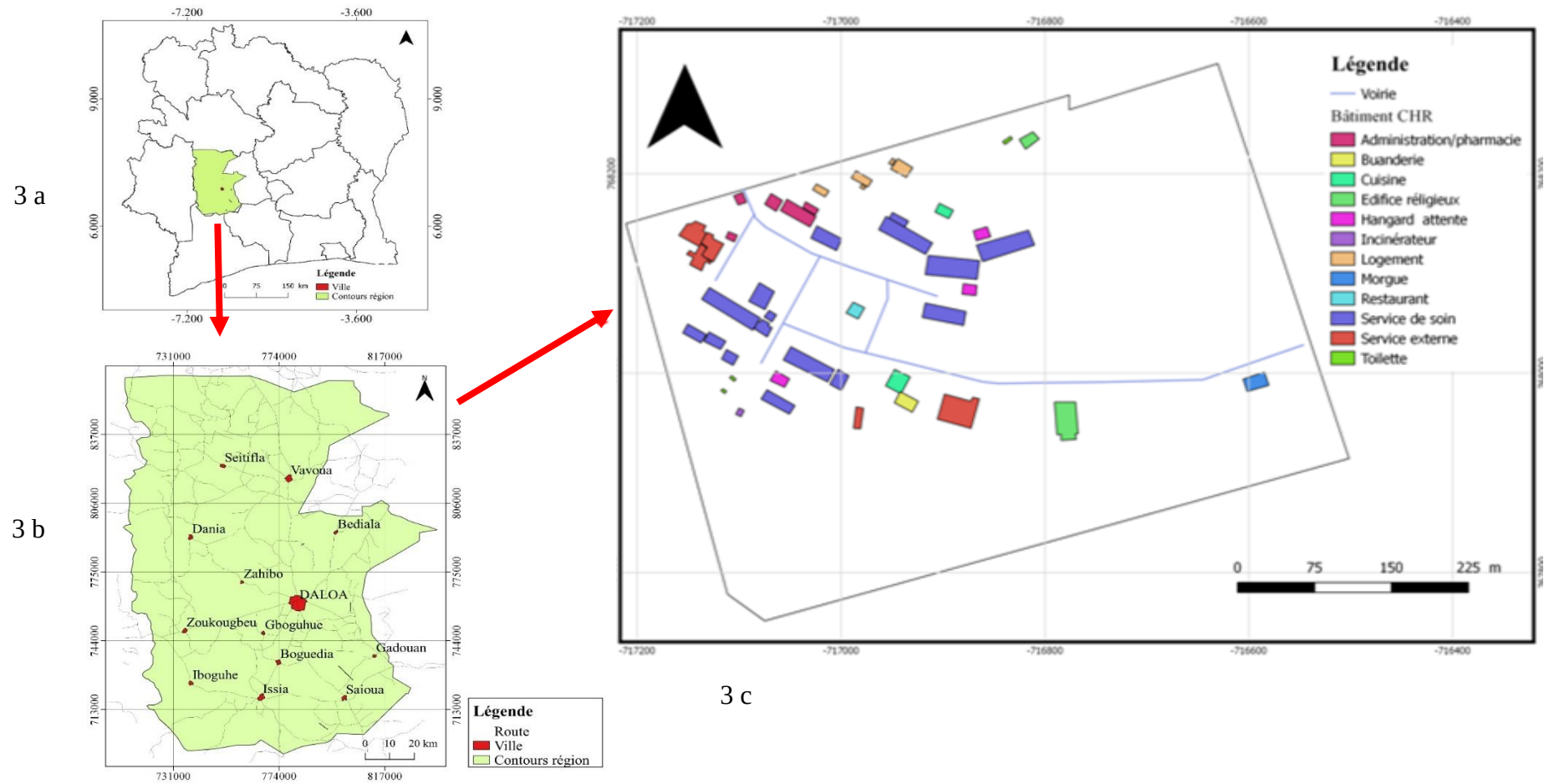


Figure 4 : Représentation graphique de la zone d'étude

1.2. Population d'étude

L'étude a porté sur les patients reçus au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa de Décembre 2019 à Janvier 2022 pour un ECBU.

1.3. Matériel biologique

Le matériel biologique était constitué des isolats bactériens issus des urines des patients atteints d'infections des voies urinaires.

1.4. Matériel technique

1.4.1. Matériel de collecte des données épidémiologiques

La collecte des données épidémiologiques a été possible grâce aux registres (bases de données électroniques), les fiches de paillasse et les fiches de conservation des isolats bactériens.

1.4.2. Matériel de collecte des isolats bactériens

Le bouillon cœur cerveau supplémenté de 5 % de glycérol, des cryotubes, un bac à glace et des accumulateurs de froid ont permis de collecter les isolats bactériens au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR pour le Laboratoire d'Agro-valorisation de l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ.

1.3.3. Matériel pour la revivification et la culture des isolats collectés

Le milieu Luria-Bertani et la gélose ordinaire ont été utilisés pour la revivification et la culture des isolats bactériens collectés au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa.

1.3.4. Appareillage

Pour la réalisation de ce travail plusieurs équipements de Laboratoire ont été utilisés. Le tableau III regorge les équipements qui ont servi à la réalisation de ce travail. Quelques photographies de ces équipements sont présentées en Annexe 1.

Tableau III : Equipement de Laboratoire utilisé

Désignation	Rôle
Thermocycleur	Amplifier les fragments d'ADN
Lecteur de gel	Observer les amplicons
Bec Bunsen	Créer les conditions aseptiques
Etuve	Incuber les différentes cultures
Balance numérique	Obtenir les différentes pesées
Autoclave	Stériliser les milieux de cultures, embouts et tubes
Bain marie	Dissoudre, régénérer les milieux de cultures
Centrifugeuse	Séparer les différentes phases des solutions
Dispositif d'électrophorèse	Faire la migration des fragments d'ADN
Réfrigérateur	Conserver des souches, des produits et réactifs à basse température

1.4. Matériel et réactifs pour la caractérisation moléculaire des souches

1.4.1. Matériel et réactifs pour l'extraction de l'ADN et l'amplification de l'ADNr 16S

Les produits qui ont servi à l'extraction de l'ADN génomique des isolats bactériens, étaient constitués de cetyltriméthylammonium Bromide (CTAB) (BioChemica), le chlorure de sodium (NaCl), l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA), le chlorure d'hydrogène (HCl), l'hydroxyde de sodium (NaOH), le tri, le chloroforme, l'isopropanol, le phénol, l'éthanol, protéinase K, ARNase et de l'eau ultra pure. Le matériel de l'amplification a été constitué d'un Mini-thermocycleur (MiniPCR BioTM) et des amorces spécifiques dont les caractéristiques sont consignées dans le tableau IV. Le milieu réactionnel utilisé est composé de tampon PCR 10X contenant du chlorure de magnésium (MgCl₂) des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTPs), l'eau ultra pure (H₂O), des amorces. L'agarose lyophilisé a servi pour la préparation du gel de migration électrophorétique. En outre, la solution Tris-Acétate-EDTA (TAE) a été utilisée comme tampon pour l'électrophorèse et comme solvant pour la préparation du gel

d'agarose. La solution de Gelred a été employée comme agent intercalant nécessaire pour la visualisation des fragments d'ADN à l'aide d'un Trans-illuminateur à rayon ultraviolet.

Tableau IV : Amorces utilisés pour l'identification moléculaire des isolats bactériens

Gène	Séquences (5'→3')	Tailles (pb)
ADNr 16S	27F 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' 1492R 5'-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3'	1500

1.4.2. Matériel pour le séquençage de l'ADN génomique et des amplicons

Pour le séquençage des extraits de souches d'ADN génomiques, la plateforme de séquençage NextSeq d'Illumina, équipée d'un kit de séquençage NextSeq (300 cycles) a été utilisée. L'extraction de l'ADN a été réalisée à l'aide du ZymoBIOMICS DNA Kit de Zymo Research. La quantification et la vérification de la qualité de l'ADN extrait ont été effectuées en utilisant le spectrophotomètre NanoDrop One9+. Les étapes de préparation des bibliothèques d'ADN ont été facilitées par l'utilisation des enzymes fournies dans le kit NEBNext® Ultra™ II FS DNA Library Prep Kit pour le système Illumina. Pour le nettoyage et la sélection de taille des fragments d'ADN, les perles AMPure XP ont été employées. Une séquence adaptatrice spécifique à Illumina a été utilisée pour assurer la compatibilité avec la plateforme de séquençage. Enfin, l'évaluation de la qualité des bibliothèques d'ADN a été effectuée à l'aide d'une puce à ADN, spécifiquement le TapeStation d'Agilent. Le matériel qui a servi au séquençage des amplicons était constitué de désoxyribonucléotide triphosphate (dNTP) et de didésoxyribonucléotides (ddNTP).

1.4.3. Outils et bases de données pour les analyses bio-informatiques

La plateforme Galaxy Europe a servi aux analyses bio-informatiques. Les logiciels de contrôle qualité des séquences brutes (Fastp), d'assemblage *de novo* des génomes Spades de pipeline Unicycler, de contrôle qualité des séquences assemblées (QUAST) et CheckM, d'annotation du génome (Prokka et Proksee), d'identification des souches TYGS et JSpeciesWS, d'identification des gènes de résistance et de facteurs de pathogénicité (ABRicate), d'identification des phages PHASTEST, de typage pMLST et les bases de données (PlasmidFinder, ResFinder, VFDB) ont été utilisés pour explorer les séquences d'ADN des isolats. La correction des séquences des réplicons et leur analyse a été possible grâce aux outils Chromas et BLAST.

2. MÉTHODES

2.1. Technique de collecte des données épidémiologiques

2.1.1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude transversale rétrospective s'étendant de Janvier 2019 à Décembre 2022. Cette enquête a été menée au sein du Laboratoire de Bactériologie-Virologie du Centre Hospitalier Régional (CHR) de Daloa.

2.1.2. Critères d'inclusion

Ont été inclus dans cette étude dans un premier temps tous les patients reçus au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa de Janvier 2019 à Décembre 2022 pour un ECBU avec un bulletin de Laboratoire bien renseigné. Les bulletins devaient porter les informations concernant l'âge, le sexe, le lieu de résidence, les renseignements cliniques et le service médical ayant orienté le patient vers le Laboratoire ont été inclus dans l'étude.

2.1.3. Critères d'exclusion

Les doublons c'est-à-dire les patients reçus pour un contrôle et les patients reçus avant et avant Janvier 2019 et après Décembre 2022 ont été exclus de l'étude.

2.1.4. Echantillonnage

2.1.4.1. Collecte des données épidémiologiques

Les données ont été recueillies en consultant les registres de routine (base de données électronique) du Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa. Les informations concernant l'âge, le sexe, le lieu de résidence et le service médical ayant orienté le patient vers le Laboratoire ont été documentées. De plus, les résultats des diagnostics microbiologiques des infections urinaires communautaires et de l'antibiogramme si possible ont été consignés. Ainsi, les cas ont été classés en trois catégories : Suspicion des IVU (tous les patients reçus au Laboratoire pour un ECBU), présence d'IVU (isolement de pathogènes des Urines) et absence d'IVU (ECBU négatifs).

2.2.4.2. Collecte des échantillons bactériens

Les isolats bactériens utilisés dans cette étude ont été choisis sur la base des résultats du diagnostic bactériologique. L'identification précise des isolats bactériens est essentielle dans un

laboratoire de microbiologie clinique car les résultats éclairent souvent les décisions relatives aux traitements qui influent directement sur les résultats pour les patients. De même, il est d'identifier avec précision l'agent pathogène responsable lors d'une épidémie afin que des stratégies appropriées puissent être utilisées pour contenir son expansion. Ainsi, les isolats bactériens, dont l'identité (l'espèce) n'a pas pu être mise en évidence par les tests de routine, ont été utilisés pour le séquençage de leur génome complet en vue de les identifier. Pour ce faire, les isolats bactériens ont été collectés dans le bouillon cœur cerveau (BCC) supplémenté de 5 % de glycérol coulé dans des cryotubes. Les inocula ont été mis dans un bac à glace puis couverts avec des accumulateurs de froid puis conduit au Laboratoire d'Agro-valorisation de l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ.

2.3. Caractérisation moléculaire des isolats bactériens collectés

2.3.1. Revivification des isolats bactériens collectés

Les isolats bactériens collectés ont été revivifiés dans le bouillon Luria-Bertani. En effet, 100 µL des inocula collectés au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa ont été introduits dans 10 mL de BLB puis incubé à 37 °C pendant 24 h. Par la suite les inocula ont été ensemencés sur la gélose ordinaire et incubés à 37 °C pendant 24 h.

2.3.2. Extraction d'ADN génomique des isolats bactériens

L'extraction d'ADN des bactéries a été réalisée par la méthode utilisant le bromure de cétyltriméthylammonium (CTAB) (Huang *et al.*, 2018). L'extraction de l'ADN a débuté par une centrifugation à 10000 tours pendant 5 min du bouillon inoculé pour sédimenter les cellules. Puis, le surnageant a été éliminé. Un volume de 1,5 mL du tampon de lyse (CTAB1) de pH 8,0, composé de 20 g/L CTAB, 1,4 mol/L NaCl, 0,1 mol/L Tris, 0,02 mol/L Na-EDTA a été ajouté au culot. Ensuite, 5 µL d'ARNase de concentration 20 mg/ mL a été ajouté à la suspension et le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un vortex. L'homogénat a été incubé à 60 (±2) °C pendant 30 min en agitant après 15 min d'incubation pour remettre la matière en suspension. A la fin de cette incubation, une quantité de 10 µL de protéinase K de concentration 20 mg/mL a été ajouté à la suspension puis homogénéisé au vortex. L'homogénat a été par la suite incubé à 60 (±2) °C pendant 30 min en agitant après 15 min d'incubation pour remettre la matière en suspension. Après incubation la suspension a été centrifugé à 15 000 g pendant 10 min. Un volume de 900 µL du surnageant a été transféré dans un nouveau tube contenant 900 µL de chloroforme et l'ensemble a été homogénéisé au vortex puis centrifugé à 15 000 g pendant 15

min. Par ailleurs, un volume de 650 µL du surnageant obtenu après centrifugation a été transféré dans une nouvelle capsule puis une quantité de 1300 µL du tampon de précipitation (CTAB2) composé de 5 g/L CTAB, 0,04 mol/L NaCl a été ajouté. Après 1 h d'incubation à la température ambiante, la suspension a été centrifugée à 15 000 g pendant 15 min et le surnageant a été éliminé.

Afin de dissoudre l'ADN, le tampon CTAB3 (NaCl) et 700 µL de chloroforme ont été ajoutés au culot obtenu après centrifugation. Le mélange obtenu a été homogénéisé pendant 30 secondes puis centrifugé à 15 000 g pendant 10 min et un volume de 600 µL de la phase aqueuse a été transféré dans un nouveau tube contenant un volume de 360 µL d'isopropanol froid (-20 °C) puis inversé 4 à 5 fois. Après 20 min d'incubation à la température ambiante, la suspension a été centrifugée à 15 000 g pendant 15 min. Le surnageant a été éliminé puis 500 µL d'éthanol 70 % a été ajouté au culot et de façon délicate les tubes ont été inversés 4 à 5 fois. Cette étape a été suivie par une centrifugation à 15 000 g pendant 10 min. Le surnageant a été évacué et les tubes ont été séchés à l'étuve pendant 30 min à 55 °C pour éliminer l'excès d'alcool. Les extraits d'ADN ont été quantifiés au NanoDrop puis les concentrations de l'ADN extrait ont été ajustées à 50 ng/µL dans l'eau de qualité PCR pour le séquençage.

2.3.3. Amplification des ADNr 16S par PCR

La PCR a consisté à amplifier les régions hypervariables de l'ADNr 16S. Pour ce faire, un mélange réactionnel de 20 µL a été préparé. Le milieu réactionnel était composé de 0,4 µl de Taq ADN polymérase, 1 µl de dNTP, 2 µL d'amorce sens et anti-sens, 4 µL de MgCl₂, 4 µl de Buffer et 6,6 µL d'eau ultra pure. Ce mélange a été déposé dans chaque puits d'une plaque de PCR et 2 µL d'ADN bactérien y ont été ajoutés. L'amplification a été réalisée suivant le programme décrit par Yao *et al.* (2017), dont une dénaturation initiale à 95 °C pendant 4 min puis 35 cycles de réactions. Chaque cycle comprend une phase de dénaturation à 95 °C pendant 1 min, une phase d'hybridation des amorces à 54 °C pendant 1 min et une phase d'élongation à 72 °C pendant 1 min. Ces 35 cycles sont suivis d'une extension finale de 10 min à 72 °C. L'ADN des souches bactériennes a été amplifié par PCR dans un mélange réactionnel final de 20 µL. La composition du mélange réactionnel est indiquée dans le tableau V. L'amplification a consisté en une étape de dénaturation initiale de l'ADN pendant 15 min à 94 °C. Cette étape a été suivie de 35 cycles d'amplification comprenant une dénaturation à 94 °C pendant 1 min, une hybridation à 55 °C pendant 50 s, une élongation à 72 °C pendant 2 min et une étape d'élongation finale de 7 min à 72 °C. Les amorces universelles utilisées sont 27F 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' et 1492R 5'-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3'. La composition du milieu réactionnel est consignée dans le tableau V.

Tableau V : Mix réactionnel de la PCR

Composant	Concentration	Volume (µL)
Buffer	5 X	4
DNTP	10 mM	1
Taq polymérase	2,5 U	0,4
MgCl ₂	25 mM	4
Amorce forward(F)	10 mM	1
Amorce reverse(R)	10 mM	1
Eau ultra pure stérile		6,6
ADN cible	50 ng/ µl	2
Total		20

2.3.4. Electrophorèse sur gel d'agarose

2.3.4.1. Préparation du gel d'agarose

Pour la migration des produits de PCR, un gel d'agarose de concentration 1,2 % (m/v) a été préparé. Pour ce faire une quantité de 1,2 g d'agarose a été introduite dans un volume de 98,8 mL de tampon TAE 1X. La préparation a été portée à l'ébullition dans une microonde à la température de 100 °C afin d'obtenir un mélange homogène. Le mélange a été laissé au repos quelques minutes et un volume de 1,4 µL du GelRed y a été ajouté. Après l'ajout du GelRed le gel d'agarose a été coulé dans une cuve munie de peigne. Après solidification, le gel est utilisé pour la réalisation de l'électrophorèse

2.3.4.2. Migration des produits d'amplification et révélation

La migration du produit de l'amplification ou amplicon a été réalisé sur gel d'agarose de concentration 1,2 % préalablement préparée. Un volume de 6 µL de chaque produit de PCR et a été mélangé avec 2 µL de tampon de charge 6X dans des tubes Eppendorf de capacité 1,5 mL stériles. Ensuite, les mélanges sont introduits dans les puits du gel à l'aide d'une micropipette ajustable. Aussi, dans le premier puits de chaque gel, a été introduit 7 µL du marqueur de poids moléculaire de 100 pb. La migration est réalisée sous une tension électrique de 125 volts pendant 30 minutes dans un tampon de TAE 1X. Après migration, le gel a été incubé dans un bain contenant un volume de 500 mL de TAE 1X additionné d'un volume de 7 µL du GelRed pendant 45 min. La visualisation des bandes correspondant aux fragments des gènes amplifiés effectuée à l'aide d'un Trans-illuminateur sous la lumière à rayons ultra-violets.

2.4. Séquençage et analyse des séquences d'ADNr 16S

Le séquençage des amplicons a été réalisé selon la méthode de Sanger, en utilisant le kit Big Dye Terminator v3.1 Matrix Standard Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) et le séquenceur Automate ABI 3730 (Applied Biosystems), selon les recommandations du constructeur. Les gènes ont été séquencés en suivant les différentes étapes. La technique du séquençage utilise, en plus des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP), des didésoxyribonucléotides (ddNTP) qui diffèrent des dNTP par l'absence d'un groupement OH en position 3' et dont l'incorporation aléatoire va bloquer la réaction de polymérisation. (Freney *et al.*, 2000). Les séquences nucléotidiques des gènes d'ADNr 16S obtenues ont été analysées et corrigées en utilisant le logiciel Chromas-Pro. Après correction, les séquences ont été comparées à des séquences homologues contenues dans la base de données du National Center for Biotechnology Information (NCBI) en utilisant le programme Basic Local Alignment Search Tools (BLAST) pour l'identification des différentes espèces (Boumba *et al.*, 2022).

Cependant bien que pratique et puissante, l'utilisation du 16S a nécessité certaines hypothèses pour déduire sa fiabilité. En effet, ces hypothèses sont basées sur le pourcentage de similarité. Ainsi, un pourcentage de similarité inférieur à 97 % indique généralement que les souches appartiennent à des espèces différentes (Clarridge, 2004). Tandis que des similarités dans la plage de 87-96 % peuvent permettre l'identification au niveau du genre mais sont insuffisantes pour une identification précise au niveau de l'espèce (Johnson *et al.*, 2019). Par contre pour une identification fiable au niveau du genre et de l'espèce, une similarité de séquence supérieure à 98-99 % est souvent nécessaire (Winand *et al.*, 2020).

2.5. Evaluation du profil génomique des isolats bactériens collectés

2.5.1. Séquençage de Nouvelle Génération (NGS)

La préparation de la librairie d'ADN pour le séquençage NGS a été effectuée en utilisant le kit de préparation de librairie ZymoBIOMICS DNA Kit de Zymo Research. L'ADN extrait a été évalué sur le NanoDrop One9+. Les échantillons d'ADNg ont ensuite été fragmentés à l'aide d'une approche basée sur des enzymes (qui fait partie du kit de préparation de bibliothèque d'ADN NEBNext® Ultra™ II FS pour le flux de travail Illumina). Les fragments résultants ont été purifiés (taille sélectionnée à l'aide de perles AMPure XP), réparés aux extrémités et une séquence adaptatrice spécifique d'Illumina a été ligaturée à tous les fragments. Après la quantification, les échantillons ont été indexés individuellement et une deuxième étape de sélection de la taille a été réalisée à l'aide de perles AMPure XP. Les bibliothèques ont été

contrôlées sur une puce à ADN (TapeStation d'Agilent) puis séquencées sur la plateforme NextSeq d'Illumina, à l'aide d'un kit NextSeq (300 cycles).

2.5.2. Analyse bioinformatique des séquences d'ADN génomiques des isolats bactériens

2.5.2.1. Contrôle qualité et assemblage des séquences d'ADN génomiques

Après séquençage des différents génomes, l'évaluation de leur qualité, le découpage de l'adaptateur et le filtrage ont été effectués à l'aide l'outil Fastp Galaxy (Version 0.23.4+galaxy0) de la plateforme Galaxy Europe avec les paramètres par défaut (Chen *et al.*, 2018). Une fois l'ADN génomique séquencé, il est essentiel de le reconstituer pour étudier sa structure et son contenu. Cette étape est connue sous le nom d'assemblage. À partir des séquences de lecture (reads) obtenues par séquençage d'un fragment d'ADN cible, les méthodes d'assemblage visent à reconstituer soit l'intégralité du fragment d'ADN, soit des parties spécifiques de ce dernier, notamment celles présentant des caractéristiques structurales telles que des répétitions ou des mutations. L'assemblage se décompose en plusieurs étapes distinctes, incluant la correction des erreurs dans les reads, le regroupement de reads chevauchants pour former des séquences plus longues nommées contigs, et la construction de scaffolds. Dans ces derniers, les contigs sont ordonnés et espacés par des régions non séquencées, appelées lacunes, qui représentent les parties du génome non couvertes par l'assemblage. Ce processus permet également de résoudre les répétitions, soit des séquences qui apparaissent en plusieurs copies similaires dans le fragment d'ADN cible. Il existe deux approches principales pour l'assemblage : l'approche par mapping, qui utilise une séquence de référence pour assembler les reads, et l'approche de novo, où l'assemblage est réalisé uniquement à partir des reads sans référence préalable (Miller *et al.*, 2010). Dans la présente étude les génomes (les lectures brutes filtrés) ont été assemblés de novo à l'aide de l'outil Spades du pipeline Unicycler (Galaxy Version 0.5.0+galaxy1) en laissant la valeur des paramètres par défaut (Wick *et al.*, 2017). L'évaluation des métriques des assemblages des génomes a été réalisée à l'aide de QUAST (Galaxy Version 5.2.0+galaxy1), en utilisant les paramètres par défaut (Gurevich *et al.*, 2013 ; Mikheenko *et al.*, 2018). Afin de fournir des estimations précises de l'exhaustivité et de la contamination des génomes soumis à l'étude l'outil CheckM (Galaxy Version 1.2.0+galaxy0) a été utilisé avec les paramètres par défaut (Parks *et al.*, 2015).

2.5.2.2. Annotation des génomes assemblés

Pour l'annotation des génomes des isolats bactériens l'outil Proksee (Grant *et al.*, 2023) a été utilisé pour générer une carte génomique des isolats soumis à l'étude. Les annotations des génomes bactériens ont été effectuées à l'aide de l'outil Prokka (Galaxy Version 1.14.6+galaxy1) (Seemann, 2014).

2.5.2.3. Identification taxonomique des isolats bactériens et analyse phylogénétique

Pour la catégorisation des affiliations taxonomiques des espèces soumises à l'étude, les valeurs de l'hybridation numérique ADN-ADN (dDDH) et de l'identité nucléotidique moyenne (ANI) basé sur les séquences complètes des génomes des isolats soumis à l'étude et de ses souches de type apparentées ont été déterminées à l'aide des applications en ligne TYGS et JSpeciesWS (Richter *et al.*, 2016 ; Meier-Kolthoff & Goker., 2019). Par ailleurs, deux génomes appartenant à la même espèce auraient une valeur de dDDH d'au moins 70 %, correspondant à au moins 95 % d'ANI (Orata *et al.*, 2018). Aussi, les génomes entiers ont ensuite été comparés à d'autres génomes de référence à l'aide de l'outil Kraken2 basé sur un alignement de nucléotides fragmentés (Wood & Salzberg, 2014). L'arbre phylogénétique a été reconstruit à l'aide des données de séquence des génomes entiers des différents souches soumises à l'étude et de leur souche type étroitement apparentée sur la plateforme TYGS. Les numéros de branche ont été déterminés sur la base de valeurs de soutien pseudo-bootstrap supérieures à 80 % à partir de 100 répétitions en utilisant Genome Blast Distance Phylogeny (GBDP), avec un soutien moyen des branches de 95 %.

2.5.2.4. Prédiction de la résistance et de la virulence intrinsèques

La prédiction des gènes de résistance et des gènes de virulence putatifs présents dans les génomes des 5 isolats a été réalisée avec l'outil ABRicate (Galaxy Version 1.0.1) sur les bases de données ResFinder et VFDB (Liu *et al.*, 2018). ABRicate effectue une recherche approfondie de la similarité de séquence des gènes de résistance avec des gènes de résistance connus et des facteurs de virulence avec les facteurs de virulence connus disponibles dans les différentes bases de données des gènes de résistance (ResFinder) et des facteurs de virulence pour les pathogènes bactériens (VFDB) (Liu *et al.*, 2018). Alors, les séquences Fasta des différents génomes entiers assemblés ont été téléchargées dans l'outil ABRicate. Les gènes de résistance ont été prédits en utilisant les paramètres par défaut (Bortolaia *et al.*, 2020). Quant aux facteurs de virulence putatifs, ceux ayant un pourcentage de similarité comprise entre 97 % et 100 % ont été considérés comme présents chez les différents isolats bactériens étudiés.

2.5.2.6. Prédiction des éléments génétiques mobiles

La prédiction des plasmides dans les génomes des isolats bactériens a été réalisée à l'aide de PlasmidFinder (Carattoli *et al.*, 2014). Les séquences de réplicons plasmidiques avec une couverture d'au moins 100 % et une identité de 80 % ont été considérées comme présentes dans les isolats. Les régions de prophage présentes dans les séquences génomiques ont été détectées à l'aide de l'outil PHASTEST (Arndt *et al.*, 2019). La présence des intégrations, des excisions, des réplifications, des recombinaisons, des réparations et les gènes de transfert, de stabilité et de défense ont prédits sur mobileOG-db (Brown *et al.*, 2022).

2.5.2.7. Prédiction des gènes de virulence et de résistance liés aux plasmides

Les séquences plasmiques prédites avec l'outil PlasmidFinder ont été télécharger dans l'outil ABRicate pour la prédiction des gènes de résistance et des facteurs de virulence sur les bases de données ResFinder et VFDB. Les gènes de résistance ont été recherchés en utilisant les paramètres par défaut. En ce qui concerne les facteurs de virulence, les gènes prédits ayant un pourcentage de similarité comprise entre 97 % et 100 % ont été considérés comme présents chez les différents isolats bactériens étudiés (Liu *et al.*, 2018).

2.5.2.8. Prédiction des gènes de résistance et de virulence liés aux chromosomes

Pour la prédiction de la résistance et de la virulence chromosomique des isolats bactériens, les séquences chromosomiques ont été extraites à l'aide de l'outil Plasfow (Galaxy Version 1.1.0+galaxy0). Les fichiers Fasta des séquences chromosomiques ont été téléchargés vers l'outil ABRicate pour prédire la présence des gènes de résistance sur la base de données ResFinder et celle des facteurs de virulence sur la base de données VFDB. Les gènes de résistance ont été recherchés en laissant les paramètres par défaut. En ce qui concerne les facteurs de virulence, les gènes prédits ayant un pourcentage de similarité comprise entre 97 % et 100 % ont été considérés comme présents chez les différents isolats bactériens étudiés (Liu *et al.*, 2018).

2.5.2.9. Typage de séquences multilocus (MLST)

Le typage moléculaire des souches par le Multi-locus sequence typing (MLST) est une technique standardisée et discriminante, appliquée dans des études épidémiologiques ou phylogénétiques. Il permet de caractériser les relations génétiques entre les souches bactériennes. Cette technique permet de comparer les séquences de gènes codant pour des

enzymes métaboliques afin d'établir une relation clonale entre les différentes souches (Belbel, 2014). Les techniques de MLST développées sont basées sur l'analyse, par séquençage nucléotidique, du polymorphisme de 7 gènes de ménage conservés au cours de l'évolution des souches bactériennes. L'alignement des séquences d'un locus donné permet de repérer les allèles différents entre eux par des mutations et/ou recombinaisons pour chaque souche bactérienne. La combinaison des allèles obtenus à partir de chaque locus sélectionné permet de définir une séquence type (ST), représentant un génotype multi-locus. Le typage de séquences multi-locus (pMLST) a été réalisé avec l'outil pMLST (Carattoli *et al.*, 2014).

2.6. Analyses statistiques

L'analyse statistique des données épidémiologiques incluant la prévalence des patients infectés, des différents germes impliqués dans les IVU, de la résistance des germes a été possible grâce au logiciel R version R64×4.1.2. Les données transcrites sur Microsoft Excel 2019 ont été converties en fichier format CSV afin de réaliser les analyses. Des statistiques telles que la médiane et la variabilité ont été calculées, et les distributions de prévalence ont été visualisées à l'aide de graphiques, tels que des histogrammes ou des diagrammes en barres. Enfin, les différences significatives ont été prouvées par les tests de khi2, la valeur p inférieure ou égale à 0,05 a été considérée statistiquement significative.

TROISIEME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. RÉSULTATS

1.1. Détermination de l'incidence des IVU dans la ville de Daloa de 2019 à 2022

1.1.1. Situation socio-démographique des patients reçus au Laboratoire

1.1.1.1. Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction du sexe

Cette étude rétrospective a révélé qu'au total 1513 patients ont été reçus au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa pour un ECBU de 2019 à 2022. La figure 5 illustre la répartition des patients en fonction du sexe. En effet, il ressort de l'analyse des résultats que les patients présentant une suspicion des IVU étaient majoritairement des hommes avec un effectif de 1002 soit 62,23 % contre 511 soit 33,77 % de femmes ($X^2 = 159,34$, $df = 1$, $p\text{-value} = 2,2 \cdot 10^{-16} < 0,05$).

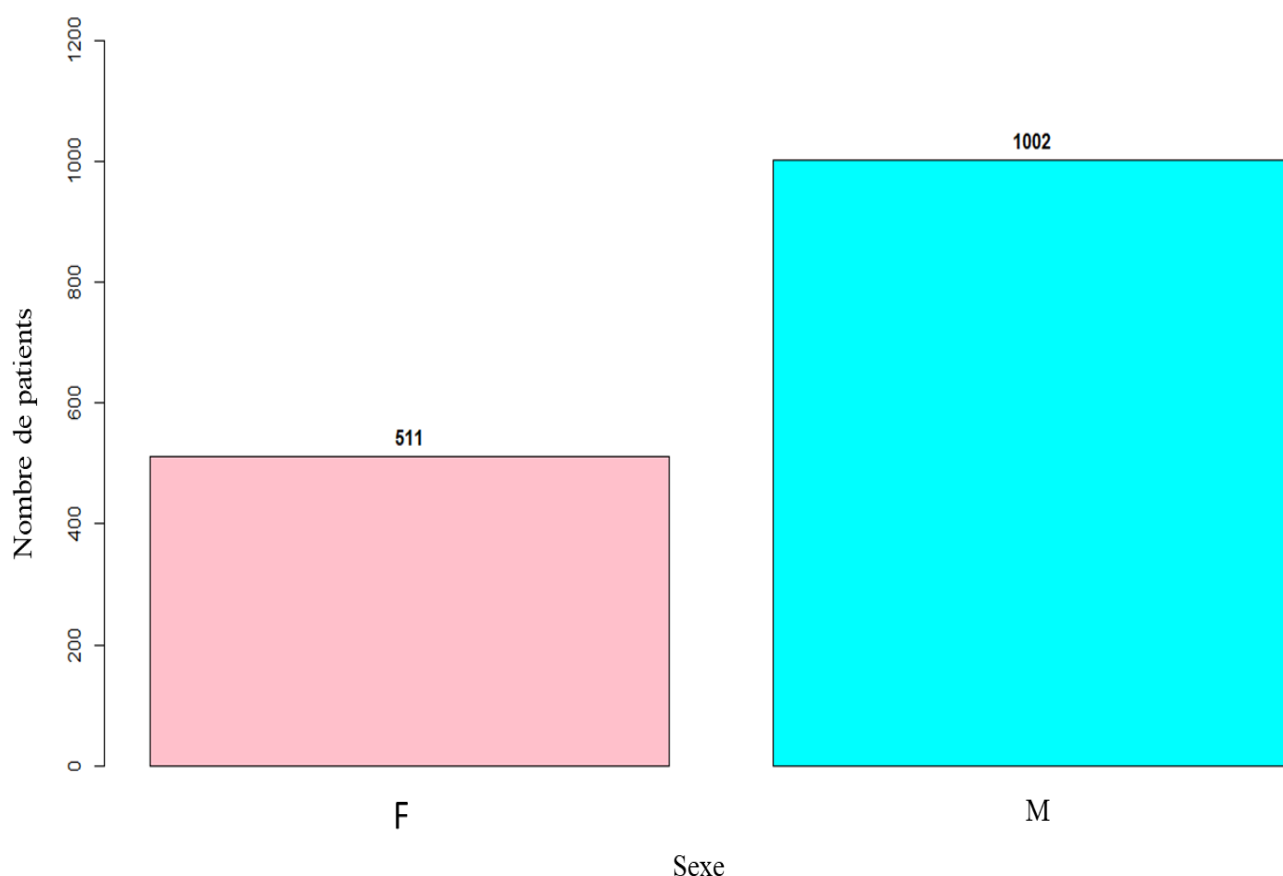


Figure 5: Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction du sexe

1.1.1.2. Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction de l'âge

La figure 6 montre la répartition des patients présentant une suspicion des infections des voies urinaires en fonction de l'âge. Durant la période de 2019 à 2022, les patients qui se sont présentés au Laboratoire de Bactériologie-Virologie pour un ECBU avaient majoritairement l'âge compris entre 20 et 30 ans.

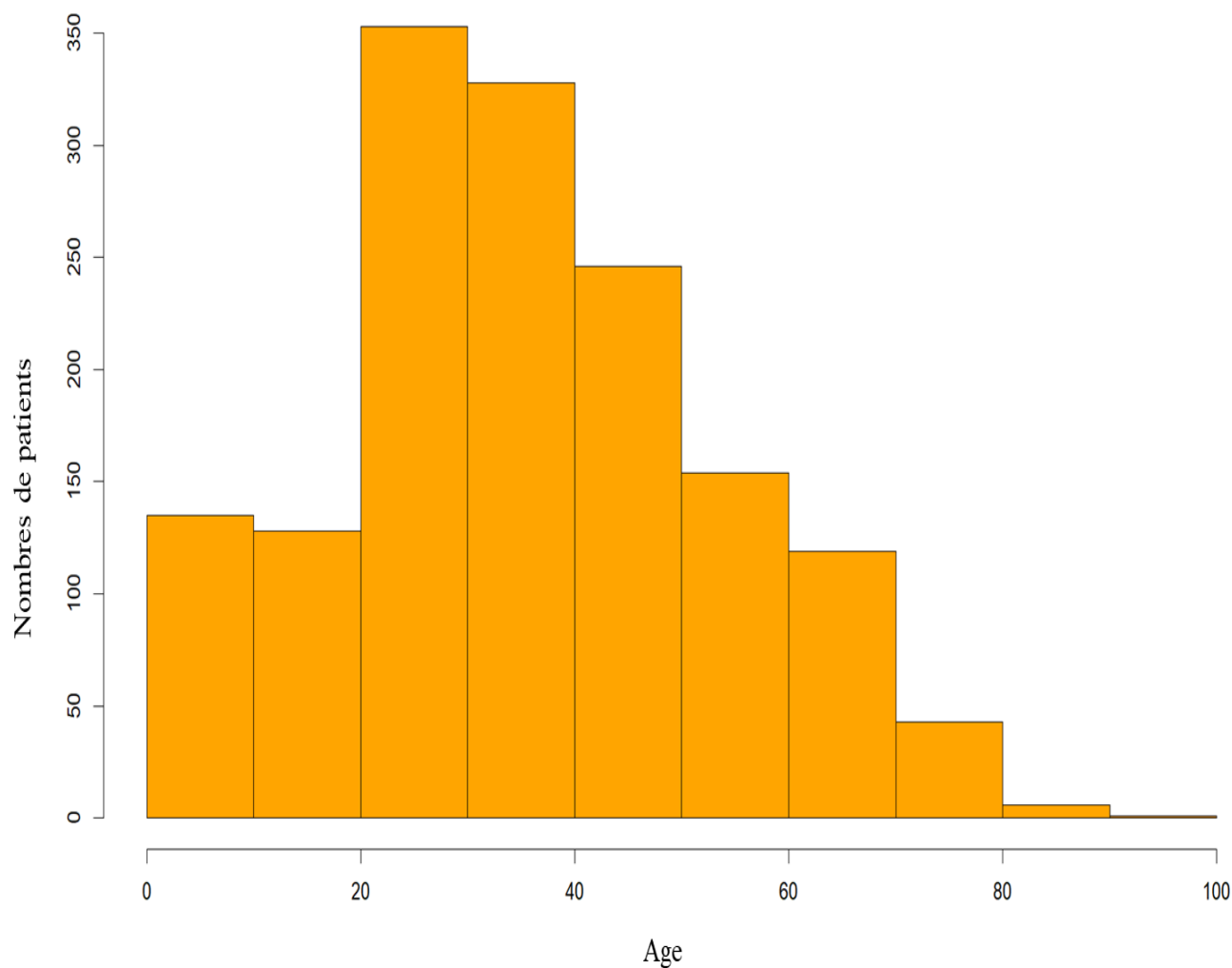


Figure 6: Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction de l'âge

1.1.1.3. Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction de leur lieu d'habitation

La répartition des patients en fonction de leur lieu d'habitation est représentée par la figure 7. Les résultats montrent que les patients reçus au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du Centre Hospitalier Régional (CHR) de Daloa durant la période de 2019 à 2022 provenaient d'horizons divers. Par ailleurs, sur les 1513 patients enregistrés, 1379 soit 91,14 % provenaient majoritairement de la ville de Daloa suivies des villes de Vavoua et d'Issia qui regorgeaient respectivement 3,04 % et 2,18 % des patients.

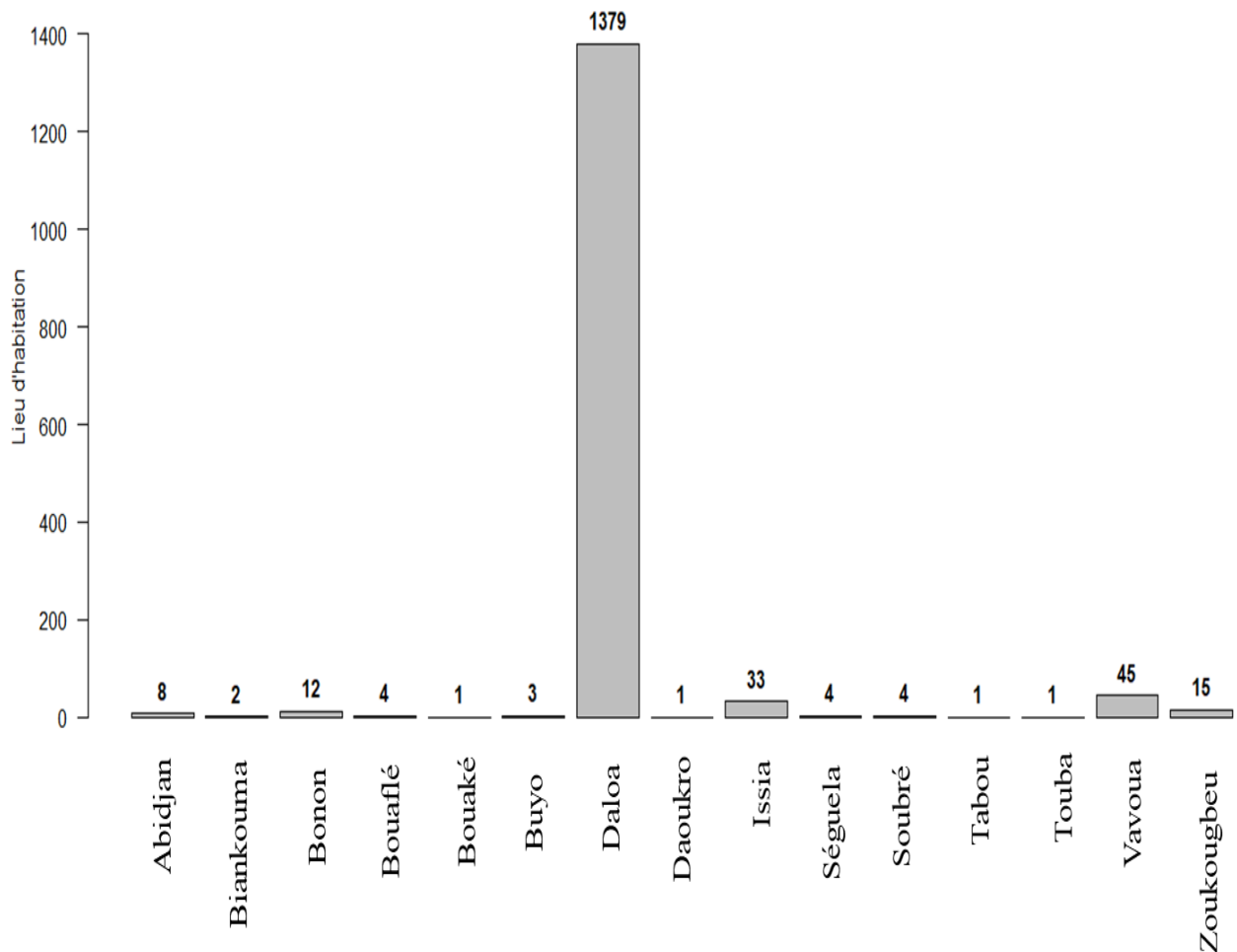


Figure 7: Répartition des patients reçus au Laboratoire en fonction de leur lieu d'habitation

1.1.1.4. Répartition des patients en fonction des services les référant au Laboratoire

La figure 8 met en exergue la répartition des patients en fonction des services référant les patients au Laboratoire. Les résultats montrent que de Janvier 2019 à Décembre 2022, les patients reçus au Laboratoire de Bactériologie-Virologie pour un ECBU provenaient de divers services. L'analyse statistique des résultats ($\chi^2 = 2800,8$, $df = 12$, $p\text{-value} < 2,2 \cdot 10^{-16} < 0,05$) montre une inégale répartition des patients en fonction des services les orientant au Laboratoire. En effet, les patients étaient majoritairement référés au Laboratoire par la Médecine 39,92 %, suivie des services externes (SE) qui cumulaient 32,25 %.

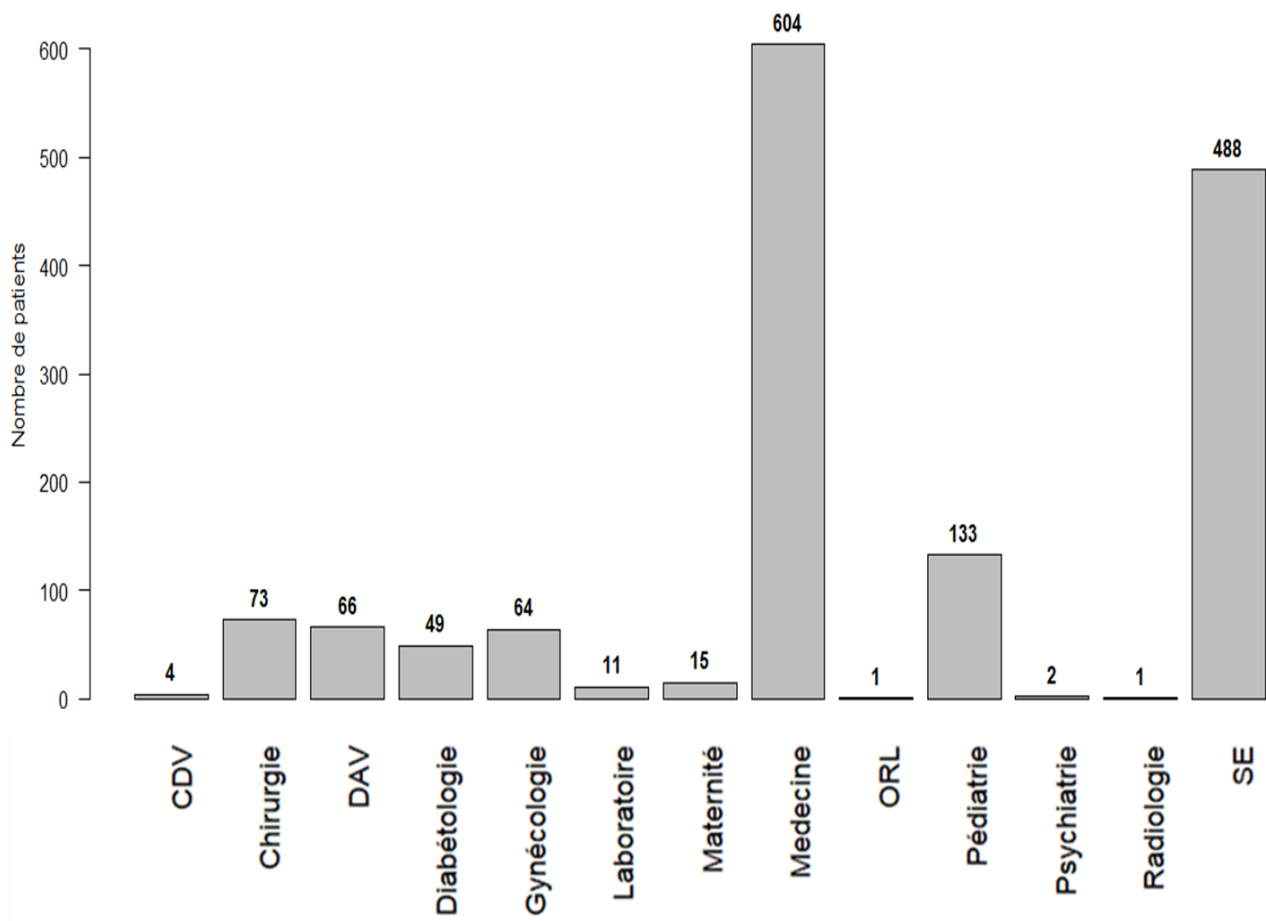


Figure 8: Répartition des patients en fonction des services

1.1.2. Incidence des IVU dans la ville de Daloa

1.1.2.1. Incidence globale des IVU de 2019 à 2022

A l'issue de cette étude rétrospective sur 4993 examens reçus au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa, 1513 Examens Cytobactériologiques des Urines (ECBU) ont été enregistrés soit un taux de suspicion de 30,30 % des IVU. Aussi, de Janvier 2019 à Décembre 2022, sur les 1513 ECBU enregistrés 208 ont été diagnostiqués positifs, ce qui équivaut à une incidence globale de 13,75 % des IVU sur les trois années de l'étude (Figure 9).

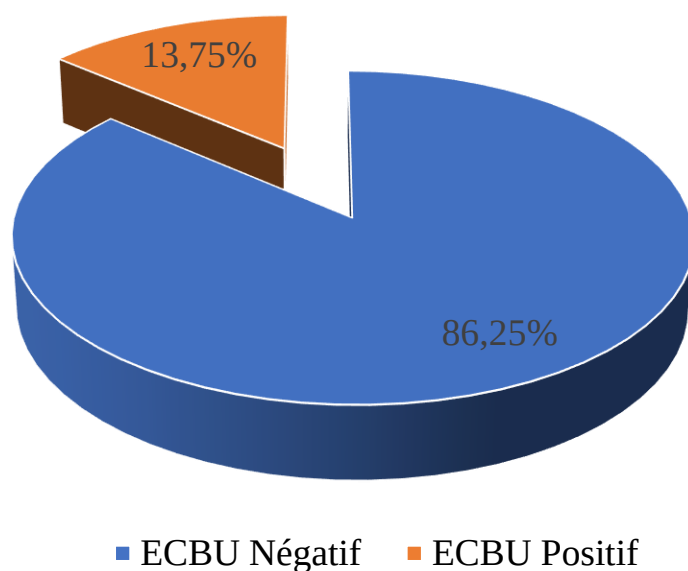


Figure 9: Incidence globale des IVU de 2019 à 2022

1.1.2.2. Sexe ratio (H/F)

De 2019 à 2022, au total 1513 patients ont été reçus au laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa pour un ECBU. Le nombre de cas positifs sur les 1513 cas était de 208. Parmi les 208 cas positifs il y avait 102 femmes (F) et 106 hommes (H), soit un sexe ratio H/F de 106/102. Ce qui correspond à 1,04 homme pour 1 femme atteinte des IVU à Daloa au cours des trois années de l'étude. Ainsi, l'incidence globale des IVU par sexe était de 51 % d'hommes contre 49 % de femmes, comme illustré par la figure 10.

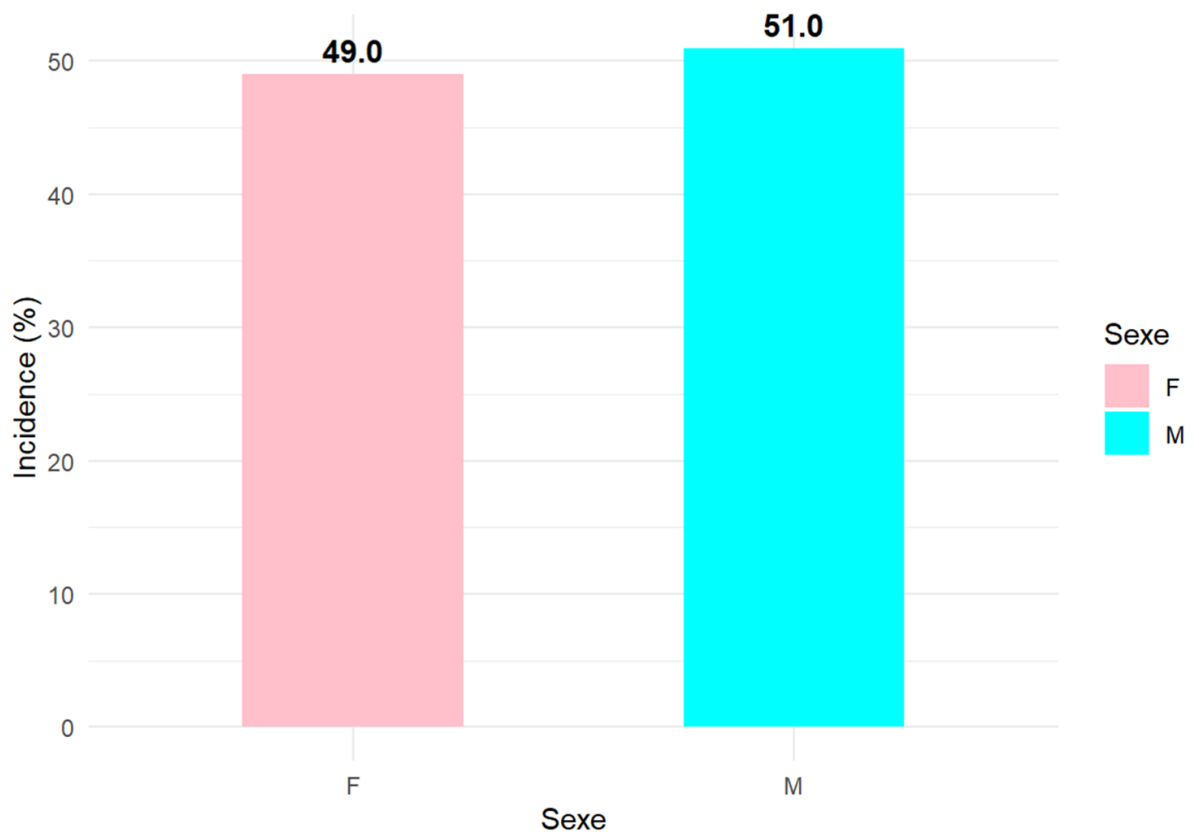


Figure 10: Incidence globale des IVU de 2019 à 2022 en fonction du sexe

1.1.2.3. Incidence globale des IVU en fonction des tranches d'âge des patients

La figure 11 illustre l'incidence des IVU en fonction des tranches d'âge des patients. En effet, sur les 208 cas positifs enregistrés 15 avaient l'âge compris entre 0 et 15 ans ce qui donne un taux d'incidence de 7,21 %. Il a été observé que 37 cas avaient l'âge compris entre 16 et 30 ans correspondant à un taux d'incidence de 17,79 %. Aussi, 72 patients avaient l'âge compris entre 31 et 50 ans soit 34,62 % de taux d'incidence. Enfin, 40,38 % soit 84 patients avaient plus de 50 ans.

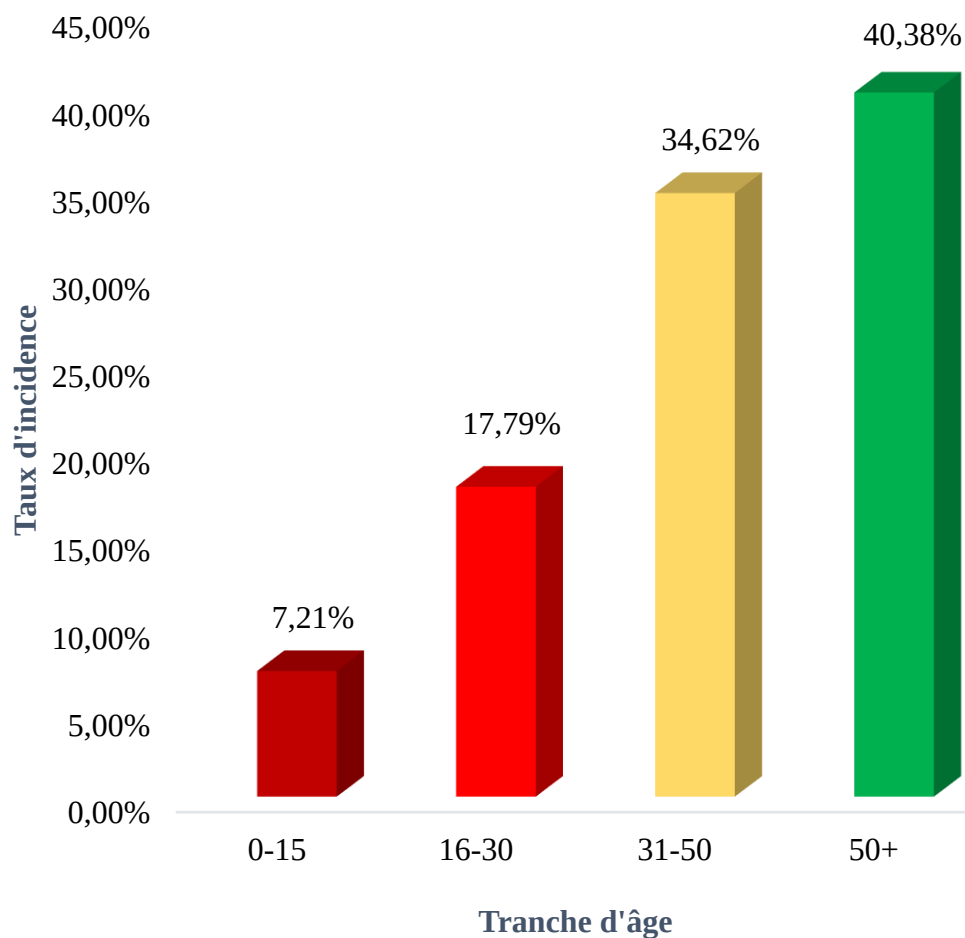


Figure 11: Incidence globale des IVU en fonction des tranches d'âge des patients

1.1.2.4. Sexe ratio (H/F) par tranche d'âge

La figure 12 présente le sexe ratio des IVU par tranche d'âge sur les 3 années de l'étude. En effet, sur les 15 patients atteints d'IVU qui avaient l'âge compris entre 0 et 15 ans, il y avait 5 hommes et 10 femmes ce qui correspond à 1 homme atteint pour 2 femmes dans cette tranche d'âge. Sur les 37 patients atteints qui avaient l'âge compris entre 16 et 31 ans, l'on a dénombré 25 femmes et 12 hommes correspondant 0,48 homme atteint pour 1 femme. Dans la tranche d'âge de 31 à 50 ans, sur les 72 patients atteints, il y avait 37 hommes et 35 femmes dont un sexe ratio de 1,06 hommes pour 1 femme atteinte. Chez les patients de plus de 50 ans, sur les 84 patients atteints 52 étaient des hommes et 32 des femmes correspondant à 1,63 hommes pour 1 femme atteinte dans IVU

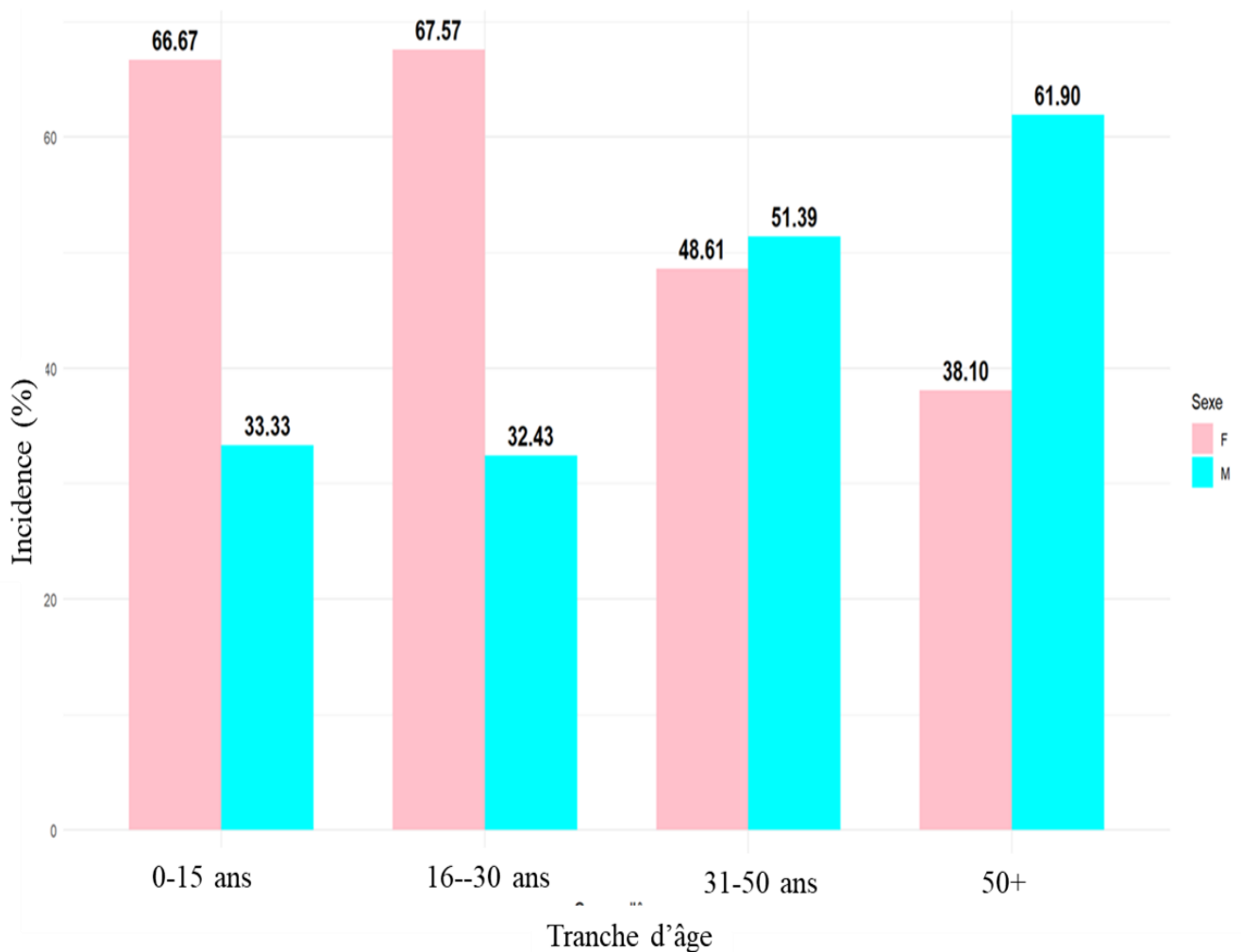


Figure 12: Incidence globale des IVU en fonction du sexe par tranche d'âge

1.1.2.5. Incidence annuelle des IVU dans la ville de Daloa

La figure 13 illustre les incidences annuelles des IVU dans la ville de Daloa. En effet, 40 patients étaient atteints d'IVU sur les 335 patients enregistrés en 2019 soit un taux d'incidence de 11,94 %. En 2020, l'incidence était de 17,22 % soit 72 cas positifs sur les 418 patients enregistrés. Tandis qu'en 2021, le taux d'incidence des IVU était de 11,37 % soit 39 cas positifs sur 343 cas enregistrés. Le taux d'incidence des IVU en 2022 était de 13,67 % correspondant à 57 cas positifs sur 417 enregistrés. Les analyses statistiques mettent en évidence l'absence de variation significative ($X^2 = 1.5395$, $df = 3$, $p\text{-value} = 0.6732$) entre les incidences annuelles de cette infection au cours de ces trois années dans la ville de Daloa.

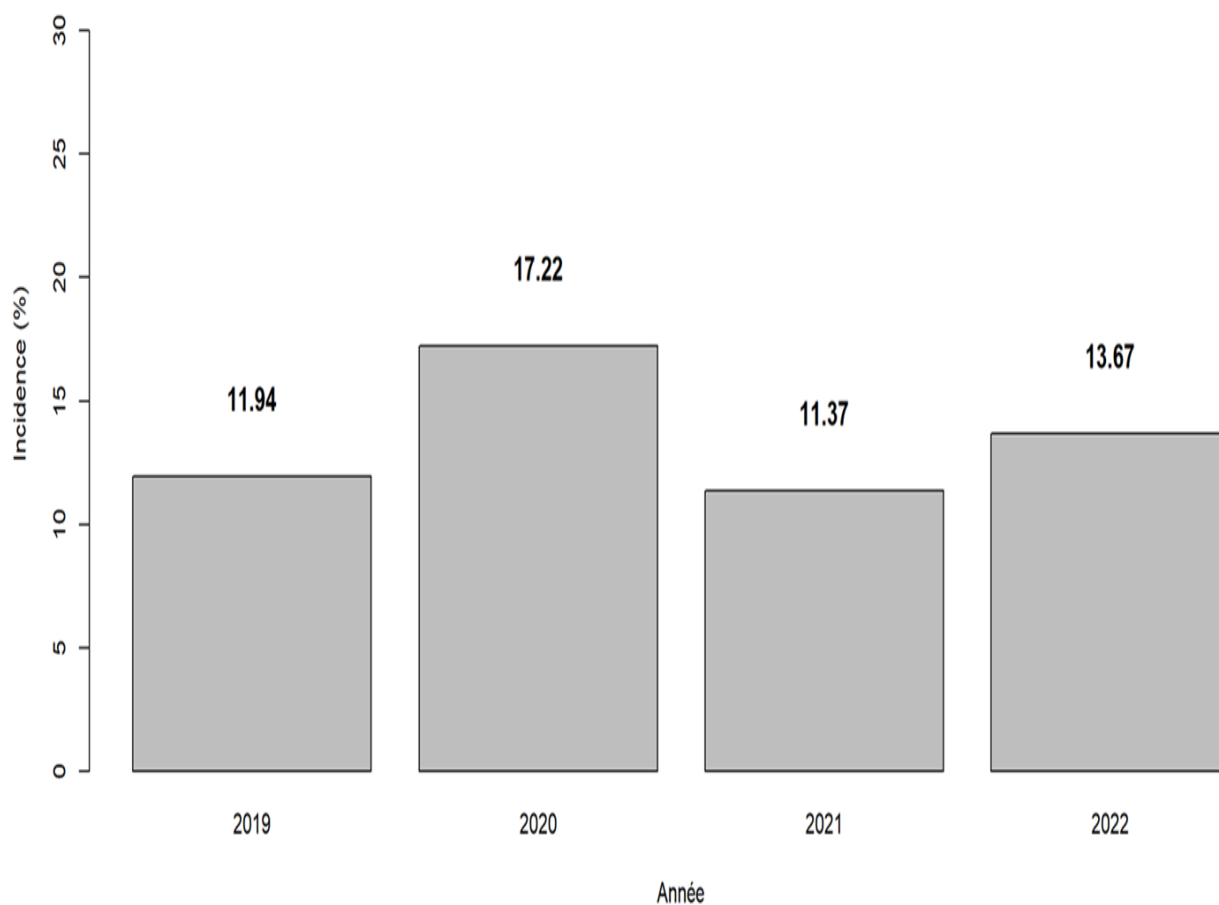


Figure 13: Incidence annuelle des IVU dans la ville de Daloa

1.1.2.6. Incidence annuelle des IVU par sexe dans la ville de Daloa

La figure 14 montre l'incidence annuelle des IVU par sexe. En effet, sur les 40 cas positifs enregistrés en 2019, il y avait 20 femmes et 20 hommes, correspondant à 50 % de taux d'incidence au niveau des deux sexes. Tandis que, sur les 72 cas positifs obtenus en 2020 il y avait 34 femmes (47,22 %) et 38 hommes (52,78 %). En 2021, 39 cas positifs ont été enregistrés dont 15 femmes (38,46 %) et 24 hommes (61,54 %). Tandis qu'en 2022, sur les 57 cas positifs enregistrés l'on a dénombré 33 femmes (58,89 %) et 24 hommes (42,11 %).

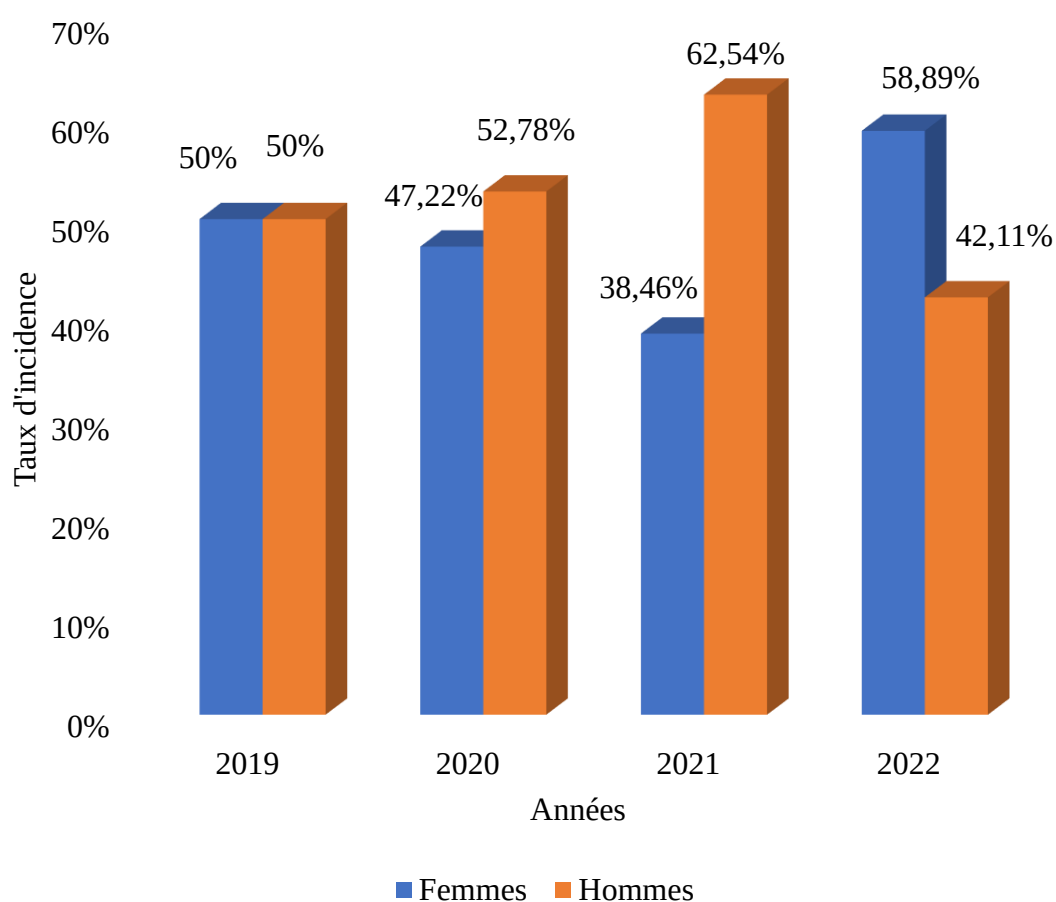


Figure 14: Incidence annuelle des IVU par sexe

1.1.3. Fréquence d'isolement des microorganismes impliqués dans les IVU à Daloa

1.1.3.1. Fréquence d'isolement des groupes de bactéries

La répartition des bactéries isolées durant la période de 2019 à 2022 sur la base de la coloration de Gram a révélé que la bactériurie était due pratiquement à 94,23 % des bacilles Gram négatif tandis que les Cocci Gram Positif ont été impliqués avec des fréquences d'isolement relativement faibles de 5,77 % comme illustré par la figure 15.

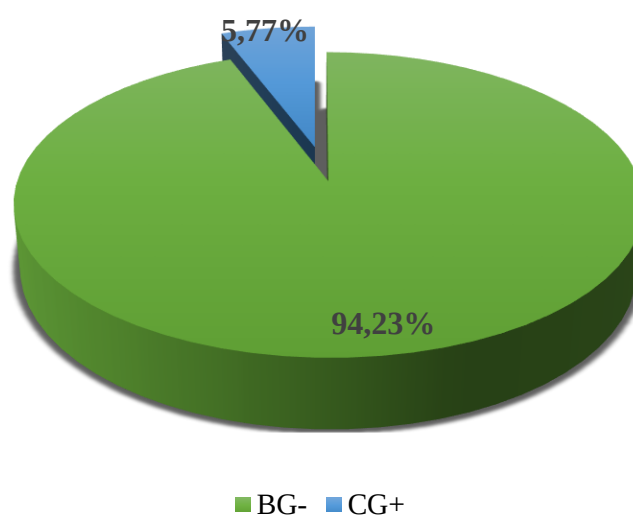


Figure 15: Fréquence d'isolement des groupes de bactérie

1.1.3.2. Fréquence d'isolement des espèces de bactéries impliquées dans IVU

Afin d'apprécier la fréquence de chaque espèce bactérienne dans les infections urinaires dans la ville de Daloa au cours de la période de 2019 à 2022, une répartition a été réalisée (Tableau VI). La bactériurie était essentiellement due à l'espèce *Escherichia coli* avec une fréquence d'isolement de 72,60 % suivie de *Klebsiella sp.* et des entérobactéries avec des fréquence d'isolement équivalentes de 4,33 %.

Tableau VI: Fréquence d'isolement des espèces bactériennes

Bactéries isolées	Nombre d'isolement	Fréquence (%)
<i>Escherichia coli</i>	151	72,60 %
<i>Enterobacter sp.</i>	2	0,96 %
<i>Citrobacter sp.</i>	1	0,48 %
Entérobactéries	9	4,33 %
<i>Enterococcus sp.</i>	5	2,40 %
<i>Hafnia sp.</i>	1	0,48 %
<i>Klebsiella sp.</i>	9	4,33 %
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0,48 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	3,85 %
<i>Levinea sp.</i>	1	0,48 %
<i>Morganella Morganii</i>	1	0,48 %
<i>Proteus sp.</i>	2	0,96 %
<i>Providencia sp.</i>	5	2,40 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	1,45 %
<i>Salmonella sp.</i>	1	0,48 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0,48 %
<i>Staphylococcus non aureus</i>	4	1,92 %
<i>Staphylococcus sp.</i>	2	0,96 %
<i>Yersinia sp.</i>	1	0,48 %
Total	208	100 %

1.1.3.3. Fréquence d'isolement annuelle des bactéries impliqués dans les IVU

La fréquence d'isolement annuelle des microorganismes impliqués dans les infections des voies urinaires de 2019 à 2022 est illustrée par la figure 16. Il ressort de cette étude que la bactérie *Escherichia coli* se démarque en tant que l'agent pathogène le plus fréquemment isolé dans les cas d'IVU au CHR de Daloa au cours des trois années de l'étude. Sa fréquence a été particulièrement plus élevée en 2020 comparativement aux autres années de l'étude. En revanche, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp.*, *Citrobacter sp.*, *Levinea sp.*, *Hafnia sp.* et *Morganella morganii* ont été isolés des IVU exclusivement en 2020. Par contre *Yersinia sp.* et *Klebsiella oxytoca* ont été impliqués dans les IVU uniquement en 2019. *Enterobacter sp.* et *Enterococcus sp.* ont été isolés des IVU en 2020 et 2022. Exceptée l'année 2019, le genre *Staphylococcus* a été impliqué dans les IVU au cours des deux autres années de l'étude.

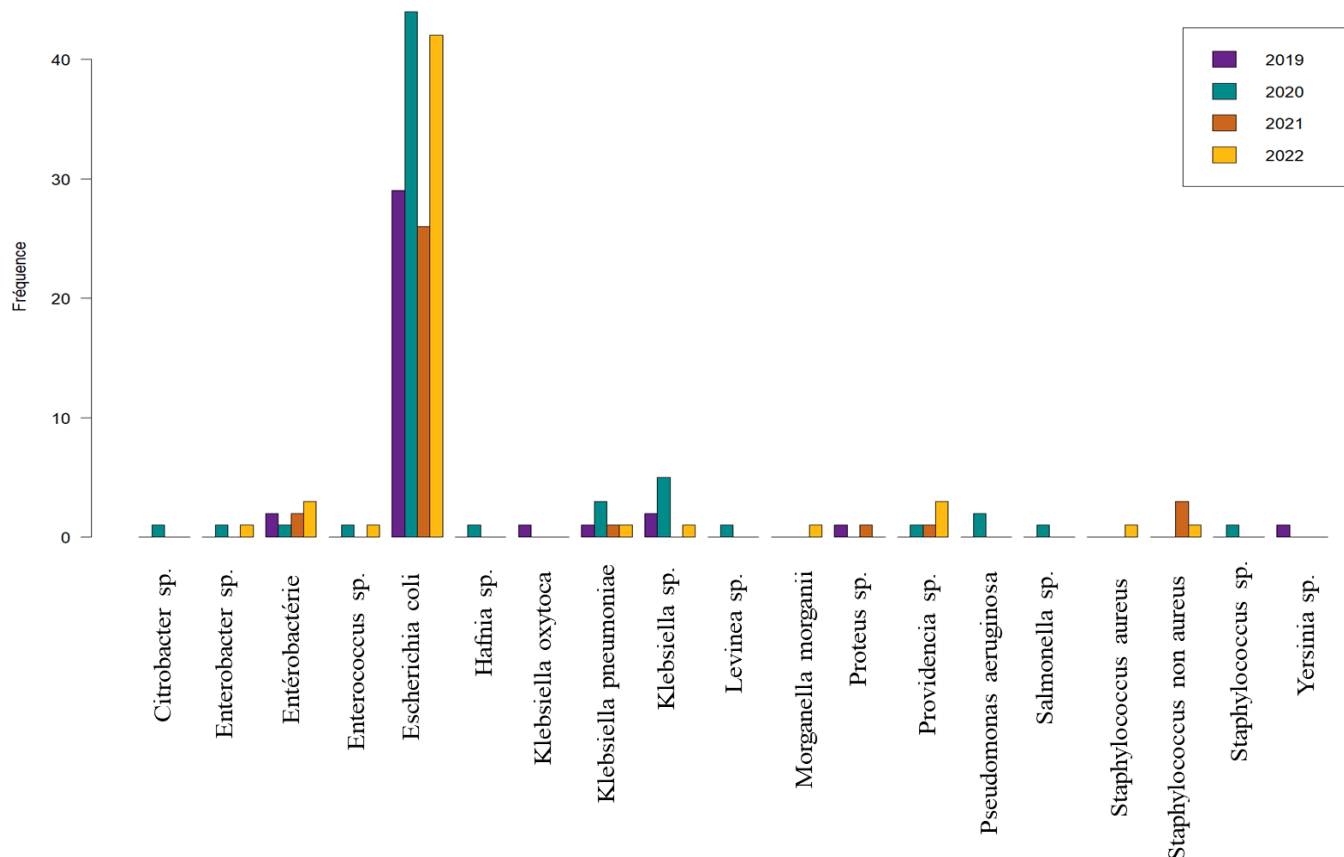


Figure 16: Fréquence d'isolement annuelle des bactéries impliquées dans les IVU à Daloa

1.1.3.4. Fréquence d'isolement des bactéries impliqués dans les IVU en fonction des tranches d'âge des patients

La fréquence d'isolement des bactéries impliqués dans les IVU en fonction des tranches d'âge est présentée par la Figure 17. Les résultats ont montré que *Escherichia coli* a été la bactérie la plus impliquée dans les IVU chez les patients de tout âge avec une forte fréquence d'isolement chez les patients de plus de 50 ans. En revanche, les genres *Levinea* et *Yersinia* ont été associés aux IVU uniquement chez les patients de plus de 50 ans. Aussi, *Hafnia sp.*, *Morganella morganii* ont été isolés uniquement chez les patients dont l'âge est compris entre 31 et 50 ans. Les genres *Pseudomonas* et *Providencia* ont été impliqués dans les IVU chez les patients dont l'âge est compris entre 16 et 30 ans aussi bien que chez les patients de plus de 50 ans. Les genres *Salmonella* et *Citrobacter* ont causé les IVU uniquement chez les patients dont l'âge est compris entre 16 et 30 ans. Les genres *Enterococcus* et *Staphylococcus* ont été isolés des IVU chez les patients dont l'âge est compris entre 16 et 30 ans puis ceux ayant l'âge compris entre 31 à 50 ans. Par contre, le genre *Proteus* a été impliqué dans les IVU chez les patients dont l'âge est compris entre 0 et 15 ans.

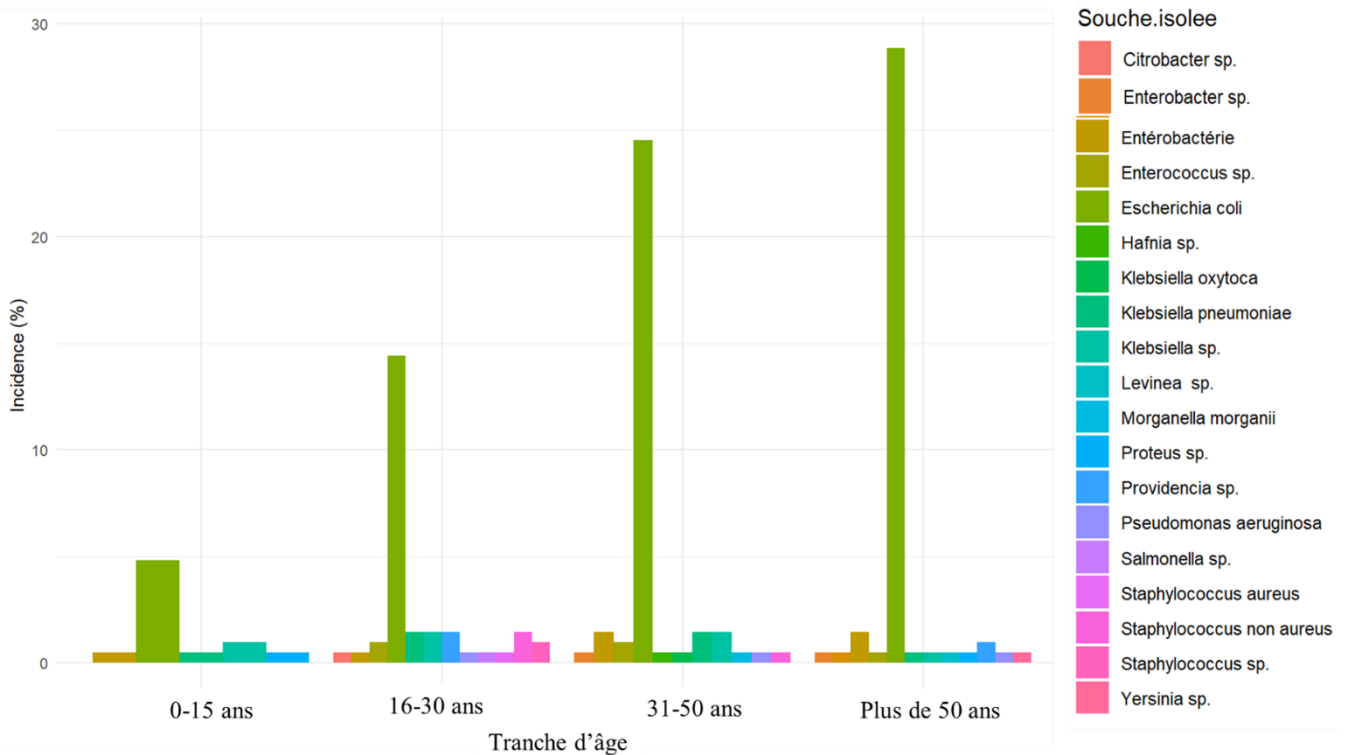


Figure 17: Fréquence d'isolement des bactéries impliquées dans les IVU en fonction des tranches d'âge

1.1.3.5. Fréquence d'isolement annuelle des bactéries impliquées dans les IVU en fonction du sexe

La Figure 18 présente la répartition des germes impliqués dans les infections urinaires au CHR de Daloa en fonction du sexe au cours des trois années de l'étude. Les résultats ont mis en évidence que *Escherichia coli* a été incriminée dans les IVU, aussi bien chez les hommes que chez les femmes sur toutes les quatre années de l'étude avec des fréquences d'isolement variables. Tandis que, le genre *Klebsiella* fut impliqué dans les IVU aussi bien chez les hommes que chez les femmes en 2020. *Yersinia sp.*, était responsable des IVU spécifiquement chez les femmes à Daloa en 2019 avec un taux d'isolement de 3,8 %. *Pseudomonas aeruginosa* a été isolé des IVU chez les hommes avec une fréquence d'isolement de 3 % en 2021. Le genre *Staphylococcus* a été mis en évidence dans les IVU chez les femmes en 2020 et 2021. *Providencia sp.* a été incriminé dans les IVU en 2022 chez les femmes.

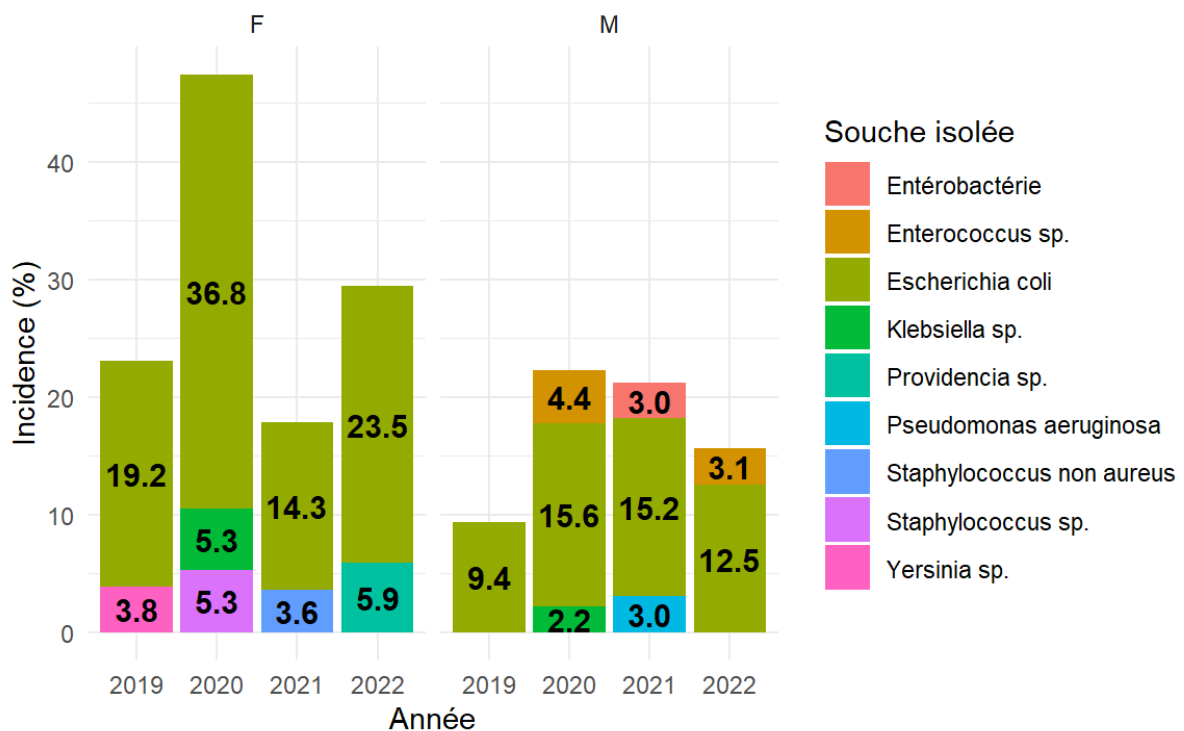


Figure 18: Fréquence annuelle d'isolement des bactéries impliquées dans les IVU en fonction du sexe

1.1.3.6. Fréquence d'isolement des bactéries impliquées dans les IVU par tranche d'âge en fonction des années

En ce qui concerne la fréquence d'isolement des bactéries impliquées dans les IVU par tranches d'âge en fonction des années, elle est illustrée par la figure 19. En effet, en 2022, seule *Escherichia coli* a fait l'objet des IVU chez les patients de 0 à 15 ans. Tandis que, chez les patients dont l'âge est compris entre 16 et 30 ans, 31 et 50 ans et les patients de plus de 50 ans, malgré la fréquence élevée de *Escherichia coli*, l'on note la présence de d'autres bactéries telles que Entérobactéries, *Staphylococcus* avec des fréquences relativement faibles. En 2021, on note une fréquence de plus de 80 % de *Escherichia coli* chez les patients de plus de 50 ans. Par ailleurs, *Proteus sp.* a été impliqué dans 25 % des cas des infections chez les patients dont l'âge est compris entre 0 et 15 ans. On observe aussi une incidence de plus de 20 % du genre *Staphylococcus* (*Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus sp.*) chez les patients dont l'âge est compris entre 16 et 30 ans. En 2020, les IVU ont été causées exclusivement par les bactéries *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella sp.* chez les patients dont l'âge était compris entre 0 et 16. Aussi, il a été observé une prépondérance de *Escherichia coli* chez les patients dont l'âge est compris entre 16 et 30 ans, 31 et 50 ans et plus de 50 ans avec une fréquence d'isolement de plus de 70 %. En effet, en 2019 *Escherichia coli* fut la bactérie la plus impliquée dans les infections des voies urinaires chez les patients dont l'âge était compris entre 0 et 15 ans, 31 et 50 ans et plus de 50 ans avec une forte incidence (plus de 80 %) chez les patients de plus de 50 ans. Par ailleurs, *Klebsiella sp.* fut la souche la plus impliquée avec une incidence de 40 % chez les patients dont l'âge était compris entre 16 et 30 ans.

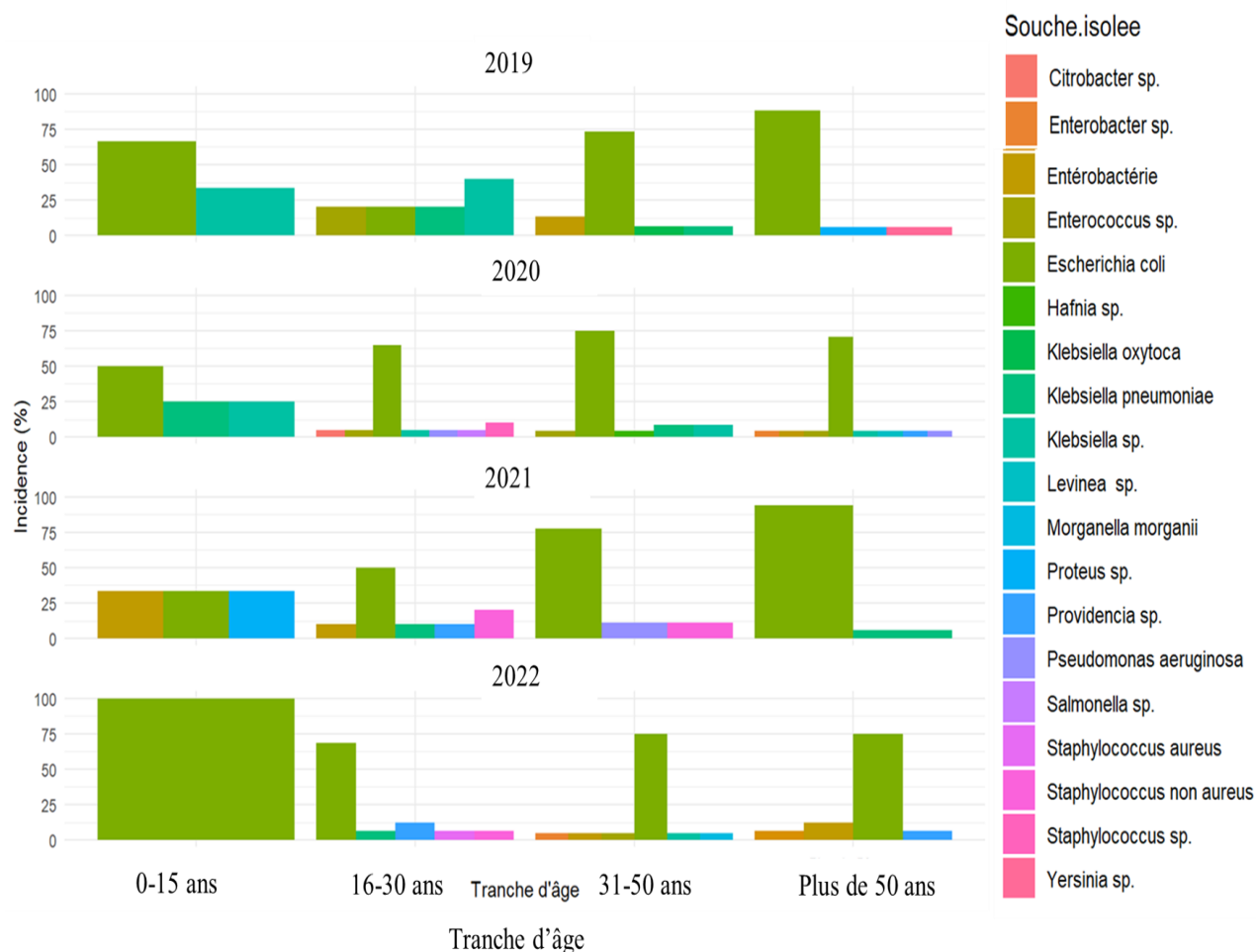


Figure 19: Fréquence d'isolement des bactéries impliquées dans les IVU par tranche d'âge en fonction des années

1.1.4. Taux de la résistance des germes impliqués dans les IVU à Daloa

1.1.4.1. Taux de la résistance des entérobactéries impliquées dans les IVU

Les résultats du taux de la résistance des entérobactéries sont représentés par la figure 20. A la lumière de cette figure, notons que toutes les entérobactéries ont développé d'importantes résistances aux antibiotiques de la famille des bêtalactamines. En effet, les entérobactéries avaient développé dans l'ensemble une résistance de 28,5 % à la Céfuroxime, 34,6 % à l'Amoxicilline, 67,6 % à l'Amoxicilline/Acide clavulanique, 48 % de résistance à la Ticarcilline, 24,6 % au Céfépime, 15,1 % au Céfotaxime, 14 % au Céfoxitime, 46,4 % à la Ceftriaxone, 23,5 % à la Cefprozidime et 22,90 % à l'Aztreonam.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Par contre, le taux de résistance des entérobactéries à l'Imipénème était de 1,1 %. Face aux antibiotiques de la famille des fluoroquinolones, la Ciprofloxacine, l'Acide nalidixique et l'Ofloxacine le taux de résistance des entérobactéries était respectivement de 36,3 %, 55,9 % et de 43 %. Quant au taux de résistance des entérobactéries uropathogènes aux antibiotiques de la famille des Aminosides, elle était de 11,2 % à l'Amikacine et de 32,4 % à la Gentamicine. L'antibiotique Triméthoprim/Sulfaméthoxazole a été le seul de la famille des Sulfamides utilisés contre les entérobactéries. Le taux de résistance des entérobactéries à cet antibiotique au cours des quatre années d'étude était de 34,1 %. En outre, le taux de résistance des entérobactéries était de 17,9 % à la Fosfomycine.

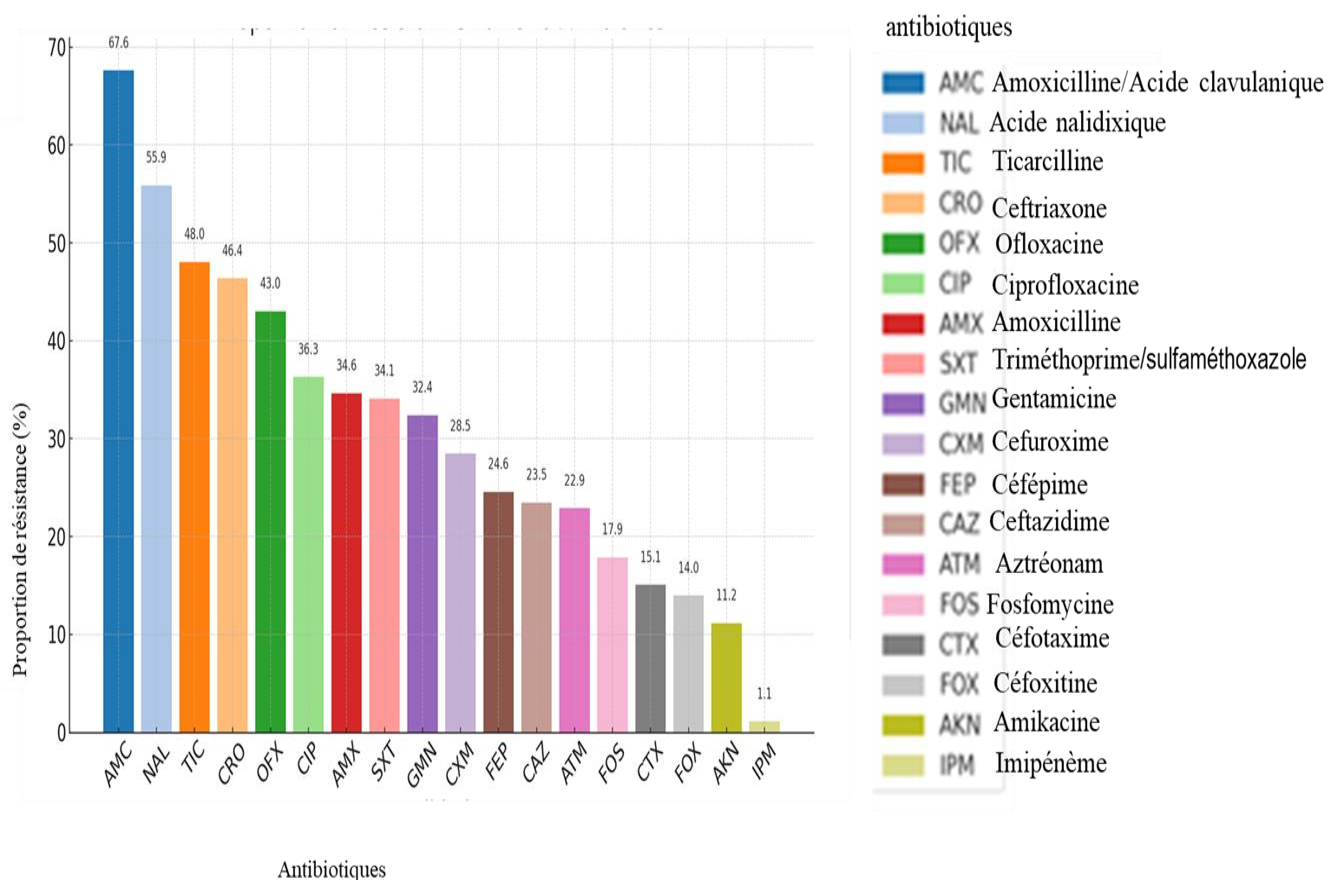


Figure 20: Taux de résistance des entérobactéries impliquées dans les IVU à Daloa

1.1.4.2. Taux de la résistance des entérobactéries les plus impliquées dans les IVU à Daloa

Conformément à la répartition des espèces bactériennes isolées dans les infections urinaires au niveau de Daloa, l'étude de l'incidence de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries les plus impliquées dans les IVU à Daloa a été réalisée. Les résultats montrent des résistances élevées à l'ensemble des antibiotiques usuels. Les isolats de *Enterobacter sp.*, ont été résistantes à plusieurs antibiotiques mais les plus importantes ont été observées à la Fosfomycine (FOS), à l'Amoxicilline/Acide clavulanique (AMC), au Triméthoprim/sulfaméthoxazole (SXT) et au Céfoxitine (FOX) avec un taux de 100 %. Cependant, cette espèce s'est avérée plus sensible à la Ciprofloxacine (CIP), au Céfépime (FEP), à la Gentamicine (GMN), à l'Imipénème (IPM) et au Céfotaxime (CTX) avec des proportions de résistance de 0 %. Concernant les souches de *Escherichia coli*, elles ont développé des résistances plus marquées à la Ticarcilline (TIC) avec un taux de 91 %, à l'Amoxicilline (AMX) de 85 %, au Triméthoprim/sulfaméthoxazole (SXT) de 84 % et à l'Acide Nalidixique (NAL) de 82 %. Cependant une sensibilité considérable de cette espèce a été observée face à l'IMP (1 %). Pour l'espèce *Klebsiella pneumoniae*, les analyses ont mis en exergue une résistance plus accentuée à l'AMX et à la TIC avec une proportion de 100 %, suivi de la GMN et de la FOS avec des taux de résistances respectives de 75 % et de 67 %. Par contre aucune résistance n'a été observée vis à vis de l'IMP, de l'ATM et de CTX. Aussi, le taux de résistance des bactéries appartenant à *Klebsiella sp.* était de 100 % à CXM, TIC, SXT, AMX et CAZ. Mais, elles ont été sensibles à IMP, AKN, et CTX. Quant aux souches de *Proteus sp.* Elles ont développé une résistance de 50 % à NAL, TIC et au SXT. En ce qui concerne, les souches de *Providencia sp.* Elles ont été résistantes de 100 % à CIP, TIC, SXT et AMX. L'incidence des résistances des entérobactéries non identifiées était de 100 % à AMX et CTX et 80 % à OFX. Cependant, ces bactéries ont été sensibles à l'IMP, à la GMN et à la AKN (Figure 21).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

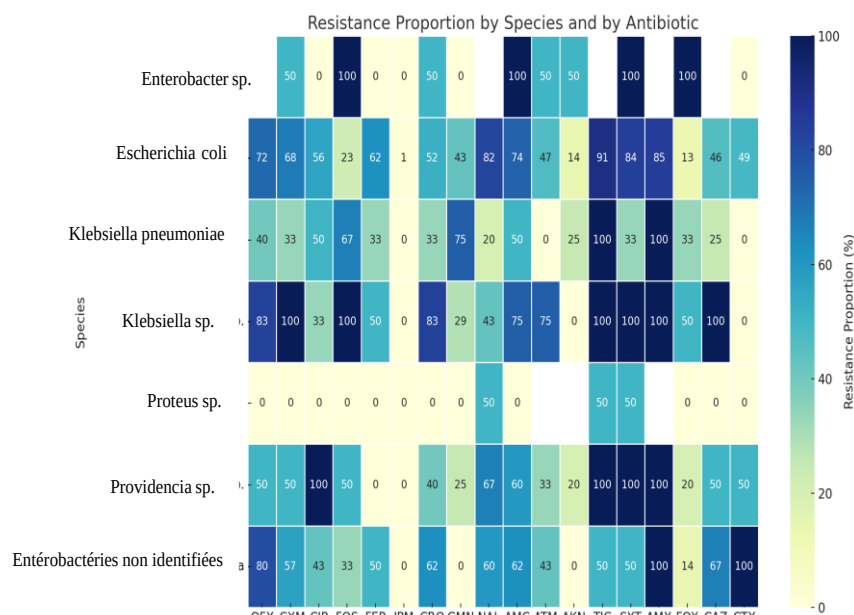


Figure 21: Taux de résistance des entérobactéries les plus impliquées dans les IVU

1.1.4.3. Taux de résistance aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus*

Les taux de la résistance des souches de *Staphylococcus* aux antibiotiques sont représentés par la figure 22. Les analyses montrent que toutes les souches de *Staphylococcus* sp. ont développé une très grande résistance (100 %) à l'Ofloxacine (OFX), à la Clindamycine (CMN), à l'Erythromycine et à la Triméthoprine/sulfaméthoxazole (SXT). Aussi, les souches de *Staphylococcus non aureus* (non identifiées) ont développé une importante résistance face à l'Acide Fusidique (FA) avec un taux de 100 % et 66,7 % à l'érythromycine (ERY). Quant aux souches de *Staphylococcus aureus*, elles ont résisté à 100 % à l'Acide fusidique (FA), la Gentamicine (GMN), la Céfoxitine (FOX) et l'Erythromycine (ERY).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

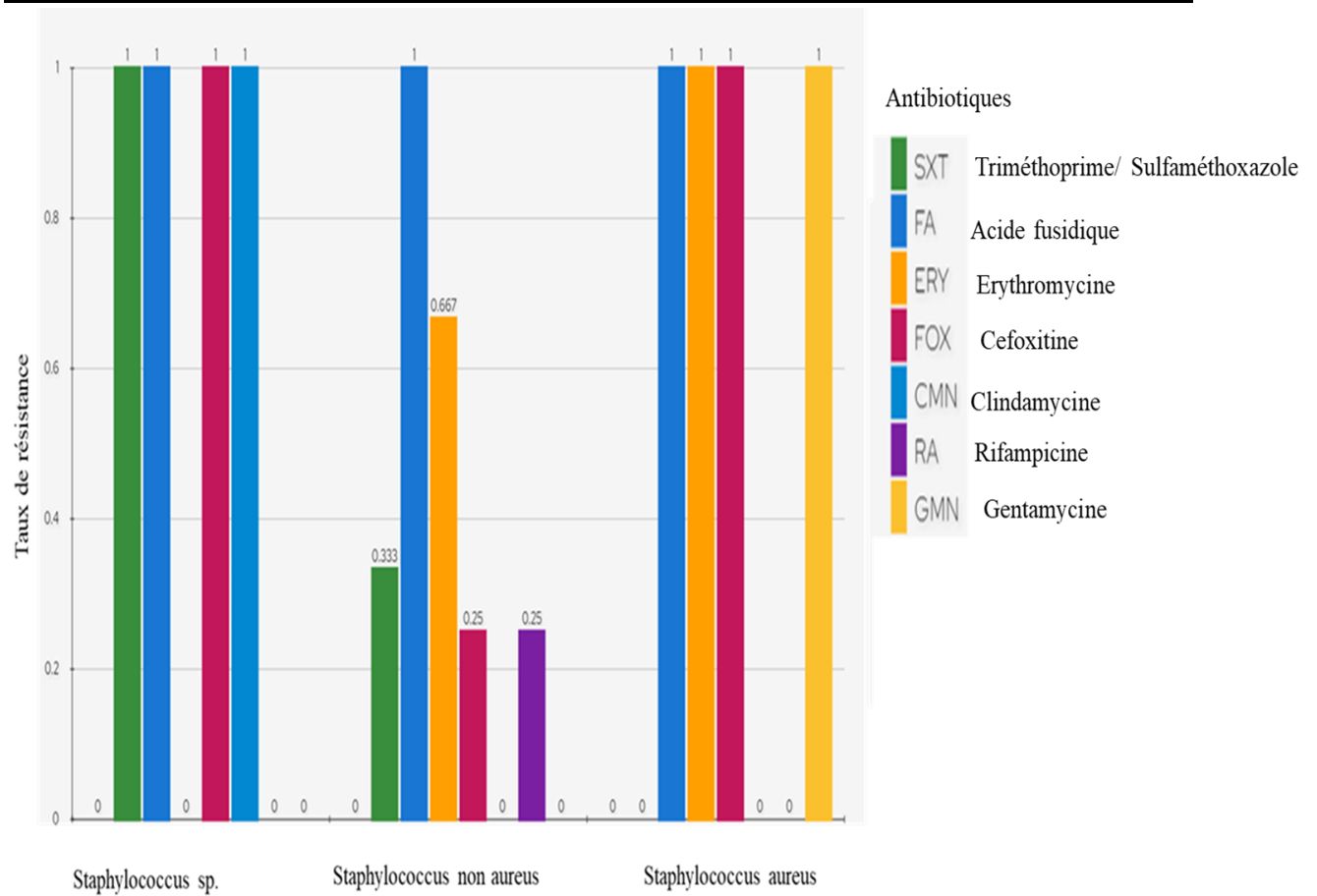


Figure 22: Taux de résistance des souches de Staphylococcus aux antibiotiques

1.1.4.4. Taux de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

La figure 23 présente le taux de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques usuels. Les résultats ont révélé des taux de résistance élevés de 50 % à la Ceftazidime (CAZ), la Ciprofloxacine (CIP), et à la Ticarcilline (TIC). Par contre les souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été 100 % sensibles à la molécule de l'IMP

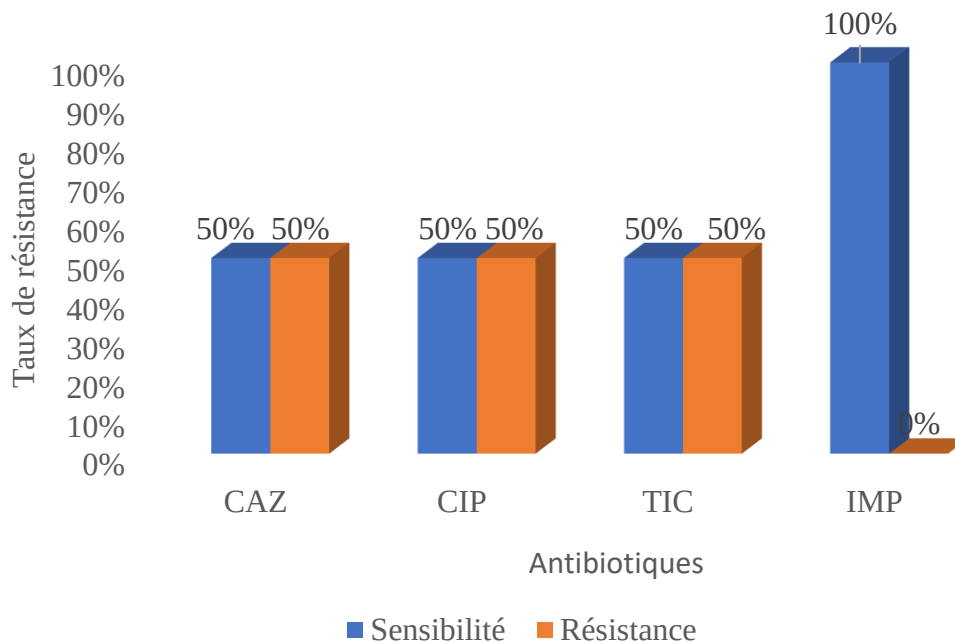


Figure 23: Taux de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

1.1.4.5. Prévalence des phénotypes de résistances aux bêta lactamases à spectre élargi (BLSE) observé chez les entérobactéries isolées

Les tests de sensibilité réalisés durant les 3 années dans le Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa ont permis de déceler un seul phénotype de résistance au niveau des espèces d'entérobactéries. Le phénotype de résistance observé était la bêtalactamase à spectre élargi (BLSE). La prévalence de ce phénotype était de 15,08 % chez les entérobactéries isolées. Cependant, l'espèce *Escherichia coli* représentait 81,48 % des BLSE. Par ailleurs, les entérobactéries non identifiées ont représenté 14,81 % des BLSE et 3,70 % était attribué à *Klebsiella sp*

1.2. Identification des isolats bactériens

Les gènes de l'ADNr 16S ont été amplifiés à l'aide d'amorces spécifiques. La figure 24 présente le profil électrophorétique des produits de la PCR après migration et révélation sous rayons UV. Après séquençage des amplicons, les BLAST effectués avec les données du catalogue de NCBI ont montré la présence des espèces bactériennes consignées dans le tableau VI. Les résultats de l'analyse BLAST indiquent que sur les 28 isolats bactériens testés, 21 soit 75 % ont un pourcentage de similarité inférieur à 97 %. Donc l'analyse a pu mettre en évidence le genre de 75 % des isolats bactériens collectés. Par contre, 5/28 soit 17,85 % ont un pourcentage de similarité supérieur à 97 %. Il ressort de ces résultats que l'analyse a pu caractériser le genre et l'espèce de 17,85 % isolats testés. L'analyse BLAST n'a pu caractériser la similarité de 2 isolats comme illustré dans le tableau VII.

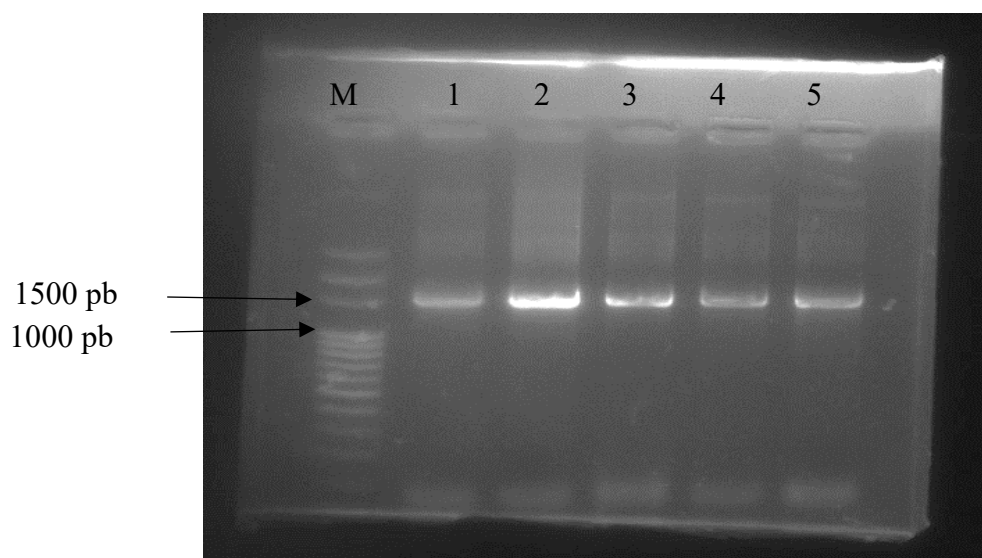


Figure 24: Profil électrophorétique des gènes de l'ADNr 16S des 5 isolats bactériens

M : Marqueur moléculaire 1500pb
1 à 5 : Amplicons des fragments d'ADN des échantillons

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Tableau VII : Similarité entre les isolats reçus et les espèces du catalogue de NCBI

Code labo	Isolats reçus	Espèces identifiées	Score maximal	Score total	% de couverture	E-value	% d'identité	Longueur d'accession	No d'accession
21LM874	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Bacillus sp.</i>	1347	1347	100%	0.0	94.17%	1097	MK509798.1
19LM1167	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	1622	1622	83%	0.0	96.81%	1179	MT154225.1
20LM279	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	874	874	99%	0	97,07%	1200	MN597968.1
20LM117	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella flexneri</i>	1478	1478	80%	0	94,87%	953	OU889288.1
21LM1136	<i>Providencia sp.</i>	<i>Bacillus cereus</i>	867	867	79%	0	94,81%	1440	KU922458.1
22LM11	<i>Klepsiella sp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	691	691	91%	0	77,51%	1022	MZ853764.1
21LM739	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	867	867	97%	0	96,81%	1439	PP510489.1
20LM864	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	1572	9409	87%	0	95,26%	2798910	CP141477.1
21LM367	<i>Staphylococcus non aureus</i>	<i>Uncultured bacterium</i>	756	756	95%	0.0	83.79%	1375	JF121123.1
20LM353	<i>Providencia sp.</i>	<i>Bacillus cereus</i>	1447	1447	79%	0	95,71%	1221	MZ771250.1
19LM173	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Escherichia coli</i>	73,11	73,11	19%	4.10^{-8}	92,31%	929	OU889286.1
21LM136	<i>Proteus sp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	414	414	63%	2.10^{-110}	76,61%	930	LC798345.1
20LM697	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	1602	1602	97%	0	96,18%	1176	MT154224.1
20LM267	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	894	894	70%	0	86,62%	930	LC798345.1
21LM165	<i>Staphylococcus non aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	1530	1530	96%	0	97,73%	1014	OU633318.1
17LM392	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	1459	1459	87%	0	89,61%	1257	ON778617.1
19LM1037	<i>Proteus sp.</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	1426	1426	85%	0	95,30%	1464	MT538750.1
21LM561	<i>Staphylococcus non aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	730	730	100%	0	98,30%	822	MT550021.1
21LM07	<i>Providencia sp.</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	267	267	86%	5.10^{-66}	73,54%	1479	KY930710.1
20LM92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	1594	1594	77%	0.0	96.52%	1000	KM200326.1
21LM912	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i>	1330	1330	100%	0	96,68%	1045	KX953148.1
20LM1339	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	503	503	78%	2.10^{-137}	95.74%	1432	KU922323.1
20LM189	<i>Klebsiella sp.</i>	<i>Salmonella enterica</i>	1155	1155	98%	0	93,59%	1425	MT509425.1
20LM647	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Enterobacter hormaechei</i>	859	859	99%	0	98,34%	1124	MT515783.1
20LM554	<i>Klebsiella sp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	1009	1009	98%	0	97,59%	1462	MK886615.1
18LM293	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	750	750	97%	0	85,69%	1460	MT250914.1

RÉSULTATS ET DISCUSSION

20LM810	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella flexneri</i>	486	486	85%	2.10^{-132}	91,39%	1443	MT604864.1
20LM111	<i>Levinea sp.</i>	<i>No significant similarity</i>							

1.3. Description des profils génomiques des isolats bactériens

1.3.1. Qualité des séquences génomiques assemblées

Après le découpage des adaptateurs et le filtrage des séquences brutes sorties du séquenceur, à l'aide de l'outil Fastp, les séquences ont été assemblées *de novo*. La qualité des séquences assemblées a été évaluée à l'aide des outils CheckM et QUAST. CheckM, permet d'évaluer la qualité d'un génome à l'aide d'un ensemble plus large de gènes marqueurs spécifiques à la position d'un génome dans un arbre génomique de référence et informe sur la collocation de ces gènes. Il fournit des estimations précises de l'exhaustivité et de la contamination des génomes. Avec l'outil QUAST, la qualité du génome assemblé est basée sur les statistiques de l'assemblage tel que le N50 (longueur du plus petit contig représentant au moins 50 % de la séquence de référence). Les statistiques de la qualité des séquences assemblées sont consignées dans le tableau VIII. Il est important de noter que la qualité de l'assemblage varie selon les souches étudiées. Les isolats, 20LM111, 21LM561 et 21LM07 ont montré une meilleure couverture des séquences de références par les contigs comparativement aux souches 21LM1136 et 21LM367 en raison des valeurs de N50.

L'estimation de l'exhaustivité et de la contamination des séquences génomiques a permis de mettre en évidence que la séquence génomique de l'isolat 21LM561 était hétérogène à 85,71 %. Par contre, les génomes des isolats 20LM111, 21LM07, 21LM1136 et 21LM367 étaient homogènes. Après l'évaluation de la contamination des génomes basée sur la spécificité des gènes marqueurs, il ressort que les génomes des isolats 20LM111 et 21LM07 étaient exempte de contamination. Tandis que les isolats 21LM1136, 21LM367 et 21LM561 avaient au sein de leur génome respectivement 76,87 % et 100 % de gènes absents dans les génomes de références.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Tableau VIII : Statistiques des génomes assemblés

Isolats	Métriques	Valeurs
21LM07	# contigs	99
	# contigs (≥ 0 pb)	156
	# contigs (≥ 1000 pb)	91
	Largest contig	298311
	Total length (pb)	4007501
	Total length (≥ 0 pb)	4019830
	Total length (≥ 1000 pb)	4002254
	N50	96329
21LM1136	# contigs	440
	# contigs (≥ 0 pb)	449
	# contigs (≥ 1000 pb)	435
	Largest contig	151904
	Total length (pb)	6712893
	Total length (≥ 0 pb)	6714677
	Total length (≥ 1000 pb)	6709337
	N50	27220
21LM367	# contigs	212
	# contigs (≥ 0 pb)	279
	# contigs (≥ 1000 pb)	194
	Largest contig	1700642
	Total length (pb)	8624538
	Total length (≥ 0 pb)	8638832
	Total length (≥ 1000 pb)	8612201
	N50	129253
21LM561	# contigs	91
	# contigs (≥ 0 pb)	228
	# contigs (≥ 1000 pb)	52
	Largest contig	604178
	Total length (pb)	5161775
	Total length (≥ 0 pb)	5194003
	Total length (≥ 1000 pb)	5137496
	N50	466477
20LM111	# contigs	45
	# contigs (≥ 0 pb)	65
	# contigs (≥ 1000 pb)	38
	Largest contig	703888
	Total length (pb)	4694623
	Total length (≥ 0 pb)	4699330
	Total length (≥ 1000 pb)	4689443
	N50	373934

1.3.2. Caractéristiques des génomes annotés

L'annotation des génomes a permis de mettre en évidence la diversité génomique des 5 isolats bactériens soumis à l'étude. Le coefficient de Chargaff ou le contenu en GC des différents isolats bactériens était de 37,76 % pour l'isolat 21LM07, de 44,03 % pour l'isolat 21LM1136, de 46,33 % pour l'isolat 21LM367, 32,62 % 21LM561 et de 55,42 % pour l'isolat 20LM111 reflétant une diversité génétique considérable parmi les isolats. Par ailleurs, la taille du génome des différents isolats a été évaluée. Il ressort de cette analyse que le génome de l'isolat 21LM367 était plus long comparativement aux autres avec une taille de 8 633 314 pb suivis des isolats 21LM1136 avec 6 880 581 pb, 21LM561 avec 5 185 812 pb, 20LM111 avec une taille de 4 697 941 pb et 21LM07 avec une taille de 4 015 274 pb. Les régions codantes ou séquences codantes (CDS) dans chaque génome ont été caractérisées. L'isolat 21LM367 s'est démarqué avec 8497 CDS devant les isolats 21LM1136 avec 6963 CDS, 21LM561 avec 4986 CDS, 20LM111 avec 4401 CDS et 21LM07 avec 4229 CDS. L'analyse de prédiction génomique a révélé qu'au total 4241, 8593, 6881, 5072 et 4482 gènes ont été annotés respectivement dans les génomes des isolats bactériens 21LM07, 21LM367, 21LM1136, 21LM561 et 20LM111. Les isolats 21LM367 et 21LM1136 se distinguent particulièrement par la présence de deux régions répétées (CRISPR). Les analyses ont également mis en évidence la présence de ARNt, ARNmt, ARNr, ANRnc et des régions de ARNnc dans les différents génomes. En ce qui concerne les ARNr, 10 ont été caractérisés dans le génome de l'isolat 21LM367, 5 chez l'isolat 21LM1136, 4 dans le génome de l'isolat 20LM111, 3 dans le génome de l'isolat 21 LM561 et 2 dans le génome de l'isolat 21LM07. Les ARNt ont été prépondérants dans les génomes des isolats bactériens. Il a été annoté dans le génome de l'isolat bactérien 21LM561, 86 ARNt, 75 dans le génome de l'isolat bactérien 20LM111, 74 dans le génome de l'isolat 21LM367 tandis que 66 et 53 ARNt ont été caractérisés respectivement dans les génomes des isolats 21LM07 et 21LM1136. Les ARNmt ont été moins abondants, l'isolat 20LM111 en contenait 2 tandis que les autres isolats en contenaient que 1. Les ARNnc ont été prépondérants dans les génomes des isolats bactériens. Cinquante ARNnc ont été prédits dans le génome de l'isolat 21LM561, 76 chez l'isolat 20LM111, 68 chez l'isolat 21LM1136, 94 chez 21LM367 et 12 ARNnc dans le génome de l'isolat 21LM07. Aussi, les régions d'ARNnc ont été caractérisées dans les différents génomes. Il a été notifié la présence de 54 régions d'ARNnc dans le génome de l'isolat 21LM561, 47 chez l'isolat 20LM111, 113 chez l'isolat 21LM1136, 129 chez l'isolat 21LM367 et 78 dans le génome de l'isolat bactériens 21LM07. Les figures 25 à 29 montrent les représentations graphiques des différents génomes annotés.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

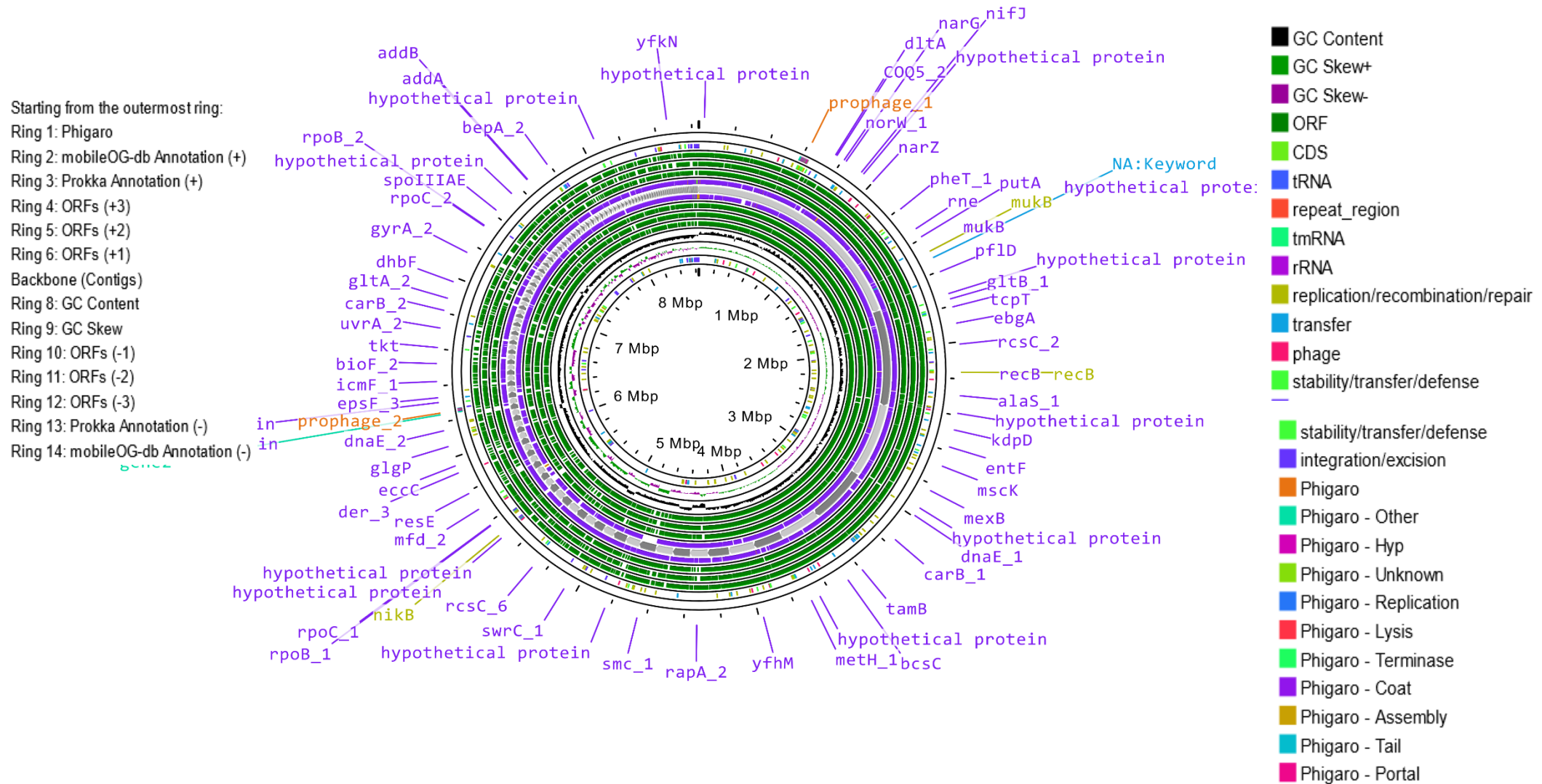


Figure 25 : Représentation graphique du génome annoté de l'isolat 21LM367 réalisée avec l'outil Proskee

RÉSULTATS ET DISCUSSION

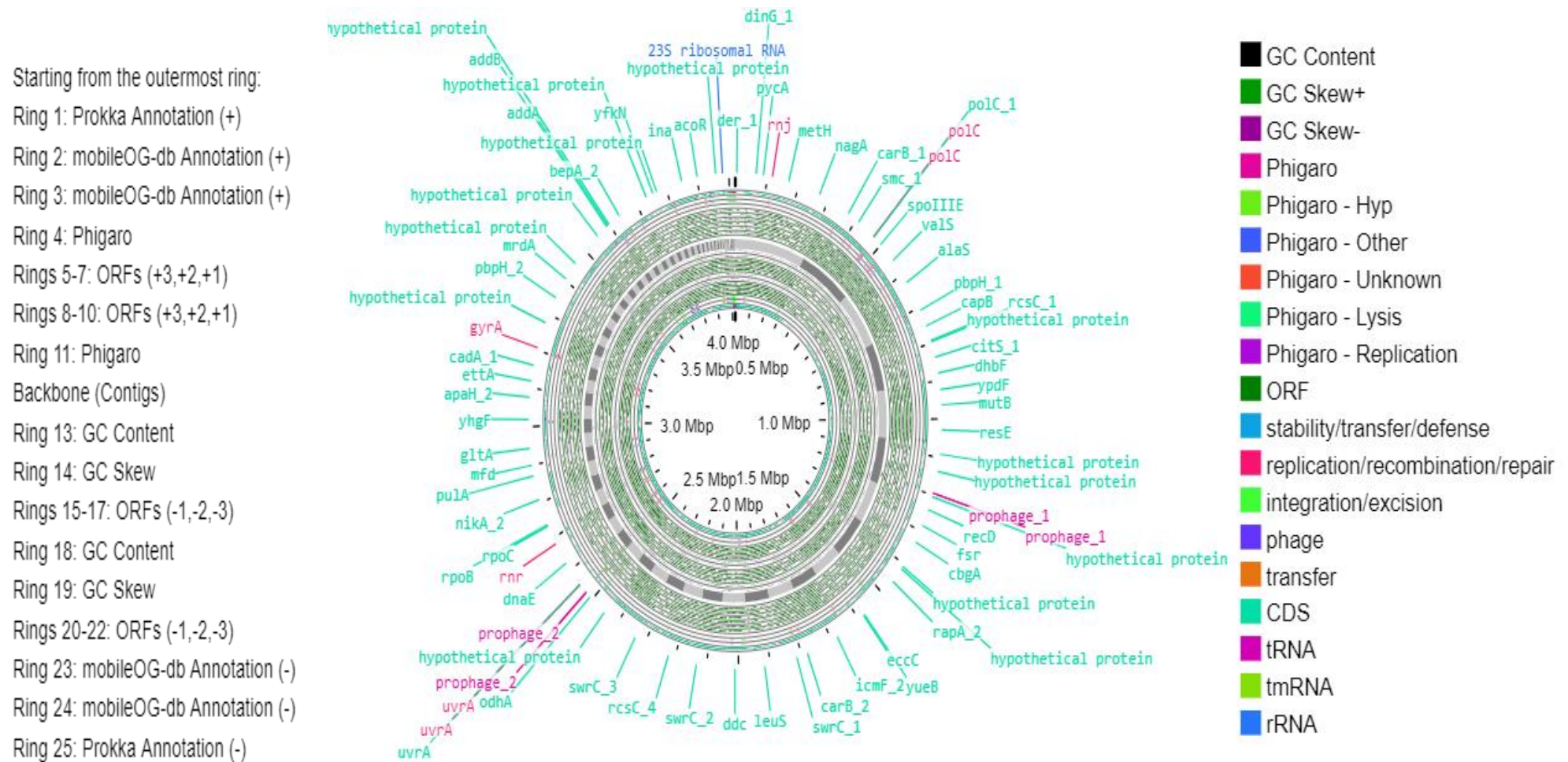


Figure 26 : Représentation graphique du génome annoté de l'isolat 21LM07 réalisée avec l'outil Proskee

RÉSULTATS ET DISCUSSION

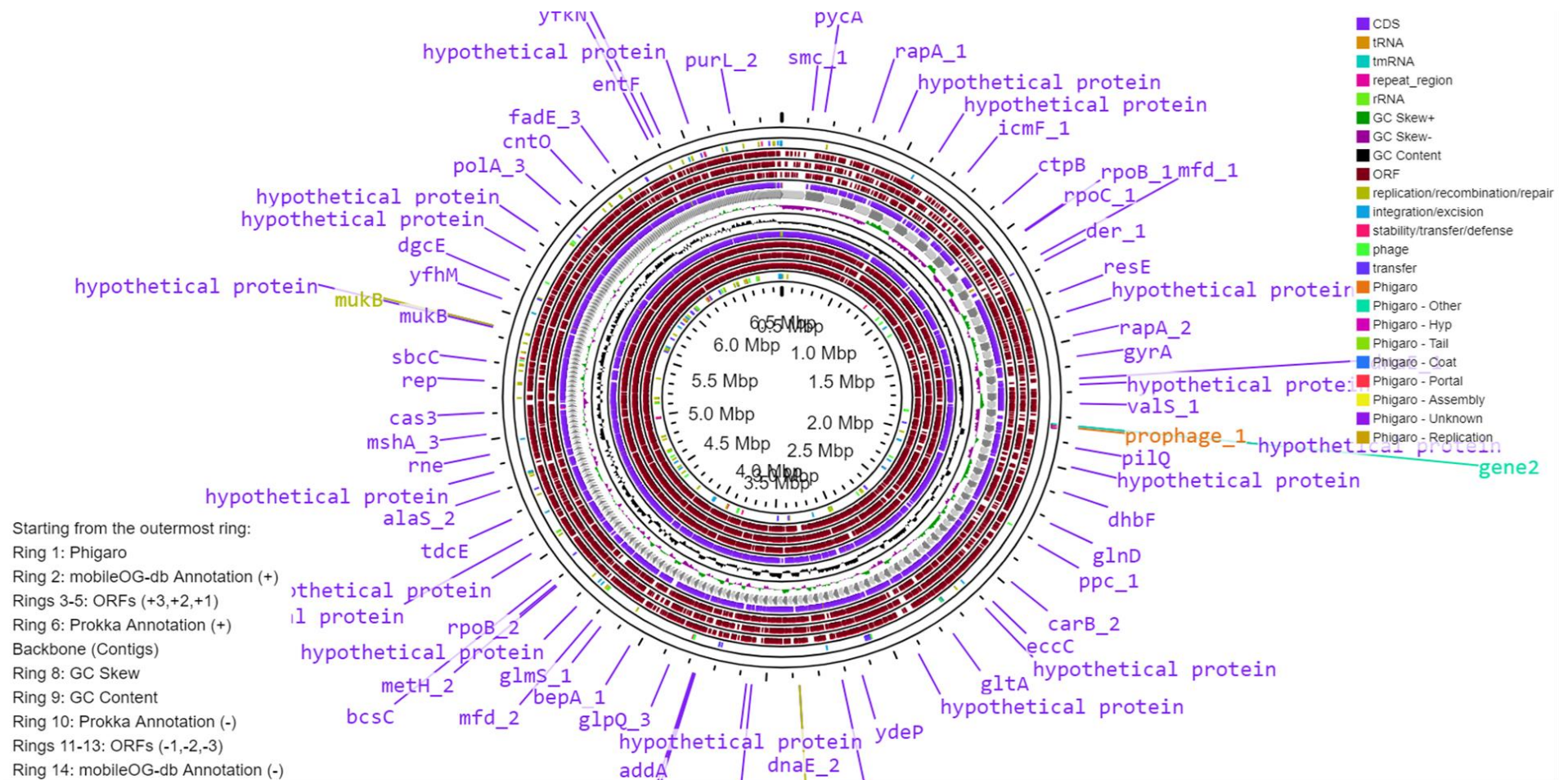


Figure 27 : Représentation graphique du génome annoté de l'isolat 21LM1136 réalisée avec l'outil Proskee

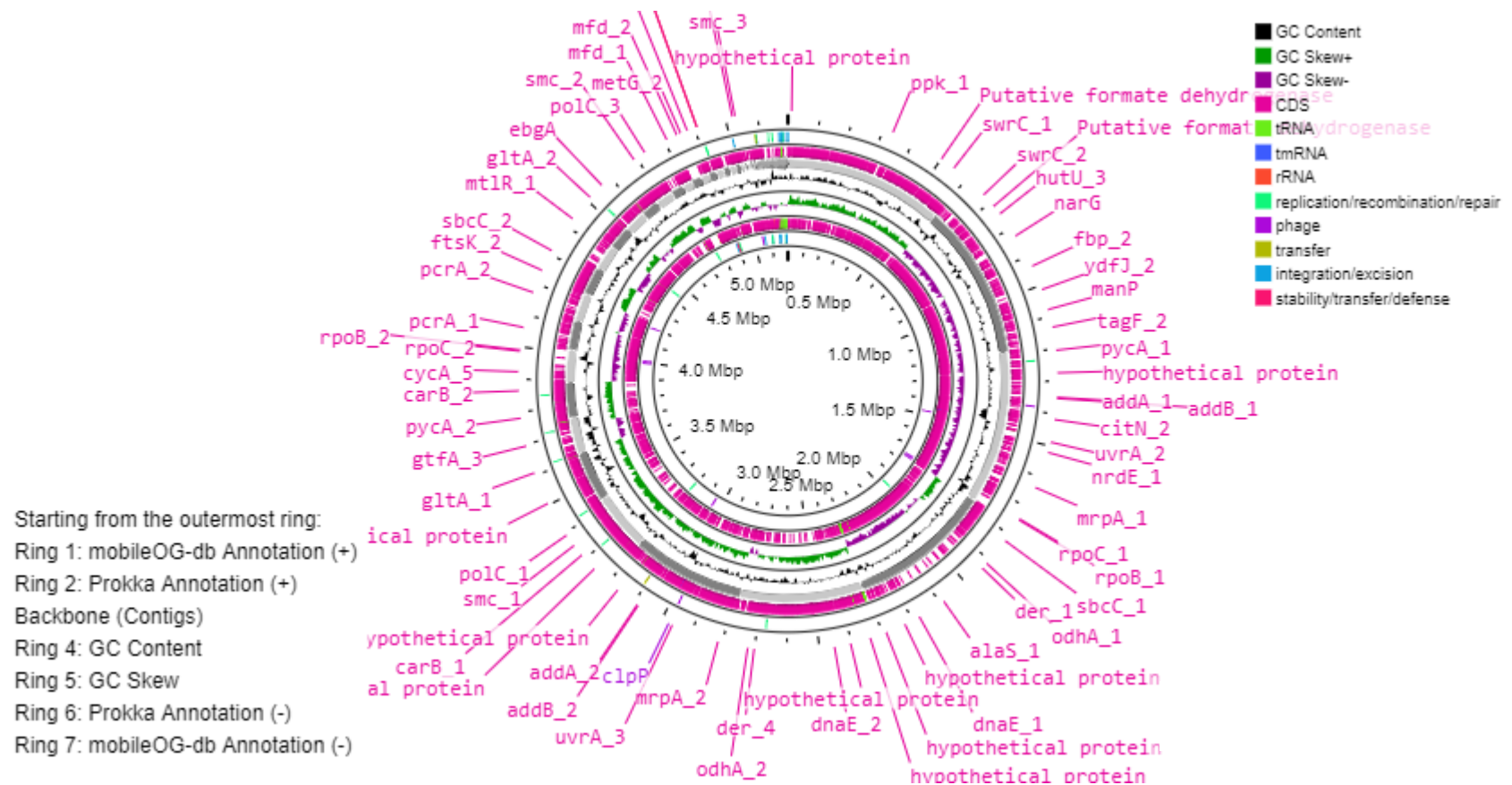


Figure 28 : Représentation graphique du génome annoté de l'isolat 21LM561 réalisée avec l'outil Proskee

1.3.3. Identification taxonomique et analyse phylogénétique des isolats bactériens

1.3.3.1. Identification taxonomique et analyse phylogénétique des isolats 21LM07, 21LM367 et 21LM1136

La position taxonomique des trois isolats bactériens, 21LM07, 21LM367 et 21LM1136 isolés des échantillons d'urines au Centre Hospitalier Régional de Daloa a été examinée à l'aide de l'approche bioinformatique. Les analyses phylogénétiques effectuées sur les séquences génomiques complètes ont démontré que les trois isolats appartenaient à la famille des Bacillaceae et forment un clade au sein du cluster contenant *Priestia veravalensis* DSM28242T, et *Priestia flexa* NBRC 15715. Cependant, les valeurs de l'hybridation numérique ADN-ADN (dDDH) et de l'identité nucléotidique moyenne (ANI) ont révélé que les trois isolats (21LM367, 21LM1136 et 21LM07) soumis à l'étude étaient des espèces similaires et identiques à *Priestia flexa* NBRC15715 avec des valeurs d'ANI de 97,28 %, 97,89 % et 98,98 % et les Valeurs dDDH oscillant autour de 99 %. Sur la base de la comparaison des génomes entiers à d'autres génomes de référence à l'aide de l'outil Kraken2, il ressort que les isolats codifiés 21LM367, 21LM1136 et 21LM07 étaient des souches de *Priestia flexa* avec des pourcentages nucléotides fragmentés respectifs de 65,01%, 56,60% et 84,06%. L'arbre phylogénétique réalisé à travers l'alignement de séquences multiples est représenté par la figure 30.

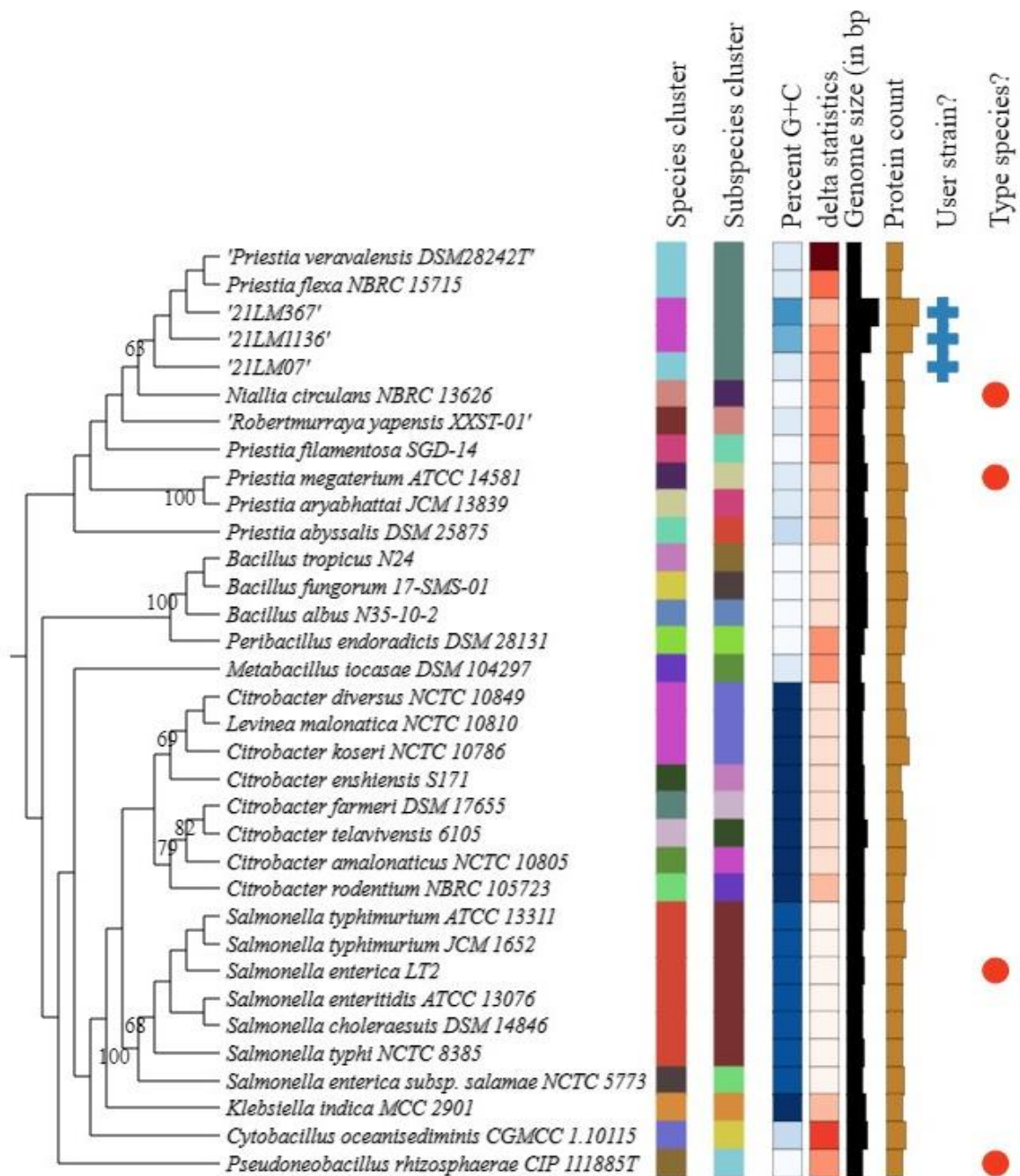


Figure 30 : Arbre phylogénétique contenant les isolats 21LM07, 21LM367, 21LM1136 généré avec TYGS

1.3.3.2. Identification taxonomique et analyse phylogénétique de l'isolat 20LM111

La classification taxonomique de l'isolat bactérien, 20LM111 a été réalisée à l'aide de l'approche bioinformatique. Les analyses phylogénétiques effectuées sur la séquence génomique complète ont démontré que cet isolat forme un clade au sein du cluster contenant *Enterobacter hormaechei* subsp. *xiangfangensis* LMG 27195 et *Enterobacter hormaechei* subsp. *oharae* DSM 166875. La comparaison du génome entier de l'isolat 20LM111 à d'autres génomes de référence à l'aide de l'outil Kraken2 basé sur un alignement de nucléotides fragmentés, a révélé que l'isolat codifié 20LM111 était une souche de *Enterobacter hormaechei* avec un pourcentage 4,59%. Cependant, la détermination des valeurs de l'hybridation numérique ADN-ADN (dDDH) et de l'identité nucléotidique moyenne (ANI) ont révélé que l'isolat 20LM111 soumis à l'étude était similaire à *Enterobacter hormaechei* subsp. *xiangfangensis* LMG 27195 avec des valeurs d'ANI de 98,98 % et de dDDH de 93,4 %. L'arbre phylogénétique réalisé à travers l'alignement de séquences multiples est représenté par la figure 31.

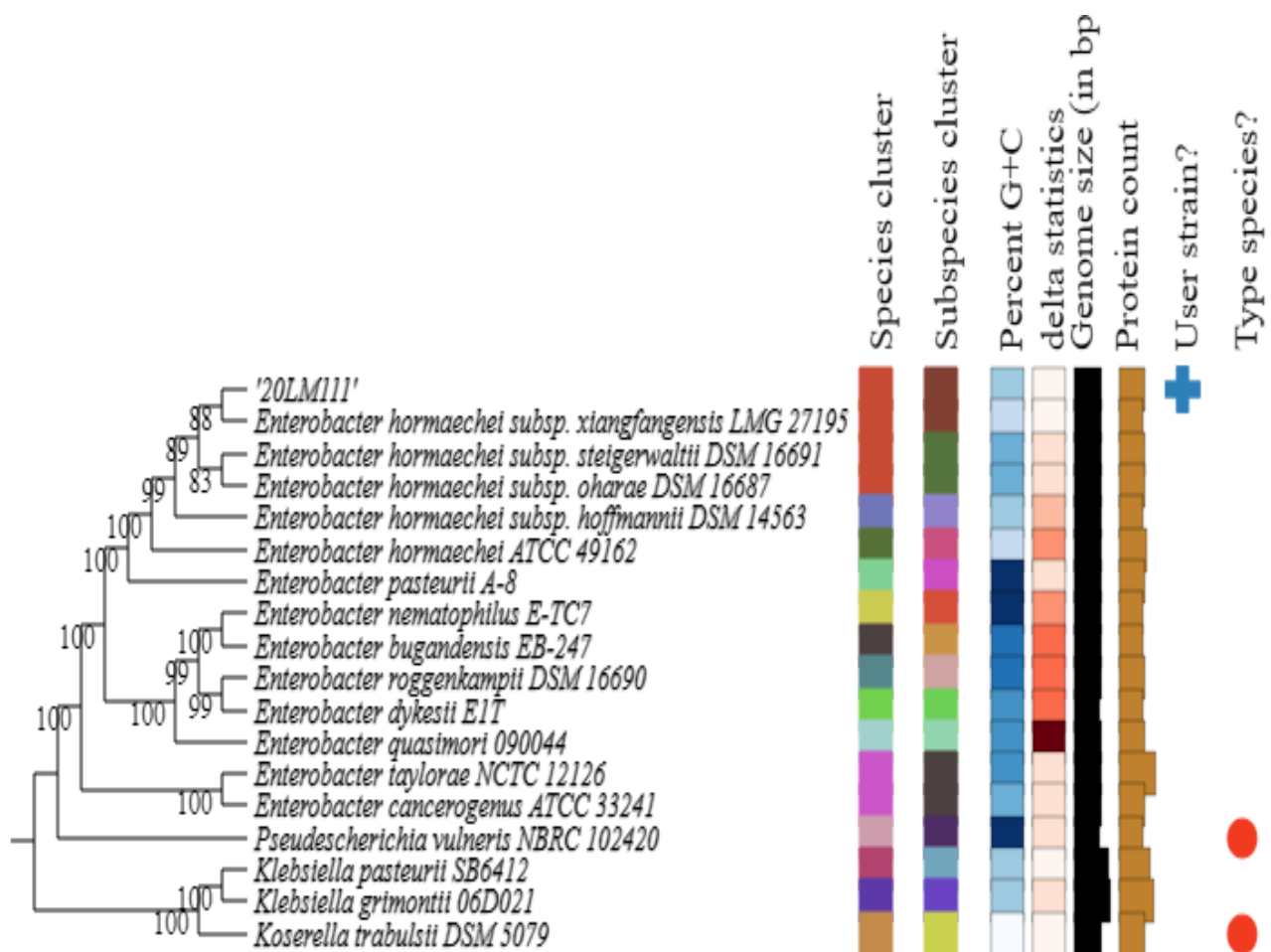


Figure 31 : Arbre phylogénétique contenant l'isolat 20LM111 généré avec TYGS

1.3.3.3. Identification taxonomique et analyse phylogénétique des isolats 21LM561

L'identification taxonomique de l'isolat bactérien, 21LM561 isolé des échantillons d'urines au Centre Hospitalier Régional de Daloa, a été réalisée à l'aide de l'approche bioinformatique. L'analyse phylogénétique effectuée sur la séquence génomique complète à l'aide de l'outil tygs en ligne a permis de mettre en évidence que cet isolat forme un clade au sein du cluster contenant *Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis* CCUG 38042, et *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305. Cependant, les valeurs de l'hybridation numérique ADN-ADN (dDDH) et de l'identité nucléotidique moyenne (ANI) ont révélé que l'isolat 21LM561 soumis à l'étude était similaires à la souche de *Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis* CCUG 38042 avec des valeurs d'ANI de 98,59 % et de dDDH de 64,3 %. La différence du coefficient de Chargaff entre les différentes souches de *Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis* CCUG 38042, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305 et l'isolat 21LM 561 était de 0,35 % et 0,55 % respectivement. Sur la base de la comparaison du génome entier à d'autres génomes de référence à l'aide de l'outil Kraken2 basé sur un alignement de nucléotides fragmentés, il ressort que l'isolat codifié 21LM 561 était une souche de *Staphylococcus saprophyticus* avec un pourcentage 61,58%. Au vu de tout ce qui précède, il a été conclu que l'isolat 21LM561 est une souche de *Staphylococcus saprophyticus*. L'arbre phylogénétique réalisé à travers l'alignement de séquences multiples est représenté par la figure 32.

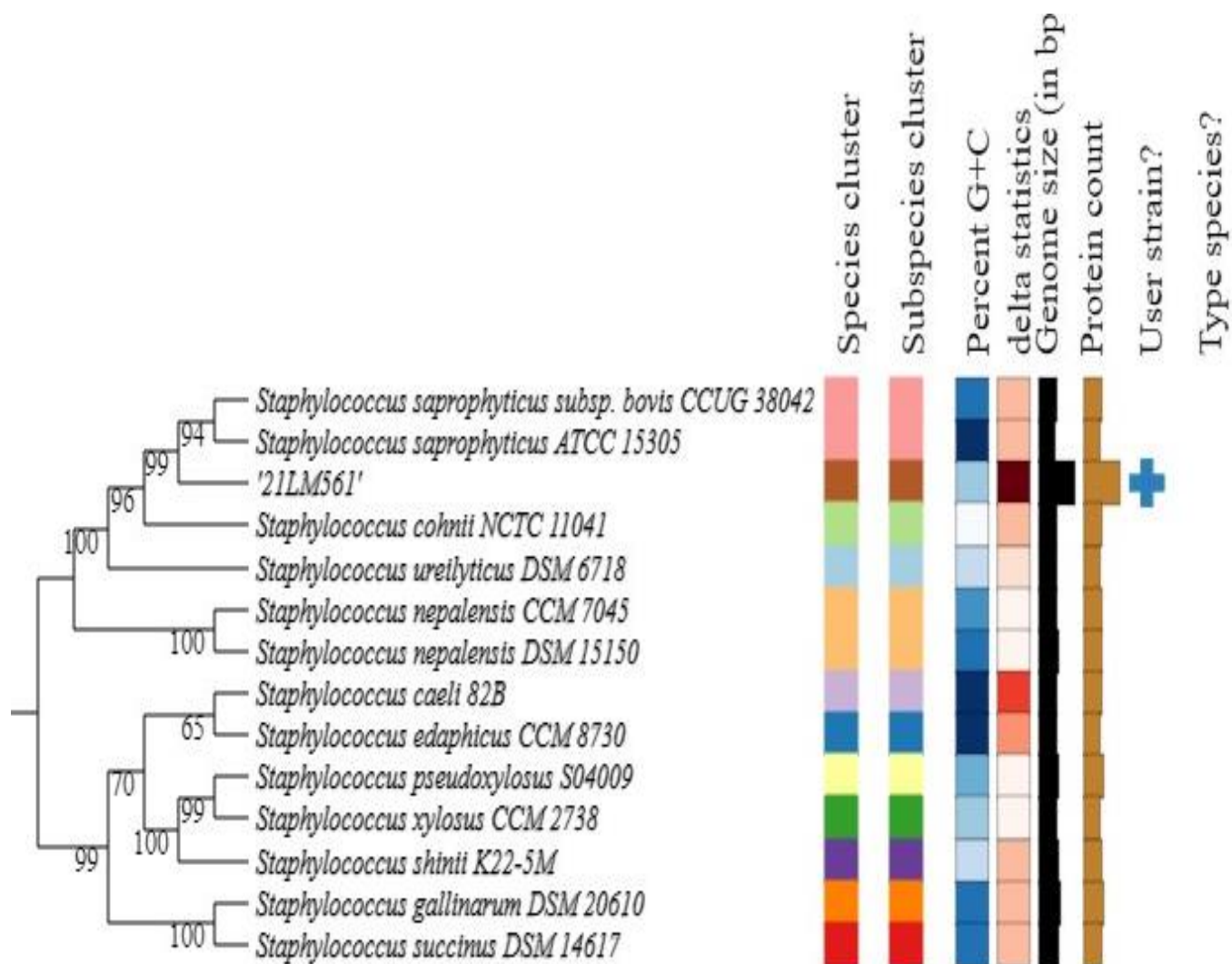


Figure 32 : Arbre phylogénétique contenant l'isolat 21LM561 généré avec TYGS

1.3.4. Prédiction de la résistance et de la virulence intrinsèque des isolats bactériens

La prédiction des gènes de résistance et de virulence intrinsèques a été réalisée sur les bases de données ResFinder et VFDB. Il ressort de cette analyse sur la base de données VFDB qu'aucun gène de virulence intrinsèque n'a été prédit dans les génomes des isolats dénommés 21LM1136, 20LM111, 21LM561 et 21LM07. Par contre il a été prédit 9 gènes conférant la virulence à l'isolat 21LM367 qui sont consignés dans le tableau IX. Quant à la résistance intrinsèque des isolats bactériens soumis à l'étude, aucun gène de résistance n'a été prédit dans le génome entier de l'isolat 21LM07. Mais deux gènes de résistance ont été prédits dans le génome entier de la souche de *Staphylococcus saprophyticus* 21LM561 qui sont *msr(A)_2* et *erm(44)_1* avec des pourcentages de couverture 100 % et de similarité respectifs de 96.93% et 84.84%. Ces gènes ont été enregistrés sur les numéros d'accèsion respectifs AB013298 et HG796218. Ils confèrent à cette souche la résistance intrinsèque à plusieurs antibiotiques appartenant à différentes familles notamment à l'Erythromycine et à l'Azithromycine appartenant à la famille des Macrolides, à la Telithromycine qui appartient à la famille des Kétolides, à la Quinupristine et la Pristinamycine appartenant à la famille des Streptogramines, à la Lincomycine et Clindamycine appartenant à la famille des Lincosamines et à la Virginiamycine, un antibiotique anti-staphylococcique. Dans le génome entier de la souche de *Priestia flexa* 21LM367, trois (3) gènes de résistance (*blaMAL-1_2*, *mdf(A)_1* et *tet(K)_1*) ont été prédits. Ces gènes confèrent à cette souche la résistance intrinsèque aux bêtalactamases et aux cyclines. Par ailleurs, 6 gènes de résistance (*dfrA14_5*, *qnrS1_1*, *oqxA_1*, *oqxB_1*, *blaACT-16_1* et *fosA_7*) ont été prédits dans le génome entier de la souche de *Enterobacter hormaechei* 20LM111 lui conférant la résistance intrinsèque à plusieurs antibiotiques appartenant à diverses familles notamment à la Triméthoprimine qui appartient à la famille des diaminopyrimidines, à la Ciprofloxacine de la famille des fluoroquinolones, à l'acide nalidixique de la famille des quinolones et à la Fosfomycine de la famille des acides phosphoniques. Quant à la souche de *Priestia flexa* 21LM1136, un seul gène le *tet(K)* lui conférant la résistance à la doxycycline et la tétracycline deux antibiotiques de la famille des cyclines a été prédit dans son génome. Par contre aucun gène de résistance n'a été prédit dans le génome entier de *Priestia flexa* 21LM07.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Tableau IX : Facteurs de virulence de la souche de *Priestia flexa* 21LM367

Gènes	%Couverture	%Identité	No Accession	Produits
<i>fyuA</i>	100.00	98.57	NP_405467	(fyuA) pesticin/yersiniabactin receptor protein [Yersiniabactin (VF0136)] [<i>Yersinia pestis</i> CO92]
<i>ybtE</i>	100.00	97.84	NP_405468	(ybtE) yersiniabactin siderophore biosynthetic protein [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92]
<i>ybtU</i>	100.00	99.36	NP_405470	(ybtU) yersiniabactin biosynthetic protein YbtU [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92]
<i>irp1</i>	100.00	98.59	NP_405471	(irp1) yersiniabactin biosynthetic protein Irp1 [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92]
<i>irp2</i>	100.00	98.84	NP_405472	(irp2) yersiniabactin biosynthetic protein Irp2 [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92]
<i>ybtA</i>	100.00	99.27	NP_405473	(ybtA) transcriptional regulator YbtA [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92]
<i>ybtP</i>	100.00	98.67	NP_405474	(ybtP) lipoprotein inner membrane ABC-transporter [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92]
<i>ybtQ</i>	100.00	98.22	NP_405475	(ybtQ) inner membrane ABC-transporter YbtQ [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92]
<i>ybtX</i>	100.00	98.36	NP_405476	(ybtX) putative signal transducer [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92]

1.3.5. Prédiction des éléments génétiques mobiles

La prédiction des éléments génétiques mobiles dans les séquences des 5 souches soumises à l'étude a permis d'enregistrer la présence de plasmides, de phages, de cassettes d'intégrons en association avec des îlots de résistance. Les résultats de la caractérisation des éléments génétiques mobiles incorporés dans les génomes des isolats bactériens sont consignés dans le tableau X. La détection de la présence de plasmides dans les différentes séquences à l'aide de l'outil plasmidFinder a permis de prédire deux séquences plasmidiques en particulier IncI2 et rep7a dans les génomes des isolats 21LM367 et 21LM1136, IncFIB(pQil) et IncR dans le génome de l'isolat 20LM111 et rep7a et repUS10, dans le génome de l'isolat 21LM561. Tandis que l'isolat 21LM07 s'est distinct par l'absence de plasmides dans son génome. Outre les Plasmides, la présence des régions de phages a été prédite dans les différentes séquences génomiques des 5 isolats bactériens soumis à l'étude. Dans le génome de l'isolat 21LM367 une seule région de phage intacte a été prédit, et cette région avait une similarité avec le PHAGE-Enteromorph-237-NC-019704(16). Aussi, dans le génome de l'isolat 21LM561 une région de phage intacte similaire au phage PHAGE_Staphy_CNPx_NC_031241(10) a été prédite. Par contre, dans les génomes des isolats 21LM07 et 21LM1136, deux régions de phage ont été prédites dont une région de phage intacte et une région de phage incomplète dans chacun de ces deux génomes. Les régions de phage intactes prédites avaient une similarité avec le PHAGE-Bacillus-PM1-NC-020883 (12). Tandis que les régions de phage incomplètes étaient respectivement similaires au PHAGE-Brevibacterium-Sundance-NC-028749(2) et PHAGE-Geobacillus-E3-NC-029073(2). Quatre régions de phage ont été prédites dans les génomes de l'isolat 20LM111, dont trois régions de phage intactes similaires aux phages PHAGE_Enteromorph_P4_NC_001609(7), PHAGE_Erwinia_EtG_NC_047833(27) et PHAGE_Enteromorph-237-NC-019704(15) et une région de phage incomplète, similaire au PHAGE_Escherichia_HK639_NC_016158(20).

Tableau X : Eléments génétiques mobiles contenus dans les différents génomes

Isolats	Eléments génétiques mobiles	Nombre
21LM07	Intégration/excision	55
	Réplication/recombinaison/réparation	46
	Phage	25
	Stabilité/transfert/défense	08
	Transfert	19
	Plasmides	00
21LM1136	Intégration/excision	55
	Réplication/recombinaison/réparation	133
	Phage	55
	Stabilité/transfert/défense	31
	Transfert	76
	Plasmides	02
21LM367	Intégration/excision	76
	Réplication/recombinaison/réparation	163
	Phage	68
	Stabilité/transfert/défense	39
	Transfert	92
	Plasmides	02
21LM561	Intégration/excision	39
	Réplication/recombinaison/réparation	159
	Phage	38
	Stabilité/transfert/défense	16
	Transfert	26
	Plasmides	02
20LM111	Intégration/excision	54
	Réplication/recombinaison/réparation	130
	Phage	121
	Stabilité/transfert/défense	38
	Transfert	53
	Plasmides	02

1.3.6. Prédiction de la résistance et de la virulence plasmidique

La prédiction des gènes de résistance aux antibiotiques liés aux plasmides a été réalisé sur la base de données ResFinder. En effet, l'analyse des différents contigs plasmidiques sur cette base de données a permis de prédire la présence d'un gène de résistance, particulièrement le tet(K) conférant la résistance médiée par les plasmides à la tétracycline et à la doxycycline, chez les isolats 21LM367 et 21LM1136 avec un pourcentage d'identité et de couverture de 100 % puis de numéro d'accèsion U38656.

Pour l'isolat 20LM111, les gènes *dfrA14* et *qnrS1* lui conférant une résistance au triméthoprim (diaminopyrimidine) et à la ciprofloxacine (fluoroquinolones), respectivement ont été prédits dans les séquences plasmidiques. Par contre aucun gène de résistance n'a été prédits dans cette base de données liées aux plasmides de la souche de *Staphylococcus saprophyticus* 21LM561.

La recherche de gènes de virulence portés par les plasmides a été réalisée à travers l'exploration sur la base de données VFDB. Les isolats 21LM561, 21LM367, et 20LM111 n'ont révélé aucun gène de virulence plasmidique selon la base VFDB, tandis que l'isolat 21LM1136 s'est démarqué par la présence d'un facteur de virulence lié aux plasmides. En effet, le gène *SenB* (enterotoxine) avec pour pourcentage de couverture de 99,91% et d'identité de 98,59% a été prédit comme facteur de virulence liés aux plasmides de l'isolat 21LM1136.

1.3.7. Prédiction de la résistance et de la virulence chromosomique

La prédiction de la résistance et de la virulence chromosomiques a été réalisée sur la base de données ResFinder et VFDB. Ainsi, la prédiction des gènes de résistance laisse entrevoir aucun gène de résistance n'est situé sur les séquences chromosomiques de l'isolat 21LM07 et l'isolat 21LM1136. Par contre, 4 gènes (*oqxA_1*, *oqxB_1*, *blaACT-16_1* et *fosA_7*) conférant la résistance à l'acide nalidixique (quinolone), à la Ciprofloxacine (fluoroquinolone), aux bêtalactamines et à la Fosfomycine (acide phosphonique) ont été prédits sur les séquences chromosomiques de l'isolat 21LM561 et de l'isolat 20LM111. Tandis que deux gènes de résistance (*blaMAL-1_2* et *mdf(A)_1*) médiés par les séquences chromosomiques ont été prédits chez l'isolat 21LM367. Ces gènes traduisent la résistance au Bêtalactamines et aux Macrolides. En ce qui concerne la virulence, à l'exception de *Priestia flexa* 21LM367 qui porte 11 facteurs de virulence sur sa séquence chromosomique aucun facteur de virulence n'a été prédits dans les séquences chromosomiques des autres isolats bactériens. Les facteurs de virulence liés au chromosome de l'isolat 21LM367 sont consignés dans le tableau XI.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Tableau XI : Gènes de virulence de l'isolat 12LM367 liés au chromosome

Gènes	%Couverture	%Identité	No Accession	Produits
<i>fyuA</i>	100.00	98.57	NP_405467	(fyuA) pesticin/yersiniabactin receptor protein [Yersiniabactin (VF0136)] [<i>Yersinia pestis</i> CO92]
<i>ybtE</i>	100.00	97.84	NP_405468	(ybtE) yersiniabactin siderophore biosynthetic protein [Yersiniabactin (VF0136)] [<i>Yersinia pestis</i> CO92]
<i>ybtT</i>	99.88	98.63	NP_405469	(ybtT) yersiniabactin biosynthetic protein YbtT [Yersiniabactin (VF0136)] [<i>Yersinia pestis</i> CO92]
<i>ybtU</i>	100.00	99.36	NP_405470	(ybtU) yersiniabactin biosynthetic protein YbtU [Yersiniabactin (VF0136)] [<i>Yersinia pestis</i> CO92]
<i>irp1</i>	100.00	98.59	NP_405471	(irp1) yersiniabactin biosynthetic protein Irp1 [Yersiniabactin (VF0136)] [<i>Yersinia pestis</i> CO92]
<i>irp2</i>	100.00	98.84	NP_405472	(irp2) yersiniabactin biosynthetic protein Irp2 [Yersiniabactin (VF0136)] [<i>Yersinia pestis</i> CO92]
<i>ybtA</i>	100.00	99.27	NP_405473	(ybtA) transcriptional regulator YbtA [Yersiniabactin (VF0136)] [<i>Yersinia pestis</i> CO92]
<i>ybtP</i>	100.00	98.67	NP_405474	(ybtP) lipoprotein inner membrane ABC-transporter [Yersiniabactin (VF0136)] [<i>Yersinia pestis</i> CO92]
<i>ybtQ</i>	100.00	98.22	NP_405475	(ybtQ) inner membrane ABC-transporter YbtQ [Yersiniabactin (VF0136)] [<i>Yersinia pestis</i> CO92]
<i>ybtX</i>	100.00	98.36	NP_405476	(ybtX) putative signal transducer [Yersiniabactin (VF0136)] [<i>Yersinia pestis</i> CO92]
<i>senB</i>	99.91	98.59	YP_406304	(senB) enterotoxin [ShET2 (VF0258)] [<i>Shigella flexneri</i> 2a str. 301]

1.3.8. Typage des séquences multilocus (MLST)

Le typage MLST a permis de mettre en évidence 7 gènes de ménage identiques dans les génomes de *Priestia flexa* 21LM367 et de *Priestia flexa* 21LM1136 que sont les aspC(252), clpX(~281), fadD(293), mdh(256), arcA(107), dnaG(~230) et lysP(271). Tandis que Chez *Enterobacter hormaechei* 20LM111 7 gènes de ménage distincts de ceux mis en évidence dans les génomes de *Priestia flexa* 21LM367 et de *Priestia flexa* 21LM1136 ont été détectés que sont les gènes dnaA (53), fusA(35), gyrB(20), leuS(44), pyrG(45) rplB(4) et rpoB(6). Par contre, aucun gène de ménage n'a pu être détecté dans les génomes des souches de *Staphylococcus saprophyticus* 21LM561 et *Priestia flexa* 21LM07. L'analyse a permis de détecter 1 séquence type dans le génome de l'isolat 20LM111, le ST114.

2. DISCUSSION

2.1. IVU à Daloa : Incidence, écologie microbienne et résistance des microorganismes impliqués aux antibiotiques usuels

2.1.1. Incidence des IVU à Daloa

Dans le contexte actuel où la résistance aux antibiotiques atteint des niveaux préoccupants, comprendre les informations épidémiologiques sur les infections urinaires (IVU) devient crucial (Tandogdu & Wagenlehner, 2016). L'administration fréquente d'antibiotiques pour traiter ces infections, combinée à l'association entre un retard de traitement antimicrobien approprié et de moins bons résultats pour les patients, souligne l'importance d'un diagnostic précis dès les premiers stades (Ortega *et al.*, 2013). La présente étude, menée à Daloa de 2019 à 2022, visait à élaborer l'épidémiologie moléculaire des IVU en se basant sur le séquençage des gènes de l'ADNr 16S et sur le séquençage NGS (Next-Generation Sequencing) des génomes entiers d'isolats uropathogènes. Elle a d'abord décrit l'incidence des IVU, la fréquence d'isolement des microorganismes impliqués, ainsi que les taux de résistance aux antibiotiques usuels des différentes bactéries impliquées dans les IVU. Par la suite, le séquençage des gènes de l'ADNr 16S et des génomes complets des isolats bactériens a permis l'identification des souches spécifiques impliquées dans les IVU à Daloa et de comprendre les liens génétiques existants entre ces souches.

De prime abord l'étude s'est axée sur la situation sociodémographique des patients reçus au Laboratoire. Au total 1513 patients dont 1002 hommes correspondant à 62,23 % des patients et 511 femmes soit 33,77 % des patients ont été reçus pour un ECBU. Ces patients provenaient de diverses localités, avec une prédominance (91,14 %) des résidents de Daloa. Aussi, ces patients étaient orientés au Laboratoire par plusieurs services dont la majorité (39,92 %) provenait de la Médecine. Cette diversification de la provenance des patients pourrait s'expliquer par le fait que le Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa est le seul Laboratoire public habilité à réaliser les ECBU dans la région du Haut-Sassandra. Le manque d'équipements dans les Laboratoires des hôpitaux généraux et des centres de santé urbains et communautaires des zones environnantes incite les prestataires à référer les patients au CHR de Daloa. La concentration des patients de la ville de Daloa pourrait être attribuée à la densité de la population locale et aux contraintes liées au coût de transport pour les patients d'autres villes. Par conséquent, cette centralisation des services entraîne une augmentation du coût de prise en charge des IVU et pourrait contribuer à la sous-estimation de l'incidence, ainsi

qu'à l'aggravation et aux complications de ces infections dans la région du Haut-Sassandra. En outre, la majorité des patients suspectés d'IVU à Daloa étaient âgés de 20 à 30 ans, une tranche d'âge potentiellement plus vulnérable en raison de facteurs tels que l'activité sexuelle et l'utilisation de contraceptifs, notamment les spermicides. L'étude réalisée par Coulibaly *et al.* (2022) indique que la prévalence d'utilisation des contraceptifs en Côte d'Ivoire est de 21 %.

L'incidence globale des IVU à Daloa sur les trois années de l'étude était de 13,75 %. Cette donnée souligne la gravité des IVU dans la ville, surpassant celle de 10,1 % observée à Accra par Donkor *et al.* (2019) tout en restant inférieure aux taux extrêmement élevés relevés dans d'autres régions africaines, comme 65,9 % à Buea et 54 % à Bamenda, deux villes du Cameroun (Akoachere *et al.*, 2012). Ce taux d'incidence élevé des IVU à Daloa contraste fortement avec le taux de 1 % enregistré aux Pays-Bas (Lugtenberg *et al.*, 2010) et le taux de 1 à 3 % observé au Royaume-Uni (Schmiemann *et al.*, 2010). Selon Medina & Castillo-Pino (2019), les IVU représentent un fardeau sociétal et personnel significatif, engendrant de nombreuses visites médicales aux États-Unis chaque année, ainsi qu'une augmentation de l'absentéisme et des visites médicales en Europe (Medina & Castillo-Pino, 2019). Le taux élevé de l'incidence des IVU à Daloa pourrait être attribué à un manque de sensibilisation de la population aux facteurs de risque des infections urinaires, un aspect négligé par les autorités sanitaires locales. De plus, ce taux pourrait s'expliquer par l'absence de stratégies ou de politiques efficaces contre les IVU. Les études suggèrent que des stratégies prophylactiques non antimicrobiennes pourraient réduire à la fois l'incidence des IVU et leur impact sur les patients (Medina & Castillo-Pino, 2019).

En examinant l'incidence globale des IVU par sexe, il a été révélé que 1,04 homme était atteint d'IVU pour 1 femme à Daloa au cours des trois années de l'étude. Cette distribution contraste avec de nombreuses études précédentes montrant une prédominance féminine des IVU, comme l'indique Foxman (2014), qui souligne que bien que les deux sexes puissent être infectés, les IVU sont majoritairement une maladie féminine. La divergence observée dans cette étude pourrait nécessiter une investigation plus approfondie pour comprendre ces tendances inhabituelles. Aussi la détermination de l'incidence en fonction des groupes d'âge a montré que les patients de plus de 50 ans étaient les plus touchés par IVU sur les trois années avec un taux d'incidence de 40,38 %. Ces données sont en accord avec les tendances observées aux États-Unis, où l'incidence augmente avec l'âge, particulièrement chez les femmes (Foxman, 2002 ; Colgan *et al.*, 2006). Le sexe ratio des IVU par tranche d'âge sur les trois années de l'étude a révélé que les femmes étaient plus atteintes chez les enfants dont l'âge est compris entre 0 et

15 ans et chez les patients dont l'âge est compris entre 16 et 30 ans avec un sexe ratio respectif de 1 homme atteint pour 2 femmes et 0,48 homme atteint pour 1 femme. Tandis que chez les patients dont l'âge est compris entre 31 et 50 ans et les patients de plus de 50 ans les hommes étaient plus atteints avec un sexe ratio respectif de 1,06 hommes pour 1 femme atteinte et 1,63 homme pour 1 femme atteinte. Ces données contrastent avec les tendances observées aux États-Unis, où l'incidence augmente avec l'âge, particulièrement chez les femmes (Foxman, 2002 ; Colgan *et al.*, 2006). Ces données sont aussi en désaccord avec les affirmations selon lesquelles l'incidence des IVU augmente avec l'âge, particulièrement chez les femmes ménopausées où le déficit hormonal est un facteur aggravant, et chez les jeunes femmes où l'activité sexuelle accrue constitue un risque majeur (Medina & Castillo-Pino, 2019). Quant à l'incidence annuelle, elle variait entre 11,94 % et 17,22 %. L'analyse statistique (X-squared = 1.5395, df = 3, p-value = 0.6732) des incidences annuelles montre qu'il n'existe aucune variation significative au niveau des incidences annuelles. La stabilité des incidences annuelles des IVU à Daloa au cours des trois années suggère que ces infections ne se propagent pas significativement avec le temps. Cette distribution uniforme pourrait s'expliquer par la difficulté de distinguer une infection symptomatique d'une bactériurie asymptomatique chez les personnes âgées, comme le soulignent Rowe & Juthani-Mehta (2013). En ce qui concerne l'incidence annuelle des IVU par sexe, il ressort qu'en 2019 il y'avait autant d'hommes atteints que de femmes. Tandis qu'en 2020 et 2021 il y'avait plus de hommes atteints que de femmes avec taux respectifs de 47,22 % de femmes contre 52,78 % hommes en 2020 et 38,46 % de femmes contre 61,54 % d'hommes en 2021. Par contre en 2022, il y'avait plus de femmes (58,89 %) atteintes d'IVU que d'hommes 42,11 %.

2.1.2. Écologie microbienne des IVU à Daloa

L'infection des voies urinaires, définie comme une inflammation causée par la colonisation anormale de micro-organismes nuisibles (Odoki *et al.*, 2019), nécessite une connaissance approfondie des agents pathogènes impliqués pour guider efficacement les cliniciens. Dans la ville de Daloa, l'étude de l'écologie microbienne des IVU a révélé que la bactériurie était majoritairement due à 94,23 % aux bacilles Gram négatif. Cette fréquence d'isolement accrue de bacilles Gram négatif dans les IVU à Daloa a été observée par plusieurs auteurs. Il s'agit entre autres de Agu *et al.*, (2020) et Diarra *et al.*, (2022) qui ont mis en évidence des taux d'isolement respectifs de 88,30 % et de 98,36 % de bactéries Gram négatif dans les IVU respectivement au Nigéria et au Mali. Aussi, la bactériurie était due essentiellement à *Escherichia coli* avec une fréquence d'isolement de 72,60 %, suivie par *Klebsiella sp.* et des

entérobactéries non identifiées avec des fréquences de 4,33 %. La prédominance de *Escherichia coli* dans les IVU a été constamment observée, avec un pic d'isolement en 2020. Luka *et al.* (2022) ont également noté une fréquence élevée de *Escherichia coli* (75,40 %) dans les IVU. Selon Foxman (2014), *Escherichia coli* uropathogène (UPEC) est l'agent étiologique principal des IVU, responsable de plus de 80 % des infections nosocomiales. D'autres agents pathogènes tels que *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* et *Enterococcus* sont moins fréquents, mais jouent un rôle significatif dans les infections associées aux cathéters et les infections nosocomiales (Flores-Mireles *et al.*, 2015). La prédominance de *Escherichia coli* dans les cas de bactériurie à Daloa pourrait être attribuée à des facteurs spécifiques, comme les adhésines bactériennes qui facilitent l'adhésion de la bactérie à l'épithélium urinaire (Larabi *et al.*, 2003). Aussi, la fréquence d'isolement annuelle des bactéries impliquées dans les IVU a été déterminée. Il ressort de cette étude que la bactérie *Escherichia coli* se démarque en tant que l'agent pathogène le plus fréquemment isolé dans les cas des IVU au CHR de Daloa. Sa fréquence d'isolement a été particulièrement plus élevée en 2020. En revanche, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp.*, *Citrobacter sp.*, *Levinea sp.*, *Hafnia sp.* et *Morganella morganii* ont été isolés des IVU exclusivement en 2020. Par contre *Yersinia sp.* et *Klebsiella oxytoca* ont été impliqués dans les IVU uniquement en 2019. *Enterobacter sp.* et *Enterococcus sp.* ont été isolés des IVU en 2020 et 2022. Exceptée l'année 2019, le genre *Staphylococcus* a été impliqué dans les IVU au cours des trois autres années de l'étude. Ces résultats sont en accord avec l'idée de Behzadi *et al.* (2015), selon laquelle les microorganismes des IVU varient avec des changements importants d'une année à l'autre. En ce qui concerne la distribution des bactéries en fonction de l'âge l'on note l'absence de certaines bactéries telles que *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Providencia sp.*, *Morganella Morganii*, *Levinea sp.* et *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients dont l'âge est compris entre 0 et 15 ans. Par contre on note une diversification de la flore bactérienne chez les autres tranches d'âge définies dans l'étude. Par ailleurs, l'étude a révélé que certaines bactéries telles que *Pseudomonas aeruginosa* ont été associées aux IVU exclusivement chez les hommes tandis que *Yersinia sp.* a été isolé chez les femmes. Des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre ces dynamiques épidémiologiques. Néanmoins, plusieurs facteurs, dont l'âge, l'activité sexuelle, l'hygiène et la ménopause, influencent la fréquence des IVU (Lobel & Soussy, 2007). La récurrence des IVU chez les jeunes femmes est souvent liée à l'activité sexuelle, comme l'ont indiqué Lavigne *et al.* (2007). En revanche, chez les personnes âgées, la majorité des cas de bactériuries sont associés à l'usage prolongé de cathéters urétraux (Warren, 1986). Des études ont montré que des changements simples dans les comportements quotidiens

peuvent réduire la récurrence des IVU, bien qu'ils ne puissent pas les empêcher entièrement (Mulvey *et al.*, 2000 ; Bruyere *et al.*, 2008). Parmi ces mesures préventives, un lavage quotidien simple de la vulve peut limiter la prolifération des germes intestinaux qui migrent du périnée vers la vessie via l'urètre. Pour les cystites post-coïtales, la toilette avant et après les rapports sexuels pour les deux partenaires, ainsi que la miction post-coïtale, ont été prouvées pour diminuer leur occurrence (Badran *et al.*, 2015). De plus, le changement quotidien de sous-vêtements joue un rôle significatif dans la prévention de l'accumulation de bactéries dans la région vulvaire. Une étude britannique portant sur les habitudes d'essuyage post-mictionnel a révélé que la direction de l'essuyage a un impact significatif sur le risque de développer une infection urinaire (IVU). Il est recommandé de s'essuyer d'avant en arrière pour réduire ce risque (Persad *et al.*, 2006).

2.1.3. Résistance des microorganismes impliqués dans les IVU à Daloa aux antibiotiques

L'augmentation mondiale de la fréquence des IVU causées par des pathogènes multirésistants est alarmante (Gupta *et al.*, 2012 ; Mazzariol *et al.*, 2017). Les mécanismes de résistance aux antimicrobiens se classent en quatre catégories principales. La limitation de l'absorption du médicament, la modification de la cible du médicament, l'inactivation du médicament, et l'efflux actif du médicament. Face aux multiples conséquences de la résistance bactérienne sur la santé humaine, il devient crucial d'approfondir les connaissances sur l'épidémiologie et la résistance aux antibiotiques des uropathogènes. Ceci est essentiel pour assurer une surveillance efficace et régulière de leur sensibilité aux antibiotiques. Ces infections contribuent significativement à l'utilisation extensive des antibiotiques en médecine générale, exacerbant ainsi la pression de sélection pour la résistance aux antibiotiques (Freeman *et al.*, 2009). Ainsi, l'étude de l'antibiorésistance des germes uropathogènes dans la ville de Daloa a révélé que les entérobactéries ont développé d'importantes résistances face aux antibiotiques couramment utilisés, notamment ceux de la famille des bêtalactamines. Parmi ces antibiotiques, l'Amoxicilline/Acide clavulanique s'est avéré être le moins efficace, avec un taux de résistance de 67,6 %. Ce chiffre est inférieur au taux de 75,20 % observé par Ebongue *et al.* (2015) à Douala au Cameroun. Les autres taux de résistance relevés comprenaient 28,5 % pour la Céfuroxime, 34,6 % pour l'Amoxicilline, 48 % pour la Ticarcilline, 24,6 % pour la Céfépime, 15,1 % pour la Céfotaxime, 14 % pour la Céfoxitine, 46,4 % pour la Ceftriaxone, 23,5 % pour la Ceftazidime, 22,9 % pour l'Aztreonam et seulement 1,1 % pour l'Imipenème. L'Imipenème a été l'antibiotique le plus efficace avec un faible taux de résistance de 1,1 %, soulignant son importance comme traitement de première ligne contre les infections sévères à entérobactéries

multirésistantes (Labombardi *et al.*, 2006 ; Endimiani & Paterson, 2007 ; Nordmann *et al.*, 2009). Cette efficacité peut être attribuée à sa résistance aux mécanismes de dégradation bactérienne courants. Par ailleurs, la résistance observée aux céphalosporines de troisième génération telles que la Ceftriaxone, rapportée également par (Roh *et al.*, 2008), est préoccupante. Cette résistance pourrait s'expliquer par la production de céphalosporinases ou par des modifications de la perméabilité cellulaire, comme l'altération des porines (Bradford, 2001 ; Coudron *et al.*, 2003). Cette situation met en évidence la nécessité de surveiller continuellement les profils de résistance et d'adapter les choix thérapeutiques en conséquence. Dans cette étude, l'efficacité des fluoroquinolones contre les entérobactéries isolées des urines au CHR de Daloa a également été évaluée. Les fluoroquinolones agissent sur la réplication de l'ADN en ciblant l'ADN gyrase et la topoisomérase IV. La résistance à ces antibiotiques est généralement due à des mutations chromosomiques altérant ces enzymes, bien qu'une résistance d'origine plasmidique ait aussi été rapportée (Nordmann & Mammeri, 2007 ; Muylaert & Mainil, 2013). Les taux de résistance observés pour la Ciprofloxacine, l'Acide nalidixique et l'Ofloxacine étaient respectivement de 36,3 %, 55,9 % et 43 %. Cette résistance élevée aux fluoroquinolones pourrait être due à leur prescription fréquente en Côte d'Ivoire (Dosso *et al.*, 2000). Concernant les aminosides, l'Amikacine et la Gentamicine ont été utilisées, avec des taux de résistance de 11,2 % pour l'Amikacine et 32,4 % pour la Gentamicine. La résistance aux aminosides est principalement causée par l'acquisition d'enzymes modificatrices, qui se divisent en trois classes : phosphorylation, acétylation et nucléotidylation (Nguyen & Lambert., 2012). La Gentamicine, bien que moins efficace avec un taux de résistance de 32,4 %, présente un taux inférieur à celui observé par Sbity *et al.* (2017), qui était de 67,2 %. Aussi, la résistance des entérobactéries à différents antibiotiques a-t-elle été évaluée, notamment les Sulfamides et la Fosfomycine. La résistance à la Triméthoprine/Sulfaméthoxazole a été de 34,1 %, tandis que pour la Fosfomycine, elle était de 17,9 %. La sensibilité des entérobactéries les plus fréquemment isolées dans les IVU à Daloa, incluant *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Providencia sp.*, et des Entérobactéries non identifiées a été aussi évaluée. Les isolats de *Enterobacter sp.* ont montré une résistance à plusieurs antibiotiques, notamment 100 % à la Fosfomycine, l'Amoxicilline/Acide clavulanique, le Triméthoprine/Sulfaméthoxazole et la Céfoxitine. Ce taux de résistance de 100 % à la Céfoxitine traduit la résistance naturelle de *Enterobacter sp.* à cet antibiotique. Cependant, elles étaient plus sensibles à la Ciprofloxacine, au Céfépime, à la Gentamicine, à l'Imipénème et au Céfoxime, avec des taux de résistance nuls. Pour *Escherichia coli*, les taux de résistance étaient les plus élevés pour la Ticarcilline (91 %), l'Amoxicilline (85 %), le

Triméthoprim/Sulfaméthoxazole (84 %) et l'Acide Nalidixique (82 %). Une sensibilité remarquable a été observée face à l'Imipénème (1 %), ce qui contraste avec les taux de résistance plus bas rapportés par El Bouamri *et al.* (2014) pour l'Amoxicilline (65 %) et le Sulfaméthoxazole-Triméthoprim (55 %). Concernant *Klebsiella pneumoniae*, une résistance totale (100 %) a été notée pour l'Amoxicilline et la Ticarcilline, tandis que la résistance à la Gentamicine et à la Fosfomycine était respectivement de 75 % et 67 %. Ce taux élevé de résistance de *Klebsiella pneumoniae* à l'Amoxicilline traduit la résistance naturelle. Aucune résistance n'a été détectée pour l'Imipénème, l'Aztréonam et le Céftaxime. De même, pour les souches appartenant à *Klebsiella sp.*, une résistance de 100 % a été observée pour la Céfturoxime, la Ticarcilline, le Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, l'Amoxicilline et la Céftazidime. Toutefois, ces souches étaient sensibles à l'Imipénème, à l'Amikacine et au Céftaxime. Enfin, pour les souches de *Proteus sp.*, une résistance de 50 % a été notée pour l'Acide Nalidixique, la Ticarcilline et au Triméthoprim/Sulfaméthoxazole. Dans une étude réalisée au Maroc, (Nadmi *et al.*, 2010) ont observé que les souches de *Klebsiella spp.* avaient développé des taux de résistance élevés à la Triméthoprim/Sulfaméthoxazole (50 % et 46,1 %), suivis de l'Amoxicilline-Acide clavulanique, la Tétracycline et la Céfoxitine. Ces résultats contrastent avec les taux de résistance observés dans cette étude à Daloa, où les souches de *Providencia sp.* étaient entièrement résistantes à la Ciprofloxacine, la Ticarcilline, le Triméthoprim/Sulfaméthoxazole et l'Amoxicilline. De même, les entérobactéries non identifiées ont montré une résistance de 100 % à l'Amoxicilline et au Céftaxime, et de 80 % à l'Ofloxacine, mais étaient sensibles à l'Imipénème, la Gentamicine et l'Amikacine. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, les résultats ont révélé une résistance de 50 % à la Céftazidime, la Ciprofloxacine et la Ticarcilline. Minchella *et al.* (2010) dans une étude en France, ont trouvé des taux de résistance inférieurs pour cette même bactérie à la Céftazidime et la Ciprofloxacine, mais un taux plus élevé à la Ticarcilline. En ce qui concerne *Staphylococcus spp.* il a été observé, une résistance totale à l'Ofloxacine, la Clindamycine, l'Erythromycine et le Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, suggérant la présence du phénotype de résistance MLSB (macrolides-lincosamides-streptogramines) chez ces souches. Les souches de *Staphylococcus non aureus* ont montré une résistance de 100 % à l'Acide fusidique et 66,7 % à l'érythromycine. À titre de comparaison, (Mwambi *et al.*, 2014) en Ouganda ont rapporté une résistance de 36% de *Staphylococcus aureus* à la Clindamycine, tandis que Hamze *et al.* (2003) au nord du Liban ont noté une résistance de 34,7 % à l'érythromycine, 4,04 % à la clindamycine et 20 % au Triméthoprim/Sulfaméthoxazole. Ces différences régionales dans les profils de résistance

reflètent les variations dans l'usage des antibiotiques et les conditions d'hygiène, qui peuvent faciliter la transmission des gènes de résistance.

En outre, la prévalence du phénotype de résistance BLSE (bêta-lactamase à spectre étendu) chez les entérobactéries impliquées dans les IVU à Daloa a été évaluée. En effet, la prévalence générale des BLSE chez toutes les entérobactéries était de 15,08 %. Parmi ces isolats, *Escherichia coli* constituait 81,48 % des cas de BLSE, suivie par d'autres entérobactéries non identifiées à 14,81 % et *Klebsiella sp.* à 3,70 %. Cette prévalence élevée des BLSE chez *E. coli* et d'autres entérobactéries souligne un problème récurrent dans le monde entier. En Afrique subsaharienne, par exemple, la prévalence de *Escherichia coli* productrice de BLSE varie considérablement, allant de 22,4 % à 78 % selon les études (Ouédraogo *et al.*, 2016 ; Bayleyegn *et al.*, 2021). À l'échelle internationale, une étude de (Jalilian *et al.*, 2019) a révélé une prévalence globale de colonisation de 8 % par BLSE-E dans 16 pays répartis sur les continents américain, africain, européen et asiatique, avec des taux de prévalence de 15 % en Afrique, 6 % en Amérique du Sud, 5 % en Asie et 4 % en Europe. Sbiti *et al.* (2017) ont également rapporté une prévalence globale d'isolement des BLSE de 12,2 %, dont 61 % chez *Escherichia coli* et 25,8 % chez *Klebsiella pneumoniae*. Cette haute prévalence de BLSE à Daloa pourrait être attribuée à une utilisation irrationnelle des bêtalactamines, tant dans les prescriptions médicales que dans l'utilisation par les patients. Face à cette réalité, il devient impératif de baser la prescription des antibiotiques sur les résultats d'antibiogrammes, afin de garantir une approche thérapeutique efficace et de limiter la propagation des souches résistantes.

2.2. Caractérisation moléculaire des isolats bactériens impliqués dans les IVU à Daloa

L'identification rapide et précise des bactéries dans les échantillons biologiques est une tâche importante pour les Laboratoires de microbiologie clinique. Pour ce faire plusieurs possibilités s'offrent aux praticiens qui sont entre autres les techniques d'identification biochimique et moléculaire. Ainsi, dans le cadre de cette étude visant également à identifier les isolats bactériens impliqués dans les IVU à Daloa, la technique d'identification moléculaire basée sur le séquençage des gènes de l'ADNr 16S a été privilégiée.

Alors, le criblage du gène de l'ADNr 16S des 28 isolats collectés au CHR de Daloa a été réalisé. L'analyse BLAST accompli sur les bases de données NCBI en vue de déterminer l'identité réelle des différents isolats bactériens collectés a permis de mettre en évidence le

genre de 75 % des lectures, 17,85% ont pu être classé au niveau du genre et de l'espèce, tandis que 7, 14% des lectures n'ont pas pu être classé au niveau du genre et de l'espèce.

Les résultats observés dans cette étude seraient dus à plusieurs facteurs. D'une part, nombre de copies des gènes l'ADNr 16S varie selon les organismes et ces copies peuvent avoir des séquences différentes. D'autre part, plusieurs génomes du même genre peuvent avoir des copies identiques. De plus, différents biais techniques (erreurs de PCR, de séquençage etc.) génèrent des erreurs dans les lectures. En effet, les plateformes de séquençage à lecture courte ne permettent pas d'atteindre la résolution taxonomique offerte par le séquençage du gène entier (~1500 pb). Par conséquent, les approches d'analyse modernes doivent nécessairement tenir compte de la variation intra génomique entre les copies du gène 16S, un traitement approprié des variantes de copies intra génomiques du gène l'ADNr 16S de pleine longueur fournit une résolution taxonomique des communautés bactériennes au niveau de l'espèce et de la souche (Johnson *et al.*, 2019). Par ailleurs, Winand *et al.* (2020) ont mis en évidence que le criblage de l'ADNr 16S permet une identification fiable des genres bactériens, mais peut entraîner une identification erronée des espèces bactériennes. Ces auteurs, ont dans leur étude basée sur le criblage de l'ADNr 16S, évalué plus de 99 % des lectures correctement classées au niveau du genre alors qu'environ 40 % des lectures ont été mal classées au niveau de l'espèce. Ils ont également démontré que la classification correcte était variable selon la région du 16S amplifiée. Selon Mignard & Flandrois (2006) le gène de l'ADNr 16S a un faible pouvoir discriminant au niveau de l'espèce, voire au niveau du genre pour certains clades bactériens. Cette assertion est soutenue par Peker *et al.* (2019). En effet, pour ces auteurs bien que le séquençage Sanger du gène de l'ARN ribosomal 16S soit utilisé comme méthode moléculaire, l'identification et la discrimination des espèces posent souvent problème pour les bactéries car leurs gènes d'ADNr 16S ont parfois une homologie de séquence élevée. Aussi, les régions variables 16S qui sont finalement utilisées pour la classification ne sont pas toutes également informatives entre et à travers différentes espèces, genres et familles (Tremblay *et al.*, 2015, Yang *et al.*, 2016). Par contre des enquêtes systématiques réalisées par Janda & Abbott, (2007) ont indiqué que jusqu'à 90% et 86%, des bactéries peuvent être identifiées de manière fiable au niveau du genre et de l'espèce, respectivement.

2.3. Profil des génomes bactériens

Malgré l'utilité des méthodes de typage phénotypique ou moléculaire de routine, le NGS offre un aperçu extraordinaire de l'organisation génomique des agents pathogènes à l'origine d'épidémies. Les données générées par le séquençage du génome peuvent être utilisées pour

suivre les pathogènes cliniquement importants circulant dans la population de la ville de Daloa. Cependant, les études basées sur ces techniques de pointe et explorant l'organisation dynamique des génomes bactériens sont quasi-inexistantes en Côte d'Ivoire.

Ainsi, le séquençage de l'ADN génomique de 5 isolats impliqués dans les IVU a été réalisé. Le contrôle de la qualité des séquences obtenues préalablement assemblées a montré que la séquence de l'isolat 21LM561 était hétérogène. Aussi, il a été notifié que les séquences d'ADN génomiques des isolats 21LM1136, 21LM367 et 21LM561 avaient respectivement 76, 87% et 100% de gènes absence dans le génome des séquences référence. Cette variabilité pourrait être due à une contamination lors de l'extraction de l'ADN ou par la présence accrue de gènes xénologues dans ces organismes.

Après assemblage des génomes et contrôle qualité des génomes assemblés, les génomes ont été annotés en vue d'apprécier leur caractéristique. Ainsi, l'annotation des différents génomes a permis de mettre en évidence la taille des différents génomes, leur contenu en GC, le nombre de gènes contenu dans chaque génome, les régions codantes, les régions répétées, les ARNt, les ARNmt, les ANRr, les ANRNnc, les régions des ARNnc. L'analyse a montré que les tailles des séquences génomiques variaient de 4015274 pb à 8633314 pb et le coefficient de Chargaff variait de 37,76% à 55,52%. Cette variation de la taille du génome et du coefficient de Chargaff montre que ces isolats étaient des espèces différentes. Aussi, la présence des différents ARN dont les plus abondants étaient les ARNt et les ANRNnc montre le potentiel pathogénicité des différents isolats bactériens soumis à l'étude car le développement d'une infection dépend essentiellement de l'expression coordonnée et séquentielle d'une multitude de facteurs de virulence et de gènes accessoires. Cette coordination est assurée par un réseau de régulation extrêmement complexe composé de facteurs protéiques mais également d'ARN régulateurs (Lays *et al.*, 2014). Aussi, la présence de séquences répétées dans les génomes des isolats 21LM367 et 21LM1136 serait due à leur grande taille.

L'identification des isolats à l'aide des approches bio-informatiques a révélé que les isolats 21LM07, 21LM367 et 21LM1136 forment un clade au sein du cluster contenant *Priestia veravalensis* DSM28242T, et *Priestia flexa* NBRC 15715. L'analyse de l'hybridation numérique ADN-ADN (dDDH) et de l'identité nucléotidique moyenne (ANI) ont révélé que les trois isolats (21LM367, 21LM1136 et 21LM07) étaient des espèces similaires et identiques à *Priestia flexa* NBRC15715 avec des valeurs d'ANI de 97, 28%, 97,89% et 98,98 % et les Valeurs dDDH oscillant autour de 99%. Quant à l'isolat 20LM111 les valeurs de l'hybridation numérique ADN-ADN (dDDH) et de l'identité nucléotidique moyenne (ANI) montre que cet isolat est similaire à *Enterobacter hormaechei subsp. xiangfangensis* LMG 27195 avec des

valeurs d'ANI de 98,98 % et de dDDH de 93,4 %. Mais, l'analyse phylogénétique effectuée sur la séquence génomique complète de l'isolat 21LM561 a permis de mettre en évidence que cet isolat forme un clade au sein du cluster contenant *Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis* CCUG 38042, et *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305. Cependant, les valeurs de l'hybridation numérique ADN-ADN (dDDH) et de l'identité nucléotidique moyenne (ANI) ont révélé que l'isolat 21LM561 soumis à l'étude était similaires à la souche de *Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis* CCUG 38042 avec des valeurs d'ANI de 98,59% et de dDDH de 64,3 %. Ces découvertes sont particulièrement notables car c'est la première fois que les bactéries *Enterobacter hormaechei subsp. xiangfangensis* et *Priestia flexa* sont identifiées comme agents pathogènes des IVU en Côte d'Ivoire.

Cette identification unique des pathogènes responsables des IVU dans la ville de Daloa met en lumière la diversité des agents infectieux et l'importance de l'utilisation de techniques avancées de séquençage pour une meilleure compréhension de l'épidémiologie des infections urinaires.

Priestia flexa est un bacille Gram positif halophyte, endophyte des mangroves, prisé pour ses applications biotechnologiques (Chathalingath *et al.*, 2022). L'utilisation de cette bactérie dans le développement de bioplastique, la production de bioéthanol, la biorestauration de l'environnement contaminé par le chrome ainsi que l'amélioration de stress lié à l'arsenic dans la croissance d'*Oryza sativa L.* a été documentée (Chathalingath *et al.*, 2022 ; Shukla *et al.*, 2023, UbiIcône *et al.*, 2024 ; Ravishankar *et al.*, 2024). Mais, aucune étude n'a encore révélé l'implication de *Priestia flexa* dans les infections des voies urinaires. Néanmoins, des recherches récentes, ont isolé *Priestia flexa* des selles humaines, suggérant que l'intestin humain pourrait être un réservoir pour cette bactérie (Deswal *et al.*, 2023). Ainsi, cette découverte pourrait expliquer sa présence dans les infections des voies urinaires à Daloa, par un transfert potentiel de la région anale à la vessie.

Par ailleurs, *Enterobacter hormaechei* est une bactérie à Gram négatif et membre du complexe *Enterobacter cloacae* (ECC) qui a été défini et proposé pour la première fois en 1989 (Yeh *et al.*, 2022). Les espèces du complexe *Enterobacter cloacae* sont largement rencontrées dans la nature, mais elles peuvent agir comme pathogènes. Les études biochimiques et moléculaires sur le complexe *Enterobacter cloacae* ont montré une hétérogénéité génomique, comprenant six espèces : *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter kobei*, *Enterobacter ludwigii* et *Enterobacter nimipressuralis*. Parmi les isolats cliniques de *Enterobacter* spp. appartenant au complexe *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter hormaechei* est l'agent pathogène nosocomial le plus couramment identifié (Yeh

et al., 2022). Plusieurs études ont révélé que *Enterobacter hormaechei* peut être isolé à partir d'échantillons de sang, d'expectorations, d'urine, de bile, de selles et de peau, indiquant son rôle dans les maladies infectieuses telles que la bactériémie, la pneumonie, les infections des voies urinaires, les infections des voies biliaires, la colite et la cellulite (Yeh *et al.*, 2022). *Enterobacter hormaechei*, reconnu comme un agent pathogène important dans les infections graves, a été impliqué dans des IVU résistantes aux aminoglycosides au Brésil et multirésistantes au Sri Lanka (Martins *et al.*, 2020 ; Perera *et al.*, 2022). Cette bactérie fait partie du groupe ESKAPE, identifié par l'OMS comme un des principaux agents pathogènes résistants aux médicaments. Historiquement associé aux infections nosocomiales, son implication croissante dans les IVU communautaires, comme à Daloa, nécessite une surveillance accrue.

La colonisation des voies urinaires par *Staphylococcus saprophyticus* se fait par l'intermédiaire de plusieurs types d'adhésines, comme les hémagglutinines ainsi que la lipase aidant la bactérie à maintenir une adhérence étroite à l'uroépithélium. Cette grande capacité de *Staphylococcus saprophyticus* à coloniser le tractus est en partie due aux adhésines mais aussi à la production de biofilms, ce qui augmente sa virulence et multiplie par 100 à 1000 sa tolérance aux antibiotiques par rapport aux isolats non producteurs de biofilms (Martins *et al.*, 2019). Le biofilm confère une résistance aux antibiotiques par le biais de processus qui incluent le codage de gènes résistants aux antibiotiques, la restriction des antibiotiques et même la neutralisation de l'immunité de l'hôte (Dumaru *et al.*, 2019). En Côte d'Ivoire, diverses études ont signalé la présence de *Staphylococcus aureus* dans les IVU (Kacou *et al.*, 2011 ; Djakaridja *et al.*, 2023). Cependant, les mentions de *Staphylococcus saprophyticus*, une cause majeure d'IVU chez les jeunes femmes, restent rares. Bien que *Staphylococcus saprophyticus* soit responsable de 10 à 15 % des IVU après *Escherichia coli*, et qu'il ait été rapporté chez les hommes ainsi que dans des cas d'infections sévères (Sellami *et al.*, 2015 ; Mlaga *et al.*, 2017), sa prévalence relativement faible dans les études ivoiriennes pourrait être due à des lacunes dans les méthodes d'identification ou au manque de réactifs adéquats dans les Laboratoires d'analyses médicales locaux.

L'étude des mécanismes moléculaires de résistance aux antibiotiques est cruciale, car elle ouvre la voie au développement de nouvelles thérapies contre les bactéries multirésistantes. Cette compréhension approfondie est essentielle pour déterminer précisément comment ces résistances sont transmises et pour développer des stratégies efficaces de lutte contre la résistance. Par conséquent, une meilleure connaissance des mécanismes qui sous-tendent le développement de la résistance aux médicaments des souches uropathogènes permettra de contrôler et de traiter plus efficacement les infections urinaires. Ainsi, l'analyse de prédiction

de la résistance de souches soumises à l'étude a permis de mettre en évidence une variabilité de phénotypes de résistance. En effet, aucun phénotype de résistance n'a été prédit chez la souche de *Priestia flexa* 21LM07. Par contre, l'action combinée de la résistance intrinsèque et acquise a été observée chez les autres souches soumises à l'étude. Chez *Priestia flexa* 21LM367, la résistance intrinsèque était due à la présence de 3 gènes (blaMAL-1_2, mdx(A)_1 et tet(K)_1) lui conférant la résistance aux Bêtalactamases, aux Macrolides et aux Cyclines. Tandis que la résistance acquise était plasmique et chromosomique. Le gène tet(K) conférant la résistance aux cyclines était médié par les plasmides. Les gènes (blaMAL-1_2 et mdx(A)_1) traduisant la résistance au bêtalactamines et aux macrolides ont été médiés par les séquences chromosomiques. Chez la souche de *Priestia flexa* 21LM1136, le gène tet(K) lui conférait la résistance intrinsèque et plasmidique aux cyclines. Aucun gène de résistance n'a été prédit sur la séquence chromosomique de cette souche. Mais 2 gènes de résistance ont été prédits dans le génome entier de la souche de *Staphylococcus saprophyticus* 21LM561 que sont msr(A)_2 et erm(44)_1. Ces gènes confèrent à cette souche la résistance à plusieurs antibiotiques appartenant à différentes familles notamment à l'Erythromycine et à l'Azithromycine appartenant à la famille des Macrolides, à la Telithromycine qui appartient à la famille des Kétolides, à la Quinupristine et Pristinamycine appartenant à la famille des Streptogramines, à la Lincomycine et Clindamycine appartenant à la famille des Lincosamines et à la Virginiamycine. Cette résistance aux Macrolides, aux Streptogramines et aux Lincosamines traduit la présence du phénotype de résistance MLS chez *Staphylococcus saprophyticus* 21LM561. Par contre, 4 gènes (oqx_A_1, oqx_B_1, blaACT-16_1 et fosA_7) conférant la résistance à l'acide nalidixique (quinolone), à la Ciprofloxacine (fluoroquinolone), aux bêtalactamines et à la Fosfomycine (acide phosphonique) ont été prédits sur les séquences chromosomiques des isolats 21LM561. Par ailleurs, 6 gènes de résistance (dfrA14_5, qnrS1_1, oqx_A_1, oqx_B_1, blaACT-16_1 et fosA_7) ont été prédits dans le génome entier de la souche de *Enterobacter hormaechei* 20LM111 lui conférant la résistance intrinsèque à plusieurs antibiotiques appartenant à diverses familles notamment à la Triméthoprine qui appartient à la famille des diaminopyrimidines, à la Ciprofloxacine de la famille des fluoroquinolones, à l'acide nalidixique de la famille des quinolones et à la Fosfomycine de la famille des acides phosphoniques. Les gènes dfrA14 et qnrS1 lui confèrent une résistance au triméthoprine (diaminopyrimidine) et à la ciprofloxacine (fluoroquinolones), respectivement ont été prédits dans les séquences plasmidiques de *Enterobacter hormaechei* 20LM111. Par contre, 4 gènes (oqx_A_1, oqx_B_1, blaACT-16_1 et fosA_7) conférant la résistance à l'acide nalidixique (quinolone), à la Ciprofloxacine (fluoroquinolone), aux bêtalactamines et à la Fosfomycine

(acide phosphonique) ont été prédits sur les séquences chromosomiques de *Enterobacter hormaechei* 20LM111.

Cette combinaison de la résistance intrinsèque et de la résistance acquise observé chez *Priestia flexa* 21LM367, *Priestia flexa* 21LM1136, *Staphylococcus saprophyticus* 21LM561 et *Enterobacter hormaechei* 20LM111 serait un obstacle sérieux au traitement des infections causées par ces souches bactériennes. Aussi, ces résultats suggèrent que ces souches ont acquis leur résistance au fil de leur évolution, soit par des mutations chromosomiques rares ou par transfert horizontal de gènes ou soit verticalement (de la 'bactérie-mère' aux 'bactéries-filles'). Les mécanismes de transfert horizontal de gènes comprennent la transformation, la transduction et la conjugaison. La transformation implique l'acquisition d'ADN libre par des bactéries, qui intègrent cet ADN étranger dans leur génome (Schwarz & Chaslus-Dancla, 2001). La transduction, facilitée par des bactériophages, permet le transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre (Davison, 1999). La conjugaison nécessite un contact direct entre les bactéries pour le transfert unidirectionnel de matériel génétique, avec la sélection des transconjugants se faisant en présence d'antibiotiques spécifiques pour identifier les bactéries ayant acquis des gènes de résistance. Ces mécanismes ont des implications majeures pour la compréhension de la dynamique évolutive des bactéries pathogènes et leur capacité à acquérir de nouveaux traits de résistance.

Ailleurs dans le monde les données sur l'épidémiologie de la résistance de *Priestia flexa* aux antibiotiques sont rares étant donné sa faible implication dans les infections. Néanmoins, dans une étude récente Deswal *et al.* (2023) ont montré qu'un isolat de *Priestia flexa* dénommée *Priestia flexa* KS1 était résistante au céfixime, à l'acide clavulanique, ceftazidime, à la nafalline, à la méthicilline, au triméthoprim, à la kanamycine et aux antibiotiques nalidixiques et dégradait la mucine dans des conditions *in vitro* et en s'acclimatation mieux au sein de l'environnement gastro-intestinal.

La dissémination du phénotype de résistance MLSB chez *Staphylococcus saprophyticus* uropathogène observée dans cette étude a été évaluée ailleurs dans le monde. Le Bouter *et al.* (2011) ont évalué la propagation du phénotype de résistance MLSB chez les *Staphylococcus saprophyticus* uropathogène en France dont le déterminant de résistance le plus répandu était le gène *msr(A)*, avec une prévalence de 72,7 % suivi par le gène *erm(C)*. Des gènes comme *erm(44)* et *msr*, qui confèrent la résistance aux macrolides, ont été étudiés dans d'autres contextes par Le Bouter *et al.* (2011), Aarts & Margolles, (2015) et Strauss *et al.* (2017). La résistance intrinsèque à la Novobiocine chez *Staphylococcus saprophyticus* uropathogène a été mise en évidence au Royaume Uni (Vickers *et al.*, 2007).

En plus de la résistance intrinsèque la souche de *Staphylococcus saprophyticus* 21LM561 a développé une résistance chromosomique aux quinolones, aux fluoroquinolones, aux bêtalactamines et à l'acide phosphonique. Ces résultats suggèrent que *Staphylococcus saprophyticus* 21LM561 est résistante aux médicaments les plus souvent utilisés pour le traitement empirique des infections des voies urinaires. Ces résultats interpellent les prescripteurs à une prescription raisonnée des antibiotiques dans la prise en charges des IVU à Daloa. Les résistances aux fluoroquinolones, aux Bêtalactamines, aux diaminopyrimidines et à l'acide phosphonique ont été signalés dans le génome de *Enterobacter hormaechei* 20LM111. Yeh *et al.* (2022) ont signalé les productions de β -lactamases, de carbapénémases et la multirésistance dans le génome entier *Enterobacter hormaechei*. Il est important de noter que les souches de *Enterobacter hormaechei* sont intrinsèquement résistantes à un certain nombre d'antibiotiques et qu'elles ont démontré une capacité remarquable à acquérir des déterminants de résistance supplémentaires. Monahan *et al.* (2019) ont signalé la résistance chromosomique et plasmidique dans le génome de *Enterobacter hormaechei*. Ces découvertes soulignent l'importance de la recherche continue pour une compréhension approfondie des mécanismes de résistance aux antibiotiques.

Un facteur de virulence est défini comme toute substance, protéine, glycoprotéine ou lipide, exprimée ou sécrétée par la bactérie qui aide cette dernière à envahir et franchir les barrières de l'hôte, à provoquer la maladie ou à échapper au système immunitaire. La caractérisation de ces facteurs met donc en évidence le potentiel pathogénicité de la souche impliquée dans l'infection. Dans le cadre de cette étude la caractérisation des facteurs de virulence a été réalisée dans les génomes entiers des 5 souches uropathogènes. Il ressort de l'analyse sur la base de données VFDB qu'une action combinée de virulence intrinsèque et acquise a été observée chez *Priestia flexa* 21LM367. Chez *Priestia flexa* 21LM1136, 1 facteur de virulence été lié aux plasmides. Les études portant sur la virulence de *Priestia flexa* quasi-inexistantes dans la littérature du fait de leur faible implication dans les infections. La virulence observée au niveau de *Priestia flexa* 21LM1136 et *Priestia flexa* 21LM367 serait due au fait que ces deux souches seraient des souches environnementales. De nombreux facteurs de virulence des bactéries uropathogènes sont codés par des segments d'ADN étrangers insérés dans le génome central. La caractérisation des gènes de virulence dans des isolats locaux permet de mieux appréhender les défis posés par les bactéries hautement pathogènes, ouvrant ainsi la voie à des traitements plus ciblés et efficaces. Ces îlots de pathogénicité ont manifestement été acquis par transfert horizontal de gènes, créant ainsi de nouveaux pathotypes plus efficaces pour établir l'infection.

De nombreux éléments génétiques tels que les plasmides et les transposons, qui constituent les vecteurs de transfert des gènes de résistance, peuvent être échangés entre bactéries par conjugaison, un processus bien documenté par Davison (1999). L'analyse des éléments génétiques mobiles bactériens (MGE) dans les séquences génomiques est une étape critique vers le profilage des causes profondes de la résistance aux antibiotiques, de la diversité phénotypique ou métabolique, et de l'évolution des genres bactériens. Ainsi, la prédiction des éléments génétiques mobiles dans les séquences des 5 souches soumises à l'étude a permis d'enregistrer la présence de plasmides, de phages, de cassettes d'intégrons en association avec des îlots de résistance soulignant la nature dynamique des génomes. En ce qui concerne les plasmides, aucune séquence plasmidique n'a été révélée dans le génome de *Priestia flexa* 21LM07. Par contre, dans les génomes des souches de *Priestia flexa* 21LM367 et *Priestia flexa* 21LM1136, les plasmides rep7a et IncI2 ont été prédites. Le plasmide IncI2 a médié la résistance des souches de *Escherichia coli* et *Escherichia fergusonii* (Sulian *et al.*, 2020 ; Lin *et al.*, 2022 ; Habib *et al.*, 2023). Quant au plasmide rep7a, il a médié les supports génétiques de résistance dans plusieurs souches bactériennes telles que *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Macroccoccus caseolyticus* (Xanthopoulou *et al.*, 2021 ; Zhang *et al.*, 2022 ; Njenga *et al.*, 2022). Concernant la souche de *Enterobacter hormaechei* 20LM111, la présence des plasmides conjugatives IncFIB(pQil) et IncR a été signalée. L'importance de ces réplicons, en tant que vecteurs de gènes de résistance, a été soulignée dans de multiples études (Compain *et al.*, 2014 ; Mazzariol *et al.*, 2017 ; Takei *et al.*, 2022 ; Stein *et al.*, 2023). *Staphylococcus Saprophyticus* 21LM561 s'est démarqué par la présence des plasmides rep7 a et repUS10. La présence des régions de phage a aussi été notifiée dans les différents génomes. Dans le génome de l'isolat 21LM367 une seule région de phage intacte a été prédit, et cette région avait une similarité avec le PHAGE-Entero-mEp237-NC-019704(16). Aussi, dans le génome de l'isolat 21LM561 une région de phage intacte similaire au phage PHAGE_Staphy_CNPx_NC_031241(10) a été prédite. Par contre, dans les génomes des isolats 21LM07 et 21LM1136, deux régions de phage ont été prédites dont une région de phage intacte et une région de phage incomplète dans chacun de ces deux génomes. Les régions de phage intactes prédites avaient une similarité avec le PHAGE-Bacill-PM1-NC-020883 (12). Tandis que les régions de phage incomplètes étaient respectivement similaires au PHAGE-Brevib-Sundance-NC- 028749(2) et PHAGE-Geobac-E3-NC-029073(2). Quatre régions de phage ont été prédites dans les génomes de l'isolat 21LM111, dont trois régions de phage intactes que sont les phages PHAGE_Entéro_P4_NC_001609(7), PHAGE_Erwini_EtG_NC_047833(27) et PHAGE_Entero_mEp237_NC_019704(15) et une région de phage incomplète, similaire au

PHAGE_Escher_HK639_NC_016158(20). Le rôle des prophages bactériens dans le transfert de gènes de résistance a été signalé dans plusieurs études (Haaber *et al.*, 2016). Cependant, dans cette étude aucun gène de résistance n'a été prédit dans ces régions de prophages. Néanmoins, une étude plus approfondie est nécessaire pour analyser le potentiel de ces régions de prophages dans le transfert des gènes de résistance et virulence de ces souches.

Par ailleurs, afin d'établir les relations clonales entre les différentes souches de *Priestia flexa* impliquées dans les IVU dans la ville de Daloa, la variation de la séquence nucléotidique de sept gènes essentiels (housekeeping genes) a été déterminée. Les résultats du typage MLST a prédit la présence de 7 gènes de ménage identiques dans les génomes de *Priestia flexa* 21LM367 et de *Priestia flexa* 21LM1136 que sont les *aspC*(252), *clpX*(~281), *fadD*(293), *mdh*(256), *arcA*(107), *dnaG*(~230) et *lysP*(271). Par contre, aucun gène de ménage n'a pu être détecté dans les génomes des souches de *Staphylococcus saprophyticus* 21LM561 et *Priestia flexa* 21LM07. Tandis que Chez *Enterobacter hormaechei* 20LM111 7 gènes de ménage ont été détectés que sont les gènes *dnaA* (53), *fusA*(35), *gyrB*(20), *leuS*(44), *pyrG*(45) *rplB*(4) et *rpoB*(6). L'analyse a permis de détecter 1 séquence type ST114 dans le génome de la souche *Enterobacter hormaechei* 20LM111. Ces résultats suggèrent que la souche de *Enterobacter hormaechei* 20LM111 est une souche clonale appartenant au clone ST114. La Prévalence du clone *Enterobacter hormaechei* ST114 a été notifiée dans plusieurs études épidémiologiques à travers le monde (Haenni *et al.*, 2016,).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les IVU, particulièrement celles causées par des bactéries multi-résistantes, représentent un défi majeur de santé publique à l'échelle mondiale et plus spécifiquement en Côte d'Ivoire. Cette étude rétrospective et expérimentale menée de 2019 à 2022 à Daloa visait à évaluer l'incidence des IVU pour contribuer à leur surveillance épidémiologique et une meilleure connaissance des IVU dans la ville de Daloa.

Les résultats ont montré un taux de suspicion d'IVU de 30,30 % sur cette période, avec une prédominance masculine (62,23 %) dans les consultations pour un examen cytobactériologique des urines (ECBU). La majorité des patients suspectés d'IVU était âgé de 20 à 30 ans et provenait de Daloa (91,14 %). L'incidence globale des IVU était de 13,75 %, avec un sexe ratio de 1,04 homme pour 1 femme atteinte. Les incidences annuelles variaient de 11,94 % à 17,22 %. Les IVU étaient causées majoritairement par *Escherichia coli* avec un taux d'isolement de 72,60 %. De plus, le phénotype de bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) a été détecté chez 15,08 % des entérobactéries, avec une prédominance de *Escherichia coli* (81,48 %), suivie de *Klebsiella sp.* (3,70 %) et d'autres entérobactéries non identifiées (14,81 %).

Cette étude met en lumière la complexité des IVU à Daloa et souligne l'importance d'une surveillance continue pour mieux comprendre et combattre ces infections. La présence élevée d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques et l'identification de nouveaux microorganismes pathogènes dans la région soulignent la nécessité d'une approche intégrée qui inclut des stratégies de prévention, de diagnostic précis et de traitement adaptés aux profils locaux de résistance aux antibiotiques. Toutes les souches bactériennes impliquées dans les infections urinaires à Daloa ont présenté des résistances variées aux antibiotiques. Les entérobactéries ont montré une moindre résistance à l'amikacine (11,2 %) et à l'imipénème (1,1 %), tandis que l'amoxicilline/acide clavulanique était l'antibiotique le moins efficace avec un taux de résistance de 67,6 %. Concernant le genre *Staphylococcus*, l'espèce *Staphylococcus aureus* a montré une résistance de 100 % à l'Acide fusidique (AF), à la Gentamicine (GMN) et à la Céfoxitine (FOX). Les souches de *Staphylococcus non aureus* étaient totalement résistantes à l'AF et ont présenté une résistance de 66,78 % à l'érythromycine (ERY). Les souches de *Staphylococcus sp.* ont été entièrement résistantes à l'ofloxacin (OFX), la clindamycine (CMN), l'érythromycine (ERY) et le triméthoprime/sulfaméthoxazole (SXT). L'analyse moléculaire basée sur l'ADNr 16S a mis en évidence le genre de 75 % des isolats reçus, le genre et l'espèce de 17,85 % des isolats. Par contre, l'analyse n'a pas pu caractériser le genre ni l'espèce de 7,15 % des isolats reçus.

Par ailleurs, l'exploration des génomes entiers séquencés des isolats 21LM367, 21LM1136 et 21LM07 initialement identifiés comme des souches de *Staphylococcus non*

aureus et *Providencia* sp. a montré que ces isolats étaient des souches de *Priestia flexa*. Tandis que l'isolat 20LM111 initialement identifié comme une souche de *Levinea* sp. était une souche de *Enterobacter hormaechei* et l'isolat 21LM561 initialement identifié comme des souches de *Staphylococcus non aureus* était une souche de *Staphylococcus saprophyticus*. La caractérisation moléculaire a révélé une diversité génétique notable, notamment en termes de gènes de résistance et de virulence et des éléments génétiques mobiles. Ces gènes représentent un enjeu de santé publique majeur, notamment en raison de leur contribution à la résistance contre de multiples familles d'antibiotiques. Le typage des séquences plasmidiques multilocus a permis de mettre en évidence que l'isolat 20LM111 appartenait au clone ST114. La prédiction des éléments génétiques mobiles dans les séquences des 5 souches soumises à l'étude a permis d'enregistrer la présence de plasmides, de phages, de cassettes d'intégrons en association avec des îlots de résistance. La souche de *Priestia flexa* 21LM07 n'a révélé ni gènes de virulence ni de résistance. La résistance de l'isolat 21LM1136 était exclusivement plasmidique et intrinsèque, tandis que les souches de *Priestia flexa* 21LM367 et de *Enterobacter hormaechei* 21LM111 ont présenté une résistance intrinsèque, plasmidique et chromosomique. Les résistances plasmidiques étaient médiées par les plasmides IncI2, rep7a, IncFIB(pQil) et IncR. Par contre, la souche de *Staphylococcus saprophyticus* 21LM561 a présenté des résistances à la fois chromosomiques et intrinsèques. L'isolat de *Priestia flexa* 21LM367 s'est avéré le plus virulent.

Ces découvertes fournissent des informations cruciales pour la compréhension des infections urinaires dans la région du Haut-Sassandra. Elles soulignent la nécessité d'une surveillance continue pour améliorer la prise en charge clinique et limiter la propagation de la résistance aux antibiotiques. Au-delà de la diversité génomique des souches séquencées, cette étude fournit une base importante pour la compréhension de l'incidence des infections urinaires dans la ville de Daloa ainsi qu'en Côte d'Ivoire et met en évidence la nécessité de continuer à surveiller ces infections pour une meilleure prise en charge clinique.

PERSPECTIVES

Cette étude ouvre des perspectives de recherche en vue de compléter les résultats obtenus. Il s'agira de :

- étendre l'étude sur toute l'étendue du territoire afin de connaître la l'incidence nationale de cette affection ;
- réaliser une enquête auprès des patients afin de connaître tous les facteurs à risque ;
- rechercher les gènes de méthylation ainsi que ceux qui codent pour les systèmes d'efflux impliqués dans la résistance de la souche de *Priestia flaxa* 21LM07 qui n'a hébergé aucun gène de résistance dans cette étude.
- caractériser les gènes de résistance et de virulence liés aux phages

RECOMMANDATIONS

1. Aux Autorités Sanitaires

- Utiliser les résultats de cette étude pour initier des campagnes nationales de sensibilisation sur les facteurs de risque associés aux IVU. L'objectif est de réduire la propagation de ces infections sur l'ensemble du territoire ivoirien.
- Améliorer le plateau technique pour les analyses microbiologiques
- Associer les techniques de séquençage de nouvelle génération aux méthodes microbiologiques classiques afin d'optimiser le diagnostic des IVU.

2. Aux Prescripteurs

- Prendre en compte les résultats d'antibiogrammes avant toute prescription d'antibiotiques pour assurer une utilisation appropriée de ces médicaments.
- Suivre strictement les protocoles de prescription des antibiotiques, que ce soit en monothérapie ou en association, pour surveiller et gérer efficacement la résistance aux antibiotiques.

3. À la Population

- Éviter les comportements à risque pouvant mener à une contamination
- Consulter immédiatement un professionnel de santé en cas de symptômes d'IVU
- Éviter la consommation inconsidérée d'antibiotiques sans prescription médicale
- S'abstenir de pratiquer l'automédication, en particulier avec des antibiotiques, pour prévenir l'émergence des résistances.

4. Aux Autorités Gouvernementales

- Mettre en place des Laboratoires de Bactériologie-Virologie dans les hôpitaux généraux et les centres de santé communautaires. Cela permettra de rapprocher les services de diagnostics des populations et d'améliorer l'accès aux soins.

REFERENCES

REFERENCES

- Aarts H. & Margolles A. (2015). Antibiotic resistance genes in food and gut (non-pathogenic) bacteria. Bad genes in good bugs. *Frontiers in Microbiology*, 5 (754) : 1-2.
- Agu G. C., Shoyemi W. R., Otu U. J. & Afolabi B. T. (2020). Prevalence of asymptomatic bacteriuria in healthy tertiary institution students in ijebu-north of ogun state Nigeria. *FUW Trends in Science & Technology Journal*, 5 (2) : 348-353.
- Abdelali S. (2016). Résistance des entérocoques aux antibiotiques. Microbiologie Appliquée, département de biologie. Mémoire de Master en faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen (Tlemcen, Algérie), 45 p.
- Ahmadi M., Ranjbar R., Behzadi P. & Mohammadian T. (2022). Virulence factors, antibiotic resistance patterns, and molecular types of clinical isolates of *Klebsiella Pneumoniae*. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 20 (3): 463-472.
- Ahmed H., Farewell D., Francis N.A., Paranjothy S. & Butler C.C. (2019). Choice of Empirical Antibiotic Therapy and Adverse Outcomes in Older Adults With Suspected Urinary Tract Infection: Cohort Study. *Open Forum Infectious Diseases*, 6 (3) : 1-6.
- Akoachere J.-F.T.K., Yvonne S., Akum N.H., & Seraphine E.N. (2012). Etiologic profile and antimicrobial susceptibility of community-acquired urinary tract infection in two Cameroonian towns. *BMC Research Notes*, 5 (219) : 1-8.
- Alcock BP., Raphenya AR., Lau TTY., Tsang KK., Bouchard M. & Edalatmand A. (2020). CARD 2020 : antibiotic resistance surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Research*, (48) : 517– 525.
- Alhazmi A.H., Alameer K.M., Abuageelah B.M., Alharbi R.H., Mobarki M., Musawi S., Haddad M., Matabi A. & Dhayhi N. (2023). Epidemiology and Antimicrobial Resistance Patterns of Urinary Tract Infections: A Cross-Sectional Study from Southwestern Saudi Arabia. *Medicina*, 59 (8) : 1400-1411.
- Almutawif Y.A. & Eid H.M.A. (2023). Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of bacterial uropathogens among adult patients in Madinah, Saudi Arabia. *BMC Infectious Diseases*, 23(1) : 1-11.
- Amorissani M.F., M'bengue A.K., Dainguy E., Faissal N.A. & Houenou Y. (2006). Infections urinaires néonatales : profils clinique et bactériologique. *Revue Internationale des Sciences Médicales* 8(1) : 45-49
- Anger J., Lee U., Ackerman A.L., Chou R., Chughtai B., Clemens J.Q., Hickling D., Kapoor A., Kenton K. S., Kaufman M.R., Rondanina M. A., Stapleton A., Stothers L. & Chai

REFERENCES

- T. C. (2019). Recurrent Uncomplicated Urinary Tract Infections in Women: AUA/CUA/SUFU Guideline. *Journal of urology*, 202(2) : 282-289.
- Antipov D., Hartwick N., Shen M., Raiko M., Lapidus A. & Pevzner P. A. (2016). plasmidSPAdes: Assembling Plasmids from Whole Genome Sequencing Data. *Bioinformatics Advance Access published*, 32 (22) : 3380-3387.
- Arndt D., Marcu A., Liang Y. & Wishart D. S. (2019). PHAST, PHASTER and PHASTEST : Tools for finding prophage in bacterial genomes. *Briefings in Bioinformatics*, 20 : 1560–1567.
- Bader M.S., Loeb M. & Brooks A. A. (2017). An update on the management of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance, *Postgraduate Medicine*, 129(2):242-258.
- Badran Y.A., El-Kashef T.A., Abdelaziz A.S. & Ali M.M. (2015). Impact of genital hygiene and sexual activity on urinary tract infection during pregnancy. *Urology Annals*, 7(4) : 478–481.
- Bailey R.R., Peddie B.A., Swainson C.P. & Kirkpatrick D. (1986). Sexual acquisition of urinary tract infection in a man. *Nephron*, 44(3) : 217-218.
- Bakour S., Touati A., Bachiri T., Sahli F., Tiouit D., Naim M., Azouaou M. & Rolain J. M. (2014). First report of 16S rRNA methylase ArmA-producing *Acinetobacter baumannii* and rapid spread of metallo-beta-lactamase NDM-1 in Algerian hospitals. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 20 : 696-701.
- Bartels, H. A., Cohen, G. & Scopp, I. W. (1969). Germ-tube formation by *Candida albicans*. *Journal of dental research*, 48 : 230-235.
- Bargoty M., Kumar L., Kachhap P., Das P., Sachdeva V., & Bhattar S. (2020). A Flow Cytometric and Cytochemistic Analysis of Urine to Detect Early Urinary Tract Infection. *Annals of Pathology and Laboratory Medicine*, 7(1) : 7-12.
- Barnes R.C., Daifuku R., Roddy R.E. & Stamm W.E. (1986). Urinary-tract infection in sexually active homosexual men. *Lancet (London, England)*, 1(8474) : 171–173.
- Baud D., Goy G., Osterheld M-C., Borel N., Vial Y., Pospischil A. & Greub G. (2011). *Waddlia chondrophila*: From bovine abortion to human miscarriage. *Clinical Infectious Diseases*, 52(12) :1469-71.
- Bayleyegn B., Fisaha R., & Kasew D. (2021). Fecal carriage of extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae among HIV infected children at the University of Gondar Comprehensive Specialized Hospital Gondar, Ethiopia. *AIDS Research and Therapy*, 18(1) : 1-9.

REFERENCES

-
- Behzadi P., Behzadi E., & Ranjbar R. (2015). Urinary tract infections and *Candida albicans*. *Central European Journal of Urology*, 68(1) : 96-101.
- Belbel Z. (2014). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse de Doctorat en Microbiologie Appliquée, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie, 146 p.
- Belete M.A., & Saravanan M. (2020). A Systematic Review on Drug Resistant Urinary Tract Infection Among Pregnant Women in Developing Countries in Africa and Asia ; 2005-2016. *Infection and Drug Resistance*, 13: 1465-1477.
- Bent S., Nallamotheu B.K., Simel D. L., Fihn S.D. & Saint S. (2002). Does this woman have an acute uncomplicated urinary tract infection ? *Journal of the American Medical Association*, 287(20) : 2701-10.
- Bergogne-Bérézin E. (2008). Lower urinary tract infections : bacterial epidemiology and recommendations. *Journal De l'Association Francaise D'urologie*, 18(1) : 11-14.
- Bettcher C.M., Campbell E., Petty L.A., Rew K.T., Zelnik J.C., Lane G.I., Van Harrison R., Proudlock A.L. & Rew K.T. (2021). Ambulatory Urinary Tract Infection (UTI) in Adults, Pregnant Women and Minors. *Michigan University Press*, Michigan (Ann Arbor), 36 p.
- Bilsen M.P., Jongeneel R.M.H., Schneeberger C., Platteel T.N., van Nieuwkoop C., Mody L., Caterino J.M., Geerlings S.E., Köves B., Wagenlehner F., Conroy S.P., Visser L.G. & Lambregts M.M.C. (2023). Definitions of Urinary Tract Infection in Current Research: A Systematic Review. *Open Forum Infectious Diseases*, 10(7) : 1-8.
- Bonhomme C. J., Renesto P., Nandi S., Lynn A. M. & Raoult D. (2008). Serological microarray for a paradoxical diagnostic of Whipple's disease. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* ; 27(10) : 959-68.
- Bortolaia V., Kaas R. S., Ruppe E., Roberts M. C., Schwarz S., Cattoir V., Philippon A., Allesoe R. L., Rebelo A. R., Florensa A. F., Fagelhauer L., Chakraborty T., Neumann B., Werner G., Bender J. K., Stingl K., Nguyen M., Coppens J., Xavier B. B., Malhotra-Kumar S., Westh H., Pinholt M., Anjum M. F., Duggett N. A, Kempf I., Nykäsenoja S., Olkkola S., Wieczorek K., Amaro A., Clemente L., Mossong J., Losch S., Ragimbeau C., Lund O. & Aarestrup F. M. (2020). ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *J. Antimicrob. Chemother*, 12 : 3491-3500.
- Boumba A.E.L., Lebonguy A.A., Chancelvy P.L.P., Moukala M.B. & Goma-Tchimbakala J. (2022). Hygienic quality of fermented pepper sold in the markets of Brazzaville. *Journal of Food Security*, 10(1) : 17-24.

REFERENCES

- Bradford P.A. (2001). Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4) : 933-951.
- Brauer A.L., Learman B.S., Taddei S.M., Deka N., Hunt B.C. & Armbruster C.E. (2022). Preferential catabolism of l- vs d-serine by *Proteus mirabilis* contributes to pathogenesis and catheter-associated urinary tract infection. *Molecular Microbiology*, 118(3) : 125-144.
- Britt H., Miller G.C., Henderson J., Bayram C., Harrison C., Valenti L., Pan Y., Charles J., Pollack A.J., Wong C. & Gordon J. (2016). General practice activity in Australia 2015–2016. *Sydney University Press*, Sydney (Australia), 200 p.
- Brown P., Ki M. & Foxman B. (2005). Acute pyelonephritis among adults: cost of illness and considerations for the economic evaluation of therapy. *Pharmacoeconomics*, 23(11) : 1123-1142.
- Brown C. L, Mullet J., Hindi F., Stoll J. E, Gupta S., Choi M., Keenum I., Vikesland P., Pruden A. & Zhang L. (2022). mobileOG-db: a Manually Curated Database of Protein Families Mediating the Life Cycle of Bacterial Mobile Genetic Elements. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(18) : e0099122.
- Bruyère F., Buendia-Jiménez I., Cosnefroy A., Lenoir-Wijnkoop I., Tack I., Molinier L., Daudon M. & Nuijten M.J.C. (2015). [Urinary tract infections: Economical impact of water intake]. *Progres En Urologie : Journal De l'Association Francaise D'urologie Et De La Societe Francaise D'urologie*, 25(10) : 590-597.
- Bryskier A. (1999). Antibiotiques agents antibactériens et antifongiques. *Editions Ellipses*, 1216 p.
- Caljouw M.A.A., den Elzen W.P.J., Cools H.J.M. & Gussekloo J. (2011). Predictive factors of urinary tract infections among the oldest old in the general population. A population-based prospective follow-up study. *BMC medicine*, 9(57) : 1-8.
- Cambau E. & Guillard T. (2012). Antibactériens agissant sur la synthèse et la conformation des acides nucléiques *Revue scientifique et technique*, 31 : 65-76.
- Carattoli A., Zankari E., Garcia-Fernandez A., Larsen M.V., Lund O., Villa L., Aarestrup F.M. & Hasman H. (2014). In Silico detection and typing of plasmids using plasmidfinder and plasmid multilocus sequence typing. *Antimicrob. Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 58 : 3895–3903.

REFERENCES

- Cavallo J.-D. & Garrabé É. (2002). Outils du diagnostic biologique des infections urinaires nosocomiales (IUN) : analyse critique, *Médecine et maladies infectieuses*, 33 (2003) : 447–456
- Changeur N. & Cherruault M. (2009). Pharmacologie des aminosides (aminoglycosides), 3 p.
- Chathalingath N., Kingsly J.S. & Gunasekar A. (2022). Biosynthesis and biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate) from *Priestia flexa* ; A promising mangrove halophyte towards the development of sustainable eco-friendly bioplastics, *Microbiological Research* 267 (2023) :127270.
- Chemlal A., Ismaili F.A., Karimi I., Elharraqui R., Benabdellah N., Bekaoui S., Haddiya I. & Bentata Y. (2015). Les infections urinaires chez les patients insuffisants rénaux chroniques hospitalisés au service de néphrologie : profil bactériologique et facteurs de risque. *The Pan African Medical Journal*, 20(100) : 1-7.
- Chen S., Zhou Y., Chen Y. & Gu J. (2018). fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ pre-processor, *Bioinformatics*, 34 : i884– i890.
- Cissé F. (2019). Les infections urinaires dues à des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi : symptomatologie et prise en charge dans le service de néphrologie du CHU Point G. Thèse de Doctorat, Faculté de médecine et d'odontostomatologie, Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (Bamako, Mail), 86p.
- Clarridge J.E. (2004). Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases, *Clinical Microbiology Review*, 17(4) : 840-862.
- Clermont O., Christenson J., Denamur E. & Gordon D. (2013). The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: Improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental Microbiology Reports*, 5(1) : 58-65.
- Colgan R., Nicolle L.E., McGlone A. & Hooton T.M. (2006). Asymptomatic bacteriuria in adults. *American Family Physician*, 74(6) : 985-990.
- Compain F., Frangeul L., Drieux L., Verdet C., Brisse S., Arlet G. & Decré D. (2014). Complete Nucleotide Sequence of Two Multidrug-Resistant IncR Plasmids from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(7) : 4207-4210.
- Coudron P.E., Hanson N.D. & Climo M.W. (2003). Occurrence of extended-spectrum and AmpC beta-lactamases in bloodstream isolates of *Klebsiella pneumoniae* : isolates harbor plasmid-mediated FOX-5 and ACT-1 AmpC beta-lactamases. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(2) : 772-777.

REFERENCES

-
- Coulibaly M., Kouamé J., Kadjo F., Koumi-Mélèdje M.-D., Hounsa A., Sackou-Kouakou J. & Aké O. (2022). Determinants of contraceptive use in Abidjan (Côte d'Ivoire). *Journal of Public Health in Africa*, 13(2) : 1-5.
- Craig J., Knight J., Sureshkumar P., Lam A., Onikul E. & Roy L. (1997). Vesicoureteric reflux and timing of micturating cystourethrography after urinary tract infection. *Archives of Disease in Childhood*, 76(3) : 275-277.
- Cybulski Z., Schmidt K., Grabiec A., Talaga Z., Bociąg P., Wojciechowicz J., Roszak A. & Kycler W. (2013). Usability application of multiplex polymerase chain reaction in the diagnosis of microorganisms isolated from urine of patients treated in cancer hospital. *Radiology and Oncology*, 47(3) : 296-303.
- D'Humières C., Salmona M., Dellièvre S., Leo S., Rodriguez C., Angebault C., Alanio A., Fourati S., Lazarevic V., Woerther P-L., Schrenze J. & Ruppé E. (2021). The Potential Role of Clinical Metagenomics in Infectious Diseases : Therapeutic Perspectives. *Drugs*, 81(13) :1453-1466.
- Davey P., Marwick C.A., Scott C. L., Charani E., McNeil K., Brown E., Gould I. M., Ramsay C. R. & Michie S. (2017). Interventions to improve antibiotic prescribing practices for hospital inpatients, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2(2):CD003543.
- Davison J. (1999). Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*, 42(2) : 73–91.
- de Lafforest S., Magnier A., Vallée M., Le Goux C., Zahar J., Sotto A., Bruyere F. & Grammatico-Guillon L. (2021). Prévalence des infections urinaires hospitalisées en France : une cohorte historique. *Infectious Diseases Now*, 51(5) : 103-104.
- Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le Laboratoire d'analyse ou de contrôle Sanitaire. Lavoisier, Paris (France), 476p.
- Delettre N. (2023) Apport des technologies de séquençage haut débit en microbiologie clinique : revue de la littérature et projet d'implantation au CHU de Rouen. Thèse de Doctorat, UFR SANTE – Département pharmacie, université de rouen normandie (rouen normandie, France), 82p.
- Den Heijer C.D.J., van Dongen M.C.J.M., Donker G.A. & Stobberingh E.E. (2012). Diagnostic approach to urinary tract infections in male general practice patients : a national surveillance study. *The British Journal of General Practice : The Journal of the Royal College of General Practitioners*, 62(604) : 780-786.
- Deswal G., Selwal M.K., Nirvan H. & Selwal K.K. (2023). *Priestia flexa* KS1 : A new bacterial strain isolated from human faeces implicated in mucin degradation. *International*

REFERENCES

- Microbiology : The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*, 26(3) : 475-486.
- Dhakal B.K., Kulesus R.R. & Mulvey M.A. (2008). Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic *Escherichia coli*. *European Journal of Clinical Investigation*, 38(2) : 2-11.
- Di Bella J. M., Bao Y., Gloor G. B., Burton J. P. & Rei G. (2013). High Throughput Sequencing Methods and Analysis for Microbiome Research. *Journal of Microbiological Methods*, 95(3) : 401-14.
- Diarra L., Diarra S., Sangaré A., Diepkile A., Sanogo A., Marico M., Doumbia S., Bagayoko M., Dembélé D., Doumbia T., Dissa M., Ouologuem I & Coulibaly S. (2022). Profil Épidémiologique et Bactériologique des Infections du Tractus Urinaire au Laboratoire de Biologie Médicale de l'Hôpital de Sikasso. *Health Sciences and Disease*, 23 (12) : 65-68
- Djakaridja K., Famoussa K., Tatiana Y.M., Juliette K.-O., Salifou K., Jean-Marie K., Renaud K.G., Kevin A.J., Ouffoué K. & Bourheima O. (2023). Etiologies of infections in diabetic patients hospitalized at bouake univerty teaching hospital, Côte d'Ivoire. *African Journal of Infectious Diseases*, 17(2) : 1-5.
- Donkor E.S., Horlortu P.Z., Dayie N.T., Obeng-Nkrumah N. & Labi A.-K. (2019). Community acquired urinary tract infections among adults in Accra, Ghana. *Infection and Drug Resistance*, 12 : 2059-2067.
- Dosso M., Bissagnene E., Coulibaly M., Ketté F. H., N'Douba A., Guessennnd N., Diaha H., Bouzid S.A., Koffi C.A., M'Bengue A., Adou P.G., Fofana K. & Kadio A. (2000). Résistances acquises et prescriptions d'antibiotiques en Afrique: quelles adéquations? *Médecine et Maladies Infectieuses*, 30 : 197-204.
- Du Q., Xi X., Dong J., Zhang T., Li D., Dong Y., Li W., Huang G., Zhu J., Ran H., Gou J., Chen C., Bai Z., Liu Q., Yao W., Zhang L., Bi Y. & Liu S. (2023). The impact of pharmacist early active consultation (PEAC) on multidrug resistance organism treatment outcomes: A prospective historically controlled study. *Frontiers in Pharmacology*, 14(1128219) : 1-10.
- Dumaru R., Baral R & Shrestha L. B. (2019). Study of biofilm formation and antibiotic resistance pattern of gram-negative Bacilli among the clinical isolates at BPKIHS, Dharan. *BMC Res Notes*, 12 :38-44.

REFERENCES

- Ebongue C. O., Tsiazok M. D., Mefo'o J. P.N., Ngaba G. P., Beyiha G. & Adiogo D. (2015). Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012, *Pan African Medical Journal*, 20 : 227-238.
- El Bouamri M.C., Arsalane L., Kamouni Y., Yahyaoui H., Bennouar N., Berraha M. & Zouhair S. (2014). Profil actuel de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* uropathogènes et conséquences thérapeutiques. *Progrès en Urologie*, 24(16) : 1058-1062.
- Emiru T., Beyene G., Tsegaye W. & Melaku S. (2013). Associated risk factors of urinary tract infection among pregnant women at Felege Hiwot Referral Hospital, Bahir Dar, North West Ethiopia. *BMC research notes*, 6(292) : 1-6.
- Endimiani A. & Paterson D.L. (2007). Optimizing therapy for infections caused by enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 28(6) : 646-655.
- Eto D.S., Jones T.A., Sundsbak J.L. & Mulvey M.A. (2007). Integrin-mediated host cell invasion by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *PLoS pathogens*, 3(7) : 949-961.
- Fahime E.E. & Ennaji M.M. (2007). Évolution des techniques de séquençage. *Les technologies de Laboratoire*, 2(5) : 4-12.
- Faye O., Boëlle P.-Y., Heleze E., Faye O., Loucoubar C., Magassouba N., Soropogui B., Keita S., Gakou T., Bah E.H.I., Koivogui L., Sall A. A. & Cauchemez S. (2015). Chains of transmission and control of Ebola virus disease in Conakry, Guinea, in 2014: an observational study. *The Lancet Infectious Diseases*, 15(3) : 320-326.
- Fenwick E. A. L., Briggs A. H. & Hawke CI. (2000). Management of urinary tract infection in general practice : a cost-effectiveness analysis. *British Journal of General Practice*, 50 : 635-639.
- Flores-Mireles A. L., Walker J. N., Caparon M. & Hultgren S. J. (2015). Urinary tract infections : epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews. Microbiology*, 13(5) : 269-284.
- Foxman B. (2002). Epidemiology of urinary tract infections : prévalence, morbidité, and economic costs. *The American Journal of Medicine*, 113(1) : 1054-1059.
- Foxman B. (2010). The epidemiology of urinary tract infection. *Nature Reviews. Urology*, 7(12) : 653-660.
- Foxman B. (2014). Urinary Tract Infection Syndromes : Occurrence, Recurrence, Bacteriology, Risk Factors, and Disease Burden. *Infectious Disease Clinics*, 28(1) : 1-13.

REFERENCES

- Foxman B., Barlow R., D'Arcy H., Gillespie B. & Sobel J.D. (2000). Urinary tract infection : self-reported prevalence and associated costs. *Annals of Epidemiology*, 10(8) : 509-515.
- Foxman B., Marsh J., Gillespie B., Rubin N., Koopman J.S. & Spear S. (1997). Condom Use and First-Time Urinary Tract Infection. *Epidemiology*, 8(6) : 637-641.
- Freeman J.T., Anderson D.J. & Sexton D.J. (2009). Seasonal peaks in *Escherichia coli* infections : possible explanations and implications. *Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 15(10) : 951-953.
- Freney J., Renaud F., Hansen W. & Bollet C. (2000). Précis de bactériologie clinique. Éditions ESKA, France, 1692 p.
- Fusco A., Coretti L., Savio V., Buommino E., Lembo F. & Donnarumma G. (2017). Biofilm Formation and Immunomodulatory Activity of *Proteus mirabilis* Clinically Isolated Strains. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2) : 1-11.
- Garralda E., Dienstmann R., Piris-Giménez A., Braña I., Rodon, J. & Tabernero J. (2019). New Clinical Trial Designs in the Era of Precision Medicine. *Molecular Oncology*, 13(3) : 549-557.
- Gordon K.A. & Jones R.N. (2003). Susceptibility patterns of orally administered antimicrobials among urinary tract infection pathogens from hospitalized patients in North America: comparison report to Europe and Latin America. Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 45(4) : 295-301.
- Grad Y. H., Lipsitch M., Feldgarden M., Arachchi H. M., Cerqueira G. C., Fitzgerald M., Godfrey P., Haas B. J., Murphy C. I., Russ C., Sykes S., Walker B.J., Wortman J. R., Young S., Zeng Q., Abouelleil A., Bochicchio J., Chauvin S., Desmet T., Gujja S., McCowan C., Montmayeur A., Steelman S., Frimodt-Møller J., Petersen A. M., Struve C., Krogfelt K. A., Bingen E., Weill F-X., Lander E. S., Birren B. W., Hung D.T. & Hanage W.P. (2012). Genomic epidemiology of the *Escherichia coli* O104 :H4 outbreaks in Europe, 2011. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109 (8) : 3065–3070.
- Grant J. R., Enns E., Marinier E., Mandal A., Herman E. K., Chen C. Y., Graham M., Van Domselaar G., & Stothard P. (2023). Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes, *Nucleic Acids Research*, 51 : W484–W492.
- Gupta K, Hooton T. M., Miller L. (2011). Managing uncomplicated urinary tract infection making sense out of resistance data, *Clinical Infectious Diseases*, 53(10) : 1041-2.

REFERENCES

- Gupta A., Bansal N. & Houston B. (2012). Metabolomics of urinary tract infection : a new uroscope in town. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 12(4) : 361-369.
- Gupta K. & Trautner B. (2012). In the clinic. Urinary tract infection. *Annals of Internal Medicine*, 56(5): ITC3-1-ITC3-15.
- Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N. & Tesler G. (2013). QUASt : Quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*, 29 :1072-1075.
- Haab F., Costa P., Colau J-C., Gérard A., Liard F., Bohbot J-M., Leng J-J., Lobel B., Soussy C-J. & Boulanger P. (2006). Les infections urinaires de la femme en médecine générale. *La Presse Médicale*, 35(9) : 1235-1240.
- Haaber J., Leisner J. J., Cohn M. T., Catalan-Moreno A., Nielsen J. B., Westh H. (2016). Bacterial viruses enable their host to acquire antibiotic resistance genes from neighbouring cells. *Nature Communications*, 7: 1-8.
- Habib I., Elbediwi M., Mohamed M.-Y.I., Ghazawi A., Abdalla A., Khalifa H.O. & Khan M. (2023). Enumeration, antimicrobial resistance and genomic characterization of extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* from supermarket chicken meat in the United Arab Emirates. *International Journal of Food Microbiology*, 398(1) : 110218-110224.
- Hamze M., Dabboussi F., Daher W. & Izard D. (2003). Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* au Nord du Liban place de la résistance à la méticilline et comparaison des méthodes de détection. *Pathologie Biologie*, 51(1) : 21-26.
- Hawa T. (2006). Les infections urinaires dans le service de néphrologie et d'hémodialyse de l'hôpital du point. Thèse de Doctorat, a Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odontostomatologie, Université de Bamako (Bamako, Mali), 105 p.
- Haenni M., Saras E., Ponsin C., Dahmen S. Petitjean M., Hocquet D. & Madec J-Y. (2016). High prevalence of international ESBL CTX-M-15-producing *Enterobacter cloacae* ST114 clone in animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71: 1497-1500.
- Helmy Y.A., Fawzy M., Elasad A., Sobieh A., Kenney S. P. & Shehata A. A. (2020). The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. *Journal of Clinical Medicine*, 9(4) : 1225-1254.
- Hooton T.M. (2012). Clinical practice. Uncomplicated urinary tract infection. *The New England Journal of Medicine*, 366(11) : 1028-1037.

REFERENCES

-
- Hooton T.M., Roberts P.L., Cox M.E., Stapleton A.E. (2013). Voided midstream urine culture and acute cystitis in premenopausal women. *New England Journal of Medicine*, 369(20):1883-91.
- Hooton T.M. & Stamm W.E. (1997). Diagnosis and treatment of uncomplicated urinary tract infection. *Infectious Disease Clinics of North America*, 11(3) : 551-581.
- Hozzari A., Behzadi P., Kerishchi Khiabani P., Sholeh M. & Sabokroo N. (2020). Clinical cases, drug resistance, and virulence genes profiling in Uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Applied Genetics*, 61(2) : 265-273.
- Hsueh P.-R., Hoban D.J., Carmeli Y., Chen S.-Y., Desikan S., Alejandria M., Ko W.-C. & Binh T.Q. (2011). Consensus review of the epidemiology and appropriate antimicrobial therapy of complicated urinary tract infections in Asia-Pacific region. *The Journal of Infection*, 63(2) : 114-123.
- Huang X., Duan N., Xu H., Xie T.N., Xue Y.-R. & Liu C.-H. (2018). DNA isolation from polysaccharide-rich fungi using CTAB-PEG, *Molecular Biology*, 52(4) : 718-726.
- Hupalo D. N., Luo Z., Melnikov A., Sutton P. L., Rogov P., Escalante A., Vallejo A. F., Herrera S., Arévalo-Herrera M., Fan Q., Wang Y., Cui L., Lucas C. M., Durand S., Sanchez J. F., Baldeviano G. C., Lescano A.G., Laman M., Barnadas C., Barry A., Mueller I., Kazura J. W., Eapen A., Kanagaraj D., Valecha N., Ferreira M. U., Roobsoong W., Nguitragoo W., Sattabonkot J., Gamboa D., Kosek M., Vinetz J. M., González-Cerón L., Birren B. W., Neafsey D. E. & Carlton J. M. (2016). Population genomics studies identify signatures of global dispersal and drug resistance in *Plasmodium vivax*. *Nature Genetics*, 48(8) : 953-8.
- Islam M.A., Islam M.R., Khan R., Amin M.B., Rahman M., Hossain M.I., Ahmed D., Asaduzzaman M. & Riley L.W. (2022). Prevalence, etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in Dhaka, Bangladesh. *PLOS ONE*, 17(9) : 1-13.
- Jafri S.A., Qasim M., Masoud M.S., Rahman M., Izhar M. & Kazmi S. (2014). Antibiotic resistance of *E. coli* isolates from urine samples of Urinary Tract Infection (UTI) patients in Pakistan. *Bioinformation*, 10(7) : 419-422.
- Jalilian N., Kooshkiforooshani M., Ahmadi S. & Nankali A. (2019). Colonisation with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in pregnant/post-partum women: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 19 : 338–347.

REFERENCES

- Jalilian S., Farahani A., Mohajeri P. & Mohajeri P. (2014). Antibiotic resistance in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections out-patients in Kermanshah. *International Journal of Medicine and Public Health*, 4(1) : 75–77.
- Janda J.M. & Abbott S.L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*. 45(9) : 2761-2764.
- Johansena T. E. B., Botto H., Cekc M., Grabe M., Tenkee P., Wagenlehner F. M. E. & Naber K. G. (2011). Critical review of current definitions of urinary tract infections and proposal of an EAU/ESIU classification system. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38S: 64–70.
- Johnson J. S., Spakowicz D. J., Hong B-Y., Petersen L M., Demkowicz P., Chen L., Leopold S. R., Hanson B. M., Agresta H.O., Gerstein M., Sodergren E., & Weinstock G. M. (2019). Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature communications*, 10: 5029- 5040.
- Johnson J.R. (1991). Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 4(1) : 80-128.
- Jordan B. (2021). La génomique et la diversité humaine. *Cahiers de l'Urmis*,(20): 1-17.
- Kacou N. A., Koffi K.S., Ekaza E., Kouamé E. C., Blessa A.C.J. & Dosso M. (2011). *Staphylococcus aureus* infection and virulence genes in abidjan (Côte d'Ivoire). *European Journal of Scientific Research*, 52 : 339-344.
- Kalinderi K., Delkos D., Kalinderis M., Athanasiadis A. & Kalogiannidis I. (2018). Urinary tract infection during pregnancy : current concepts on a common multifaceted problem. *The Journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology*, 38(4) : 448-453.
- Kang C-I., Kim J., Park D. W., Kim B-N., Ha U-S., Lee S-J., Yeo J. K., Min S. K., Lee H. & Wie S-H. (2018). Clinical Practice Guidelines for the Antibiotic Treatment of Community-Acquired Urinary Tract Infections. *Infection & Chemotherapy*, 50(1):67-100
- Kass E.H. (1956). Asymptomatic infections of the urinary tract. *Transactions of the Association of American Physicians*, 69 : 56-64.
- Kateete D.P., Kimani C.N., Katabazi F.A., Okeng A., Okee M.S., Nanteza A., Joloba M.L. & Najjuka F.C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus* : DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9(23) : 1-7.

REFERENCES

- Kebbi-Beghdadi C., Lienard J., Uyttebroeck F., Baud D., Riederer B. M. & Greub G. (2012). Identification of immunogenic proteins of *Waddlia chondrophila*. *PLoS One*, 7(1) : e28605.
- Khandelwal P., Abraham S.N. & Apodaca G. (2009). Cell biology and physiology of the uroepithelium. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 297(6) : 1477-1501.
- Klein R.D. & Hultgren S.J. (2020). Urinary tract infections: microbial pathogenesis, host-pathogen interactions and new treatment strategies. *Nature reviews. Microbiology*, 18(4) : 211-226.
- Koeijers J.J., Kessels A.G.H., Nys S., Bartelds A., Donker G., Stobberingh E.E. & Verbon A. (2007). Evaluation of the nitrite and leukocyte esterase activity tests for the diagnosis of acute symptomatic urinary tract infection in men. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 45(7) : 894-896.
- Kouassi-M'Bengue A., Folquet-Amorissani M., Nassirou F., Guessennnd-Kouadio N., Kacou-N'Douba A., Houenou Y. & Dosso M. (2008). Les infections urinaires néonatales à Abidjan: problématique de la résistance bactérienne. *Mali Médical*, 23(1) : 34-37.
- Kucheria R., Dasgupta P., Sacks S., Khan M. & Sheerin N. (2005). Urinary tract infections: new insights into a common problem. *Postgraduate Medical Journal*, 81(952) : 83-86.
- Kumar M.S. & Das A.P. (2017). Emerging nanotechnology based strategies for diagnosis and therapeutics of urinary tract infections: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 249 : 53-65.
- Labombardi V.J., Rojzman A. & Tran K. (2006). Use of cefepime for the treatment of infections caused by extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 56(3) : 313-315.
- Lammers R.L., Gibson S., Kovacs D., Sears W. & Strachan G. (2001). Comparison of test characteristics of urine dipstick and urinalysis at various test cutoff points. *Annals of Emergency Medicine*, 38(5) : 505-512.
- Lamoril J., Ameziane N., Deybach J.-C., Bouizegarène P. & Bogard M. (2008). Les techniques de séquençage de l'ADN: une révolution en marche. Première partie. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 23(5) : 260-279.
- Larabi K., Masmoudi A. & Fendri C. (2003). Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis : à propos de 1930 cas. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 33(7) : 348-352.

REFERENCES

- Latham R. H., Running K. & Stamm W. E. (1983). Urinary tract infections in young adult women caused by *Staphylococcus saprophyticus*, *Journal of the American Medical Association* ;250 (22) :3063-3066.
- Lavigne J.-P., Bourg G., Botto H. & Sotto A. (2007). Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) et infections urinaires: étude et revue de la littérature. *Pathologie Biologie*, 55(9) : 460-464.
- Lays C., Romilly C., Tomasini A., Caldelari I., Benito Y., Hammann P., Geissmann T., Boisset S., Romby P. & Vandenesch F. (2014). L'ARN non codant RsaA favorise la persistance et atténue la virulence de *Staphylococcus aureus*, *Medecine Sciences* , 30 (10) :839-841.
- Le Bouter A., Leclercq R. & Cattoir V. (2011). Molecular basis of resistance to macrolides, lincosamides and streptogramins in *Staphylococcus saprophyticus* clinical isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37(2) : 118-123.
- Lee G. (2011). Uroplakins in the lower urinary tract. *International Neurourology Journal*, 15(1) : 4-12.
- Leroy V. & Mariani-Kurkdjian P. (2004). Épidémiologie et diagnostic des infections urinaires. *Médecine thérapeutique Pédiatrie*, 7(3) : 173-179.
- Lichtenberger P. & Hooton T. M. (2008). Complicated Urinary Tract Infections. *Current Infectious Disease Reports*, 10(6) :499-504.
- Lin J., Tang B., Zheng X., Chang J., Ma J., He Y., Yang H. & Wu Y. (2022). Emergence of IncI2 plasmid-mediated colistin resistance in avian *Escherichia fergusonii*. *FEMS microbiology letters*, 369(1) : 1–9.
- Liu, B., Zheng, D., Jin, Q., Chen, L. & Yang, J. (2018). VFDB 2019 : a comparative pathogenomic platform with an interactive web interface. *Nucleic Acids Research*. 47, 687–692.
- Lobel B. & Soussy C. (2007). Les infections urinaires. *Springer Science & Business Media*, Monographies en urologie, Paris (France) 242 p.
- Lucas M.J. & Cunningham F.G. (1993). Urinary Infection in Pregnancy. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 36(4) : 855-68.
- Lugtenberg M., Burgers J.S., Zegers-van Schaick J.M. & Westert G.P. (2010). Guidelines on uncomplicated urinary tract infections are difficult to follow: perceived barriers and suggested interventions. *BMC family practice*, 11(51) : 1-8.
- Luka D., Ouologuem I., Disa M., Doumbia T., Dembélé D., Bagayoko M., Doumbia S., Marico M., Diepkile A., Sangaré A., Diarra S. & Coulibaly S. (2022). Epidemiology

REFERENCES

- and bacteriological pattern of urinary tract infections at the medical biology laboratory of the Sikasso hospital. *Health Sciences And Disease*, 23(12) : 65-68.
- Magill S.S., Edwards J.R., Bamberg W., Beldavs Z.G., Dumyati G., Kainer M.A., Lynfield R., Maloney M., McAllister-Hollod L., Nadle J., Ray S.M., Thompson D.L., Wilson L.E., Fridkin S.K. & Emerging Infections Program Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use Prevalence Survey Team (2014). Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *The New England Journal of Medicine*, 370(13) : 1198-1208.
- Mancuso G., Midiri A., Gerace E., Marra M., Zummo S. & Biondo C. (2023). Urinary Tract Infections: The Current Scenario and Future Prospects. *Pathogens*, 12(4) : 606-623.
- Mardis E.R. (2008). The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends in Genetics*, 24(3): 133-141.
- Maris S. (2016). Caractérisation de souches d'*Escherichia coli* pathogènes urinaires provenant de Guadeloupe: portrait de la diversité des facteurs de virulences présents. Masters, Université du Québec, Institut National de la Recherche Scientifique (Québec, Canada), 99 p.
- Martins E.R., Bueno M.F.C., Francisco G.R., Casella T., De Oliveira Garcia D., Cerdeira L.T., Gerber A.L., De Almeida L.G.P., Lincopan N., De Vasconcelos A.T.R., Nogueira M.C.L. & Estofolete C.F. (2020). Genome and plasmid context of two rmtG-carrying *Enterobacter hormaechei* isolated from urinary tract infections in Brazil. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 20 : 36-40.
- Martins K. B., Ferreira A.M., Pereira V.C., Pinheiro L., Oliveira A.D. & Cunha M.D. (2019). In vitro effects of antimicrobial agents on planktonic and biofilm forms of *Staphylococcus saprophyticus* isolated from patients with urinary tract infections. *Frontiers In Microbiology*, 10(40): 1-9.
- Martin-Liberal J., Hierro C., Ochoa de Olza, M. & Rodon, J. (2017). Immuno-Oncology: The Third Paradigm in Early Drug Development. *Targeted Oncology*, 12(2) :125-138.
- Masajtis-Zagajewska A. & Nowicki M. (2017). New markers of urinary tract infection. *Clinica Chimica Acta*, 471 : 286-291.
- Matthews S. J. & Lancaster J. W. (2011). Urinary tract infections in the elderly population. *The American Journal of Geriatric Pharmacotherapy*, 9(5) : 286-309.
- Mazzariol A., Bazaj A. & Cornaglia G. (2017). Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)*, 29(1) : 2-9.

REFERENCES

- Mcarthur, A. G., Waglechner, N., Nizam, F., Yan, A., Azad, M. A. & Baylay, A. J. (2013). The comprehensive antibiotic resistance database. *Antimicrob Agents Chemother.* 57 (7) : 3348–3357.
- Medina M. & Castillo-Pino E. (2019). An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. *Therapeutic Advances in Urology*, 11 : 3-7.
- Meier-Kolthoff J. P. & Goker M. (2019). TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy. *Nature Communication*, 10(1) : 2182-2192.
- Mignard S. & Flandrois J. P. (2006). 16S rRNA sequencing in routine bacterial identification : A 30-month experiment. *Journal of Microbiological Methods*, 67 (3) : 574-581.
- Mikheenko A., Prjibelski A., Saveliev V., Antipov D. & Gurevich A. (2018). Versatile genome assembly evaluation with QUASTLG. *Bioinformatics*, 34 : i142–i150.
- Miller J.R., Koren S. & Sutton G. (2010). Assembly algorithms for next-generation sequencing data. *Genomics*, 95(6) : 315-327.
- Minchella A., Molinari L., Alonso S., Bouziges N., Sotto A. & Lavigne J.-P. (2010). Evolution of antimicrobial resistance against *Pseudomonas aeruginosa* in a French university hospital between 2002 and 2006. *Pathologie-Biologie*, 58(1) : 1-6.
- Mlaga K.D., Dubourg G., Abat C., Chaudet H., Lotte L., Diene S.M., Raoult D., Ruimy R. & Rolain J.-M. (2017). Using MALDI-TOF MS typing method to decipher outbreak: the case of *Staphylococcus saprophyticus* causing urinary tract infections (UTIs) in Marseille, France. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases : Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 36(12) : 2371-2377.
- Mody L. & Juthani-Mehta M. (2014). Urinary tract infections in older women: a clinical review, *Journal of the American Medical Association*, 311(8):844-54.
- Monahan L. G., DeMaere M. Z., Cummins M. L., Djordjevic S. P., Chowdhury P. R. & Darling A.E. (2019). High contiguity genome sequence of a multidrug-resistant hospital isolate of *Enterobacter hormaechei*. *Gut Pathogens*, 11(3) : 1-6.
- Mortazavi-Tabatabaei S.A.R., Ghaderkhani J., Nazari A., Sayehmiri K., Sayehmiri F. & Pakzad I. (2019). Pattern of Antibacterial Resistance in Urinary Tract Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *International Journal of Preventive Medicine*, 10(169) :1-16.
- Mulvey M.A., Schilling J. D., Martinez J. J. & Hultgren S.J. (2000). Bad bugs and beleaguered bladders: Interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses,

REFERENCES

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(16):8829-35.
- Mulvey M. A. (2002). Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*. *Cellular Microbiology*, 4(5) : 257–271.
- Muylaert A. & Mainil J. (2013). Résistances aux fluoroquinolones : la situation actuelle. *Annales De Medecine Veterinaire*, 157 : 15-26.
- Mwambi B., Iramiot J., Bwanga F., Nakaye M., Itabangi H. & Bazira J. (2014). Clindamycin Resistance among *Staphylococcus Aureus* Isolated at Mbarara Regional Referral Hospital, in South Western Uganda. *British microbiology research journal*, 4(12) : 1335-1344.
- Mwang'onde B.J. & Mchami J.I. (2022). The aetiology and prevalence of urinary tract infections in Sub-Saharan Africa: a Systematic Review. *Journal of Health & Biological Sciences*, 10(1) : 1-7.
- Nadmi H., Elotmani F., Talmi M., Zerouali K., Perrier-Gros-Claude J.D. & Timinouni M. (2010). Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes communautaires à El Jadida (Maroc). *Médecine et Maladies Infectieuses*, 40(5) : 303-305.
- Ngong I.N., Fru-Cho J., Yung M.A. & Akoachere J.-F.K.T. (2021). Prevalence, antimicrobial susceptibility pattern and associated risk factors for urinary tract infections in pregnant women attending ANC in some integrated health centers in the Buea Health District. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 21(673) : 1-10.
- Nguyen J.-C. & Lambert T. (2012). Interprétation phénotypique de l'antibiogramme vis-à-vis des aminosides. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2012(445) : 75-77.
- Niveditha S., Pramodhini S., Umadevi S., Kumar S. & Stephen S. (2012). The Isolation and the Biofilm Formation of Uropathogens in the Patients with Catheter Associated Urinary Tract Infections (UTIs). *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 6(9) : 1478-1482.
- Njenga J., Nyasinga J., Munshi Z., Muraya A., Omuse G., Ngugi C. & Revathi G. (2022). Genomic characterization of two community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with novel sequence types in Kenya. *Frontiers in Medicine*, 9(966283) : 1-11.
- Nordmann P., Cuzon G. & Naas T. (2009). The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *The Lancet. Infectious Diseases*, 9(4) : 228-236.
- Nordmann P. & Mammeri H. (2007). Extended-spectrum cephalosporinases: structure, detection and epidemiology. *Future Microbiology*, 2(3) : 297-307.

REFERENCES

-
- Nuutinen M. & Uhari M. (2001). Recurrence and follow-up after urinary tract infection under the age of 1 year. *Pediatric Nephrology*, 16(1) : 69-72.
- Odoki M., Almustapha A. A., Tibyangye J., Nyabayo M. J., Wampande E., Drago K. C., Agwu E. & Bazira J. (2019). Prevalence of Bacterial Urinary Tract Infections and Associated Factors among Patients Attending Hospitals in Bushenyi District, Uganda. *International Journal of Microbiology*, 4246780 : 1-8.
- Orata F. D., Meier-Kolthoff J. P., Sauvageau D. & Stein L. Y. (2018). Phylogenomic analysis of the Gammaproteobacterial methanotrophs (Order Methylococcales) calls for the reclassification of members at the genus and species levels, *Frontiers in Microbiology*, 9, 3162.
- Ortega M., Marco F., Soriano A., Almela M., Martínez J.A., Pitart C. & Mensa J. (2013). Epidemiology and prognostic determinants of bacteraemic catheter-acquired urinary tract infection in a single institution from 1991 to 2010. *The Journal of Infection*, 67(4) : 282-287.
- Ouattara M.B. (2016). Biodiversité des Entérobactéries productrices de Bêta-Lactamases à Spectre Elargi (EBLSE) d'origines humaine, animale et environnementale à Abidjan (Côte d'Ivoire). Thèse unique pour l'obtention du titre de Docteur de l'Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire. 190 p.
- Ouédraogo A.-S., Sanou S., Kissou A., Poda A., Aberkane S., Bouzinbi N., Nacro B., Ouédraogo R., Van De Perre P., Carriere C., Decré D., Jean-Pierre H. & Godreuil S. (2016). Fecal Carriage of Enterobacteriaceae Producing Extended-Spectrum Beta-Lactamases in Hospitalized Patients and Healthy Community Volunteers in Burkina Faso. *Microbial Drug Resistance*, 23(1) : 63-70.
- Parks D. H., Imelfort M., Skennerton C. T., Hugenholtz P. & Tyson G. W. (2015). CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes, *Genome Research*, 25 : 1043-1055.
- Paul R. (2018). State of the globe: Rising antimicrobial resistance of pathogens in urinary tract infection. *Journal of Global Infectious Diseases*, 10(3) : 117-118.
- Peker N., Garcia-Croes S., Djikhuizen B., Wiersma H. H., Zanten E. V., Wisselink G., Friedrich A. W., Kooistra-Smid M., Sinha B., Rossen J. W. A. & Couto N. (2019). A comparison of Three Different Bioinformatics analyses of the 16S-23S rRNA encoding region for bacterial identification. *Frontiers in microbiology*, 10 (620) : 1-13.
- Perera V., de Silva S., Jayatilleke K., de Silva N., Aydin A., Enne V. & Corea E. (2022). Antimicrobial Resistance Genes, Virulence Genes, and Associated Mobile Genetic

REFERENCES

- Elements of Eight Multidrug-Resistant Enterobacterales Isolated from Hospital-Acquired Urinary Tract Infections in Sri Lanka. *Microbial Drug Resistance*, 28(8) : 882–892.
- Perez-Carrasco V., Soriano-Lerma A., Soriano M., Gutierrez-Fernandez J., Garcia-Salcedo J. A. (2021). Urinary microbiome : yin and yang of the urinary tract. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11(6): 1-17.
- Persad S., Watermeyer S., Griffiths A., Cherian B. & Evans J. (2006). Association between urinary tract infection and postmicturition wiping habit. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 85(11) : 1395-1396.
- Philippon A., Arlet G., Iorga B. I. (2022). BETA-LACTAMASES ESBL AND CTX-M-types, *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 175 : 256-265.
- Quick J., Loman N.J., Duraffour S., Simpson J.T., Severi E., Cowley L., Bore J.A., Koundouno R., Dudas G., Mikhail A., Ouédraogo N., Afrough B., Bah A., Baum J.H.J., Becker-Ziaja B., Boettcher J.P., Cabeza-Cabrero M., Camino-Sánchez Á., Carter L.L. & Doerrbecker J. (2016). Real-time, portable genome sequencing for Ebola surveillance. *Nature*, 530(7589) : 228-232.
- Ramos N.L., Sekikubo M., Dzung D.T.N., Kosnopfel C., Kironde F., Mirembe F. & Brauner A. (2012). Uropathogenic *Escherichia coli* Isolates from Pregnant Women in Different Countries. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(11) : 3569-3574.
- Ravishankar P., Ravi M. S., Bharathi K., Subramanian S.K., Asiedu S. K. & Selvaraj D. (2024). Unlocking nature's toolbox : Kinetin-producing *Priestia flexa* VL1 paves the way for efficient bioremediation of chromium-contaminated environments. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(2) :112065.
- Richter M., Rossello-Mora R., Glockner F.O., & Peplies J. (2016). JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison. *Bioinformatics*, 32(6):929-31.
- Roh K.H., Uh Y., Kim J.-S., Kim H.-S., Shin D.H. & Song W. (2008). First outbreak of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing both SHV-12-type extended-spectrum beta-lactamase and DHA-1-type AmpC beta-lactamase at a Korean hospital. *Yonsei Medical Journal*, 49(1) : 53-57.
- Rowe T.A. & Juthani-Mehta M. (2013). Urinary tract infection in older adults. *Aging health*, 9(5) : 519-528.
- Saint S., Kowalski C.P., Kaufman S.R., Hofer T.P., Kauffman C.A., Olmsted R.N., Forman J., Banaszak-Holl J., Damschroder L. & Krein S.L. (2008). Preventing hospital-acquired

REFERENCES

- urinary tract infection in the United States: a national study. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 46(2) : 243-250.
- Sbiti M., khalid L. & louzi L. (2017). Profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi. *The Pan African Medical Journal*, 28(29) : 1-8.
- Schmiemann G., Kniehl E., Gebhardt K., Matejczyk M.M. & Hummers-Pradier E. (2010). The diagnosis of urinary tract infection: a systematic review. *Deutsches Arzteblatt International*, 107(21) : 361-367.
- Schwarz S. & Chaslus-Dancla E. (2001). Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Veterinary Research*, 32(3-4) : 201-225.
- Seemann T. (2014). Genome analysis prokka : rapid prokaryotic genome annotation'', *Bioinformatics*, 30 : 2068-2069.
- Sellami K., Koubaa M., Benayed H., Chaabouni Y., Tlijani A., Marrakchi C., Hammami B., Hachicha J. & Benjemaa M. (2015). Infections urinaires à *Staphylococcus saprophyticus*. *Néphrologie & Thérapeutique*, 11(5) : 367-368.
- Sheinfeld J., Schaeffer A.J., Cordon-Cardo C., Rogatko A. & Fair W.R. (1989). Association of the Lewis Blood-Group Phenotype with Recurrent Urinary Tract Infections in Women. *New England Journal of Medicine*, 320(12) : 773-777.
- Shukla A., Gupta A. & Srivastava S. (2023). Un consortium bactérien (*Priestia endophytica* NDAS01F , *Bacillus licheniformis* NDSA24R et *Priestia flexa* NDAS28R) et la thiourée ont permis une amélioration du stress lié à l'arsenic et une amélioration de la croissance d' *Oryza sativa* L. *Plant Physiology and Biochemistry* , 195 : 14-24.
- Shyr D. & Liu Q. (2013). Next Generation Sequencing in Cancer Research and Clinical Application. *Biological Procedures Online*, 15 (4) : 1-11.
- Skurnik D. & Andremont A. (2006). Antibiothérapie sélectionnante : de la théorie à la pratique. *Réanimation*, 15 : 198-204.
- Smelov V., Naber K. & Johanse T. E. B. (2016). Improved Classification of Urinary Tract Infection : Future Considerations. *European Urology Supplements*, 1 5: 71- 80.
- Stein C., Zechel M., Spott R., Pletz M.W. & Kipp F. (2023). Multidrug-resistant isolates from Ukrainian patients in a German health facility: a genomic surveillance study focusing on antimicrobial resistance and bacterial relatedness. *Infection*, 51(6) : 1731-1738.
- Šterbenc A., Jarc E., Poljak M. & Homan M. (2019). *Helicobacter pylori* virulence genes. *World J Gastroenterol* ;25(33) :4870-84.

REFERENCES

-
- Storme O., Tirán Saucedo J., Garcia-Mora A., Dehesa-Dávila M. & Naber K.G. (2019). Risk factors and predisposing conditions for urinary tract infection. *Therapeutic Advances in Urology*, 11 : 19-28.
- Stratton C.W., 2000. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Lebanese Medical Journal*, 48 : 186-198.
- Strauss C., Hu Y., Coates A. & Perreten V. (2017). A Novel *erm* (44) Gene Variant from a Human *Staphylococcus saprophyticus* Isolate Confers Resistance to Macrolides and Lincosamides but Not Streptogramins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(1) : 1655-1671.
- Suetens C., Latour K., Kärki T., Ricchizzi E., Kinross P., Moro M.L., Jans B., Hopkins S., Hansen S., Lyytikäinen O., Reilly J., Deptula A., Zingg W., Plachouras D. & Monnet D.L. (2018). Prevalence of healthcare-associated infections, estimated prevalence and composite antimicrobial resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities : results from two European point prevalence surveys, 2016 to 2017. *Eurosurveillance*, 23(46) : 1-18.
- Sulian O., Ageevets V., Lazareva I., Gostev V., Popov D., Vostrikova T., Sukhinin A., Lobzin Y. & Sidorenko S. (2020). Co-production of MCR-1 and NDM-1 by *Escherichia coli* sequence type 31 isolated from a newborn in Moscow, Russia. *International journal of infectious diseases*, 101 : 4-5.
- Sultana RV, Zalstein S, Cameron P. & Campbell D. (2001). Dipstick urinalysis and the accuracy of the clinical diagnosis of urinary tract infection. *Journal of Emergency Medicine*; 20(1):13–19.
- Szlachta-McGinn A., Douglass K. M., Chung U.Y. R., Jackson N. J., Nickel J. C. & Ackerman A. L. (2022). Molecular Diagnostic Methods Versus Conventional Urine Culture for Diagnosis and Treatment of Urinary Tract Infection : A Systematic Review and Meta-analysis, *European Urology Open Science*, 44 (2022):113–124.
- Tabasi M., Karam M.R.A., Habibi M., Mostafavi E. & Bouzari S. (2016). Genotypic Characterization of Virulence Factors in *Escherichia coli* Isolated from Patients with Acute Cystitis, Pyelonephritis and Asymptomatic Bacteriuria. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* , 10(12): 1-7.
- Takei S., Lu Y.J., Tohya M., Watanabe S., Misawa S., Tabe Y., Miida T., Mya S., Tin H.H., Tada T. & Kirikae T. (2022). Spread of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates Producing NDM-Type Metallo- β -Lactamase in Myanmar. *Microbiology Spectrum*, 10(4) : 1-11.

REFERENCES

- Takhar S.S. & Moran G.J. (2014). Diagnosis and management of urinary tract infection in the emergency department and outpatient settings. *Infectious Disease Clinics of North America*, 28(1) : 33-48.
- Tandogdu Z. & Wagenlehner F.M.E. (2016). Global epidemiology of urinary tract infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 29(1) : 73-79.
- Taur Y. & Smith M.A. (2007). Adherence to the Infectious Diseases Society of America guidelines in the treatment of uncomplicated urinary tract infection. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 44(6) : 769-774.
- Tolkoff-Rubin N.E. & Rubin R.H. (1997). Urinary tract infection in the immunocompromised host. Lessons from kidney transplantation and the AIDS epidemic. *Infectious Disease Clinics of North America*, 11(3) : 707-717.
- Touati M. (2013). Antibiorésistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation du CHU Annaba, Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en microbiologie, Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie, 156 p.
- Tremblay J.; Singh K. Fern A., Kirton E. S.; He S.; Woyke T.; Lee J.; Chen F.; Dangl J.L. & Tringe S.G. (2015). Primer and platform effects on 16S rRNA tag sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1-15.
- UbiIcône D.S., Icône M. G. E., Ikharia E. J., Akwagiobe E. A., Asitok A. D. & Antai S P. (2024). Production, caractérisation et potentiel bio-éthanologène d'une nouvelle amylase tripartite digérant l'amidon brut à partir de *Priestia flexa* UCCM 00132. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 54(5) : 597-611.
- Unemo M., Seth-Smith H. M. B., Cutcliffe L. T., Skilton R. J., Barlow D., Goulding D., Persson K., Harris S. R., Kelly A., Bjartling C., Fredlund H., Olcén P., Thomson N. R. & Clarke I. N. (2010). The Swedish new variant of *Chlamydia trachomatis* : Genome sequence, morphology, cell tropism and phenotypic characterization. *Microbiology* ; 156 :1394-404.
- van Brummen H.J., Bruinse H.W., van der Bom J.G., Heintz A.P.M. & van der Vaart C.H. (2006). How do the prevalences of urogenital symptoms change during pregnancy? *Neurourology and Urodynamics*, 25(2) : 135-139.
- Vernikos G. S. & Parkhill J. (2006). Interpolated variable order motifs for identification of horizontally acquired DNA revisiting the Salmonella pathogenicity islands. *Bioinformatics*, 22(18) :2196-203.

REFERENCES

- Vickers A.A., Chopra I. & O'Neill A. J. (2007). Intrinsic Novobiocin Resistance in *Staphylococcus saprophyticus*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(12): 4484–4485.
- Vincent J.-L., Bihari D.J., Suter P.M., Bruining H.A., White J., Nicolas-Chanoin M.-H., Wolff M., Spencer R.C. & Hemmer M. (1995). The Prevalence of Nosocomial Infection in Intensive Care Units in Europe: Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. *Journal of the American Medical Association*, 274(8) : 639-644.
- Vorkauf S. (2011). Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : prise en charge diagnostique et thérapeutique. Résultats de deux tours d'un audit clinique réalisé par 66 médecins généralistes lorrains. Thèse de Médecine, Faculté de médecine de Nancy, Université Henri Poincaré Nancy 1 (Nancy, France) 105p.
- Wagenlehner F., Tandogdu Z., Bartoletti R., Cai T., Cek M., Kulchavenya E., Köves B., Naber K., Perepanova T., Tenke P., Wullt B., Bogenhard F. & Johansen T.E.B. (2016). The Global Prevalence of Infections in Urology Study: A Long-Term, Worldwide Surveillance Study on Urological Infections. *Pathogens*, 5(1) : 1-8.
- Wakai T., Prasoon P., Hirose Y., Shimada, Y., Ichikawa H. & Nagahashi M. (2019). Next-Generation Sequencing-Based Clinical Sequencing: Toward Precision Medicine in Solid Tumors. *International Journal of Clinical Oncology*, 24(2) :115-122.
- Warren J.W. (1986). *Providencia stuartii* : A Common Cause of Antibiotic-Resistant Bacteriuria in Patients with Long-Term Indwelling Catheters. *Reviews of Infectious Diseases*, 8(1) : 61-67.
- Wick R. R., Judd L. M., Gorrie C. L. & Holt K. E. (2017). Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads, *PLoS Comput. Biol*, 13 e1005595.
- Winand R., Bogaerts B., Hoffman S., Lefevre L., Delvoye M., Braekel J.V, Fu Q., Roosens N. H. C., De Keersmaecker S.C.J. & Vanneste K. (2020). Targeting the 16S rRNA Gene for Bacterial Identification in Complex Mixed Samples : Comparative Evaluation of Second (Illumina) and Third (Oxford Nanopore Technologies) Generation Sequencing Technologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1) :298-320.
- Wojno K. J., Baunoch D., Luke N., Opel M., Korman H., Kelly C., Jafri S.M.A., Keating P., Hazelton D., Hindu S., Makhloof B., Wenzler D., Sabry M., Burks F., Penaranda M., Smith D. E., Korman A. & Sirls L. (2020). Multiplex pcr based urinary tract infection

REFERENCES

- (uti) analysis compared to traditional urine culture in identifying significant pathogens in symptomatic patients. *Urology*, 136 :119-126.
- Wood D.E. & Salzberg S.L. (2014). Kraken : ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments. *Genome Biology*, 15(3) : 1-12.
- Xanthopoulou K., Wille J., Zweigner J., Lucaßen K., Wille T., Seifert H. & Higgins P.G. (2021). Characterization of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolate and a vancomycin-susceptible *E. faecium* isolate from the same blood culture. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 76(4) : 883-886.
- Xu M., Zhou Y.N., Goldstein B.P. & Jin D.J. (2005). Cross-Resistance of Escherichia coli RNA Polymerases Conferring Rifampin Resistance to Different Antibiotics. *Journal of Bacteriology*, 187 : 2783-2792.
- Yang B., Wang Y. & Qian P.Y. (2016). Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis. *BMC Bioinformatics.*, 17 (135) : 1–8.
- Yang W. W., Lin Y-C., Johnson W., Dai N., Vaisvila R., Weigle P., Lee Y-J., Jr Corrêa I. R., Schildkraut I. & Ettwiller L. (2021). A genome-phenome association study in native microbiomes identifies a mechanism for cytosine modification in DNA and RNA. *Elife*, 10 : e70021.
- Yao K.H., Sanogo S., Binan Y.O., Diallo A.D. (2011). Profil épidémiologique et biologique de la bactériurie asymptomatique en milieu hospitalier à Abidjan. *Revue Internationale des Sciences Médicales*. 13(3) :18-21.
- Yao W., Doué G., Ouattara G.H., Goualié G.B., Koua G. & Niamké S. (2017). Selection of potential Bacillus starters for cocoa beans fermentation improvement. *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI: Food Technology*, 41: 131-146.
- Yao K.R. (2018). Caractérisation phénotypique et moléculaire de *Salmonella sp.* et *Escherichia coli* isolées chez les bovins dans le district d'Abidjan (Côte D'Ivoire) : Impact biologique de l'utilisation des antibiotiques. Thèse de Doctorat, UFR Biosciences, Université Félix HOUPHOUET BOIGNY (Abidjan Côte d'Ivoire), 242p.
- Yeh T-K., Lin H-J., Liu P-Y., Wang J-H. & Hsueh P-R. (2022). Antibiotic resistance in *Enterobacter hormaechei*. *Journal international des agents antimicrobiens*, 60(4) : 106650.
- Zacchè M. M. & Giarenis I. (2016). Therapies in early development for the treatment of urinary tract inflammation. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 25(5) :531-40.

REFERENCES

- Zhang Y., Min S., Sun Y., Ye J., Zhou Z. & Li H. (2022). Genomic analysis of population structure, antimicrobial resistance, and virulent factors of methicillin-resistant *Macrococcus caseolyticus* in global clades. *BMC Microbiology*, 22(266) : 1-11.
- Zielske J.V., Lohr K.N., Brook R.H. & Goldberg G.A. (1981). Conceptualization and Measurement of Physiologic Health for Adults. *Report*, Vol. 16, Urinary Tract Infection. 103 p.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe1: Matériel technique



a



b



c

Centrifugeuse marque OHAUS[®] Centrifugeuse marque SIGMA[®] VOTEX marque XH-D[®]



d



e

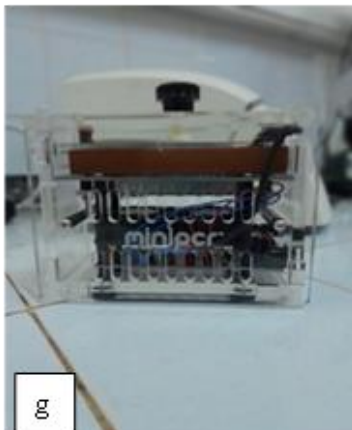


f

Balance de marque ADAM[®]

Incubateur de marque Stuart[®]

Autoclave prestige Médical



g

Thermocycleur minipcr[®]



h

Dispositif a électrophorèse

ANNEXES



Visualiseur de Gel



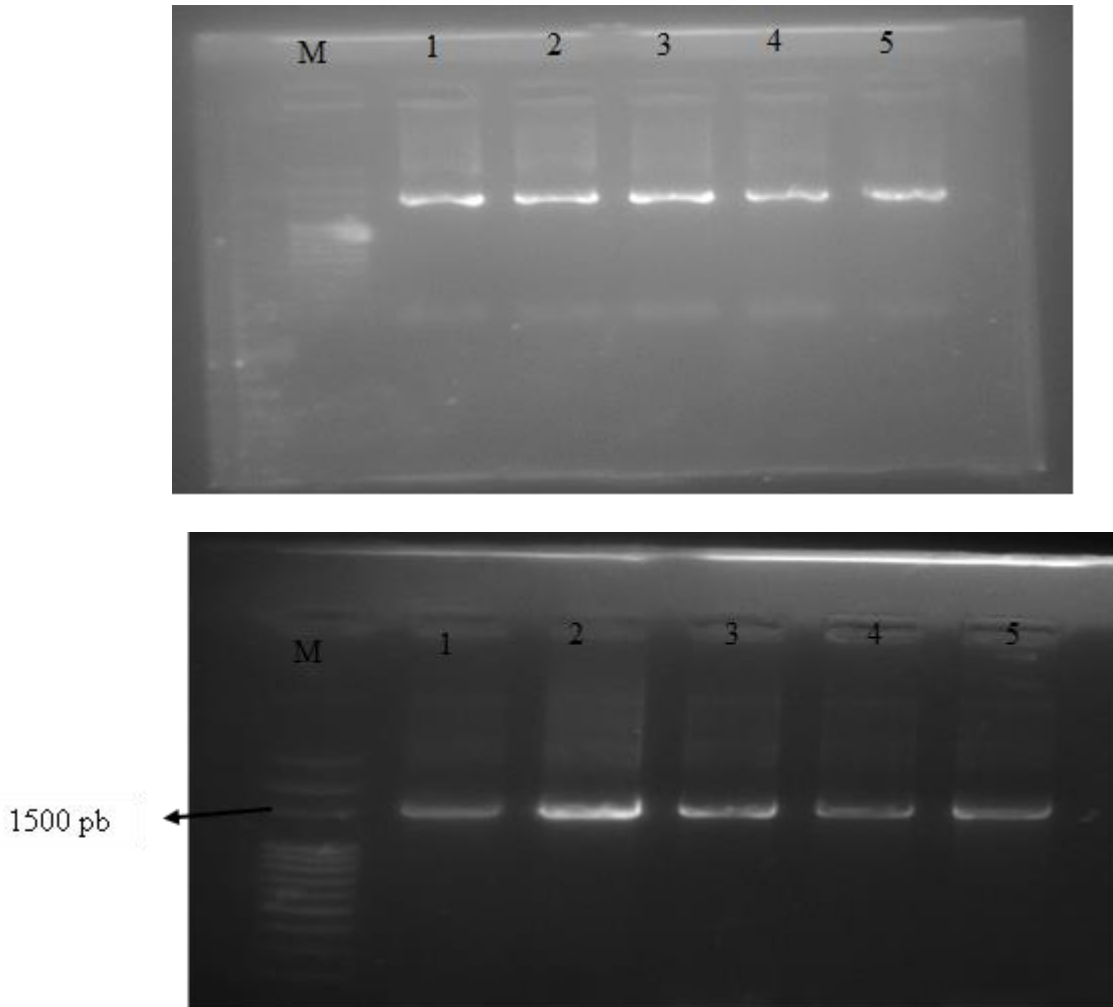
Microonde Proline



Congélateur de marque LIEBEHERR

ANNEXES

Annexe 2 : Profils électrophorétique des gènes de l'ADNr 16S

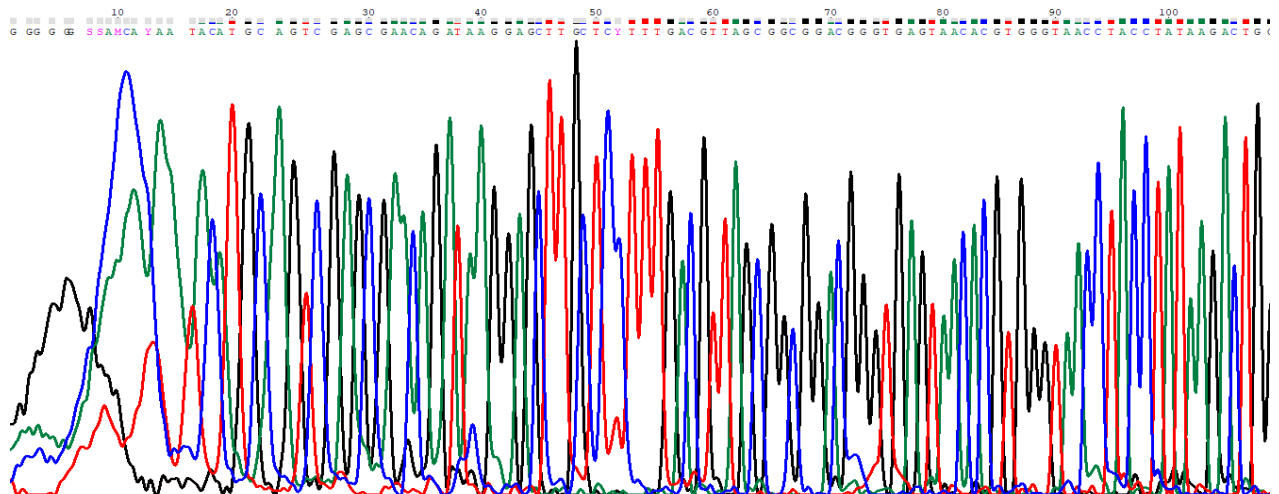


M : Marqueur moléculaire 1500pb
1 à 5 : Amplicons des fragments d'ADN des échantillons

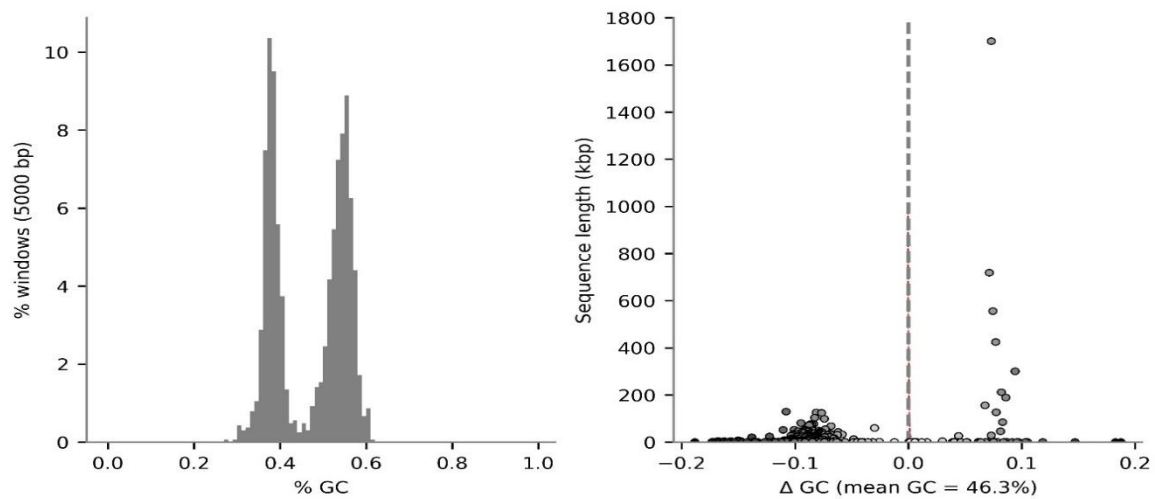
Profil électrophorétique des extraits d'ADN des isolats uropathogènes

ANNEXES

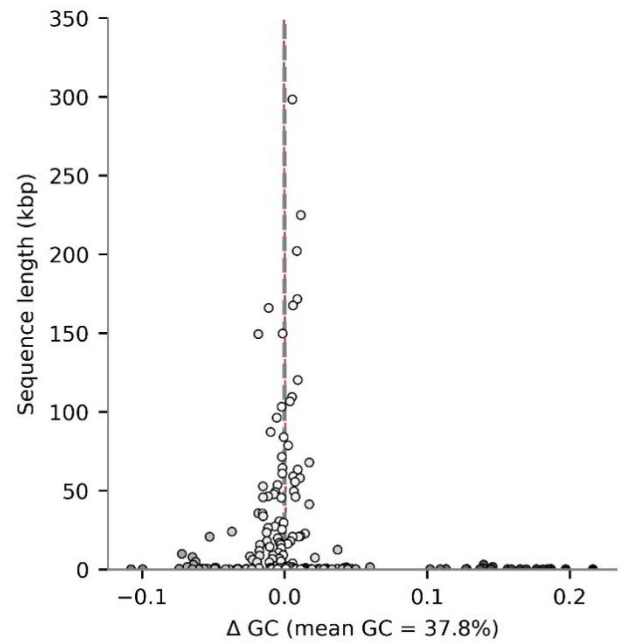
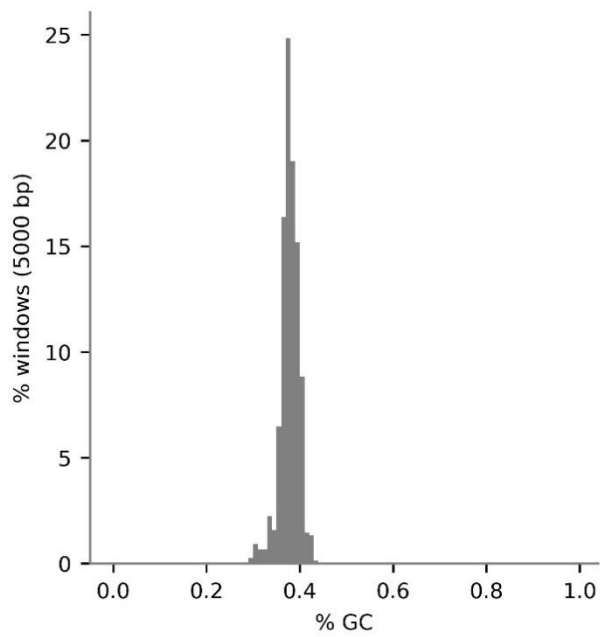
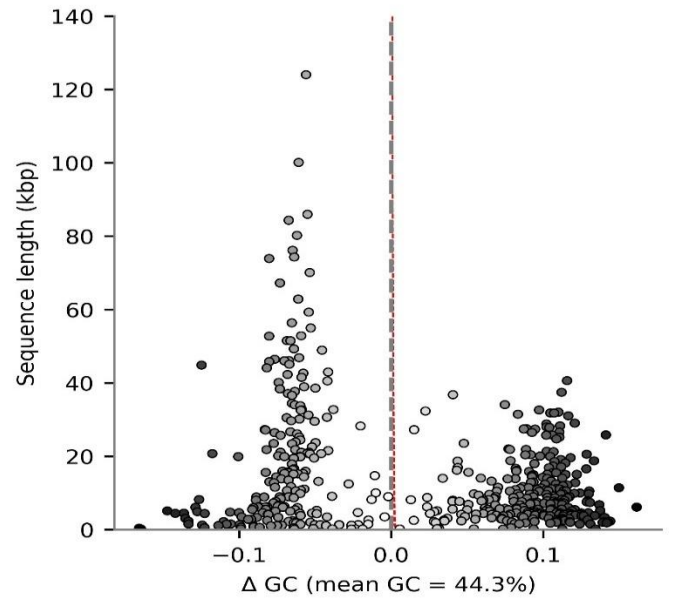
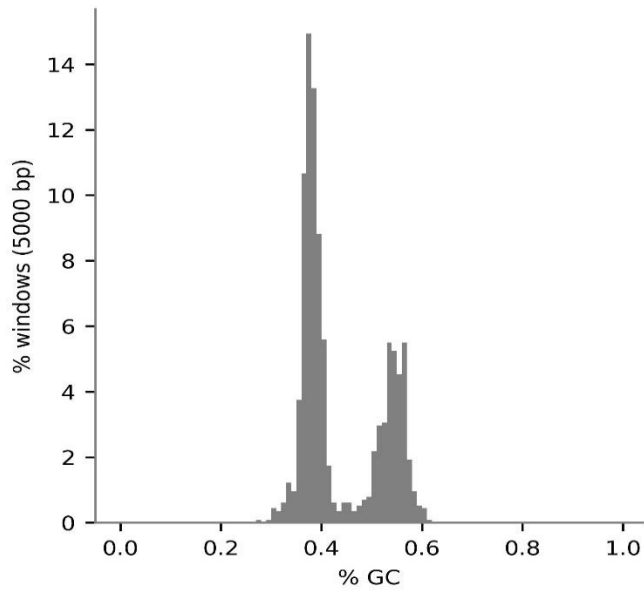
Annexe 3 : Chromatogramme des séquences nucléotidiques des gènes de l'ARNr généré par Chromas

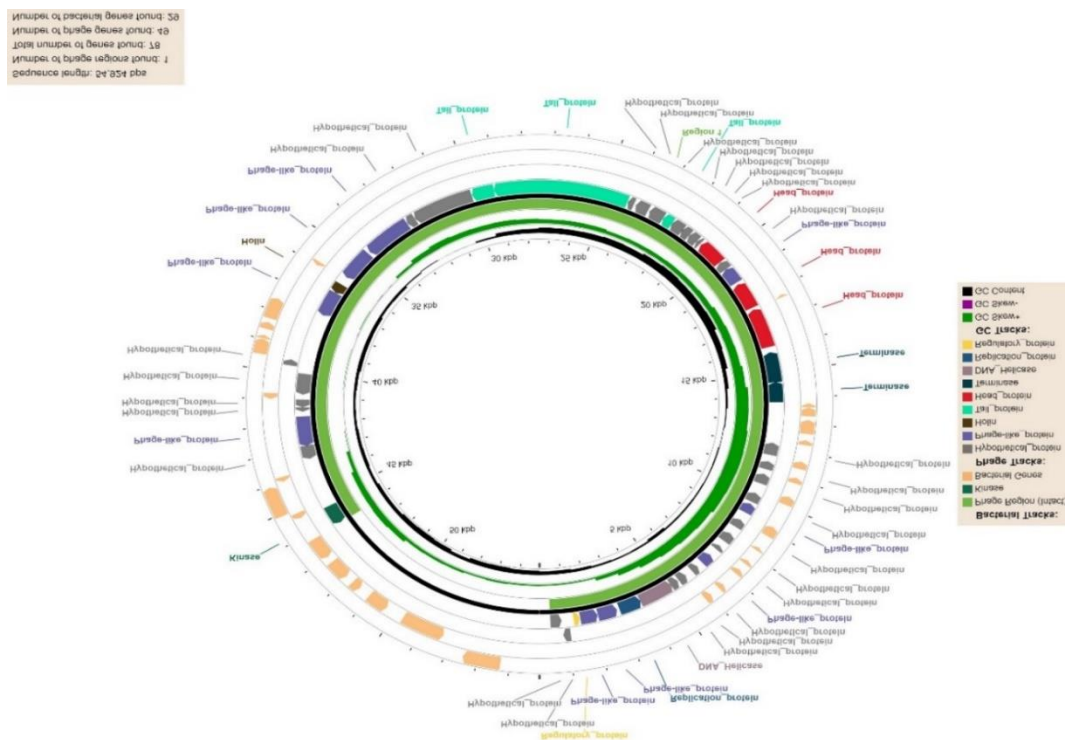
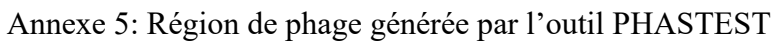


Annexe 4 : Représentation graphique des contenus en GC des génomes assemblés



ANNEXES





ANNEXES

Annexe 6: Rapport du contrôle qualité des séquences brutes de l'isolat 21LM1136 avec l'outil fastp

Adapter or bad ligation of read1

The input has little adapter percentage (~0.185391%), probably it's trimmed before.

Sequence	Occurrences
A	210
N	317
NN	293
AGA	275
NNN	275
AGAT	296
NNNN	238
other adapter sequences	11684

Adapter or bad ligation of read2

The input has little adapter percentage (~0.337492%), probably it's trimmed before.

Sequence	Occurrences
A	295
N	358
AT	655
NN	345
AGA	566
NNN	323
AGAT	1043
NNNN	273
other adapter sequences	22675

General

fastp version:	0.23.4 (https://github.com/OpenGene/fastp)
sequencing:	paired end (151 cycles + 151 cycles)
mean length before filtering:	144bp, 143bp
mean length after filtering:	142bp, 141bp
duplication rate:	0.193518%
Insert size peak:	150

Before filtering

total reads:	2.798704 M
total bases:	402.405160 M
Q20 bases:	293.190620 M (72.859558%)
Q30 bases:	240.239165 M (59.700816%)
GC content:	41.458626%

After filtering

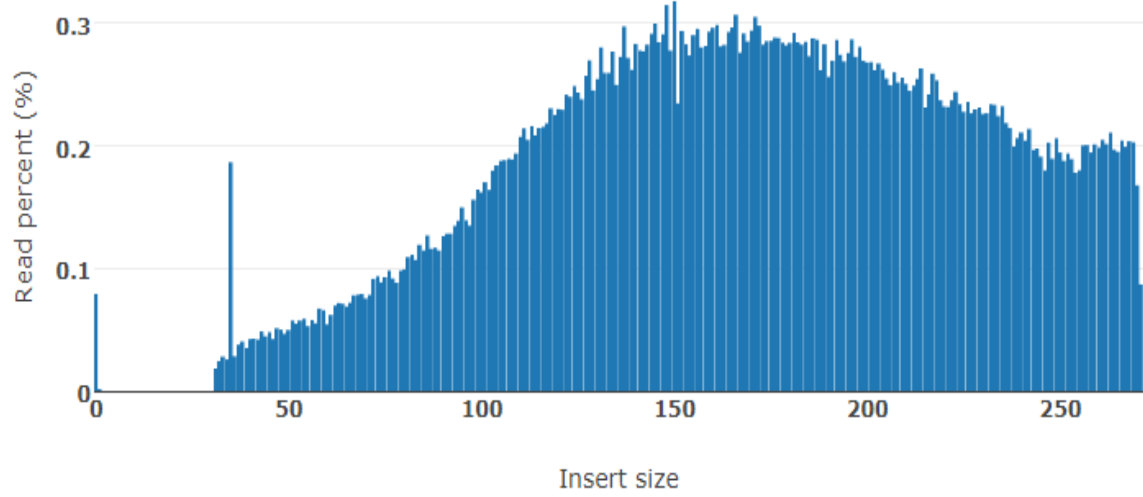
total reads:	2.103920 M
total bases:	299.123655 M
Q20 bases:	233.940111 M (78.208496%)
Q30 bases:	195.619364 M (65.397491%)
GC content:	40.902231%

Filtering result

reads passed filters:	2.103920 M (75.174795%)
reads with low quality:	691.356000 K (24.702720%)
reads with too many N:	1.622000 K (0.057955%)
reads too short:	1.806000 K (0.064530%)

ANNEXES

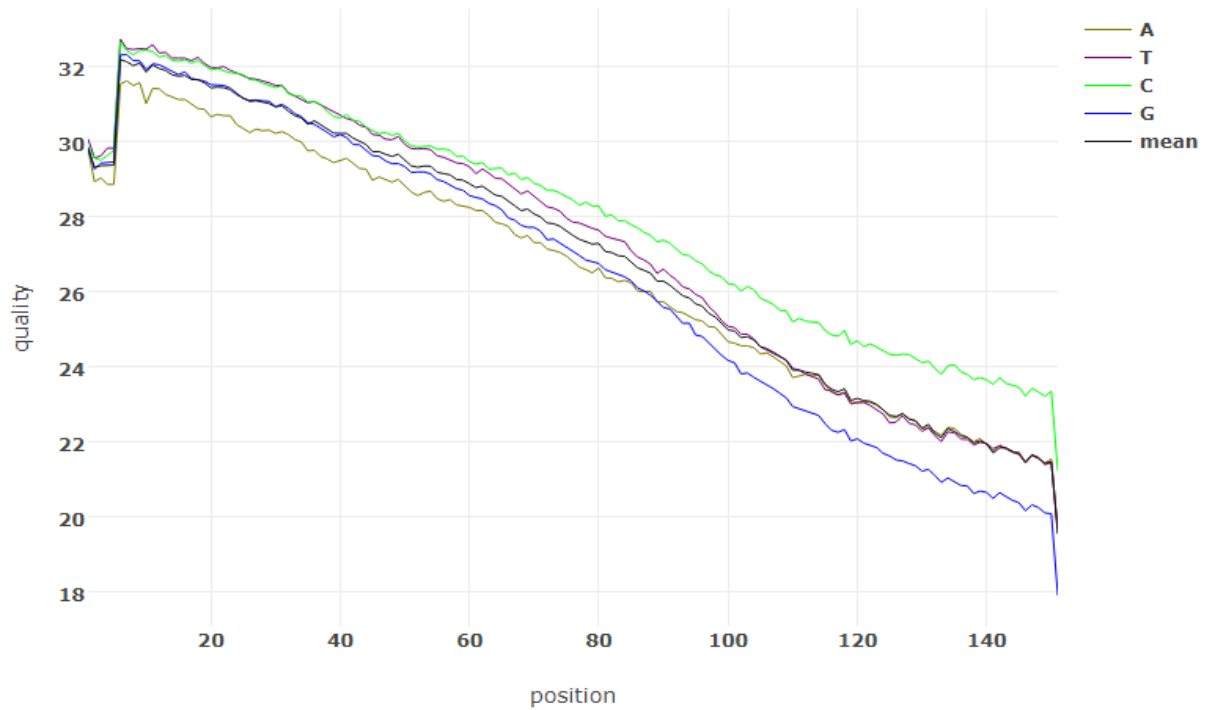
Insert size distribution (52.335429% reads are with unknown length)



ANNEXES

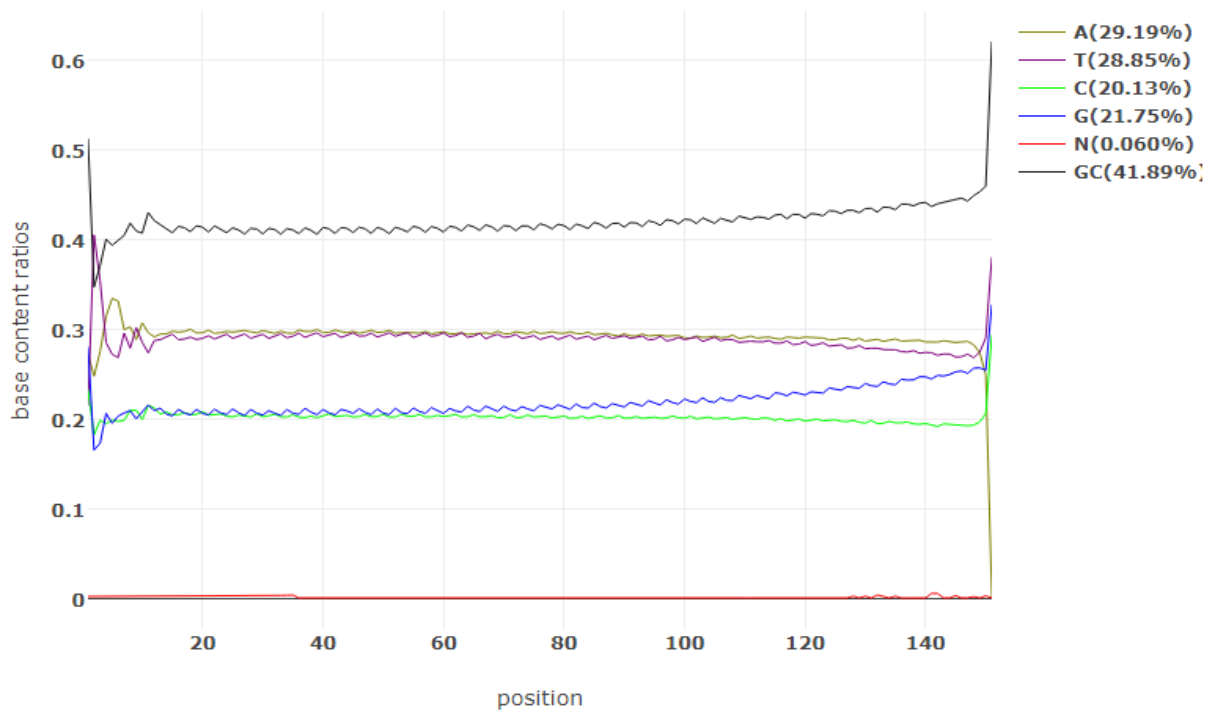
Before filtering: read1: quality

Value of each position will be shown on mouse over.



Before filtering: read1: base contents

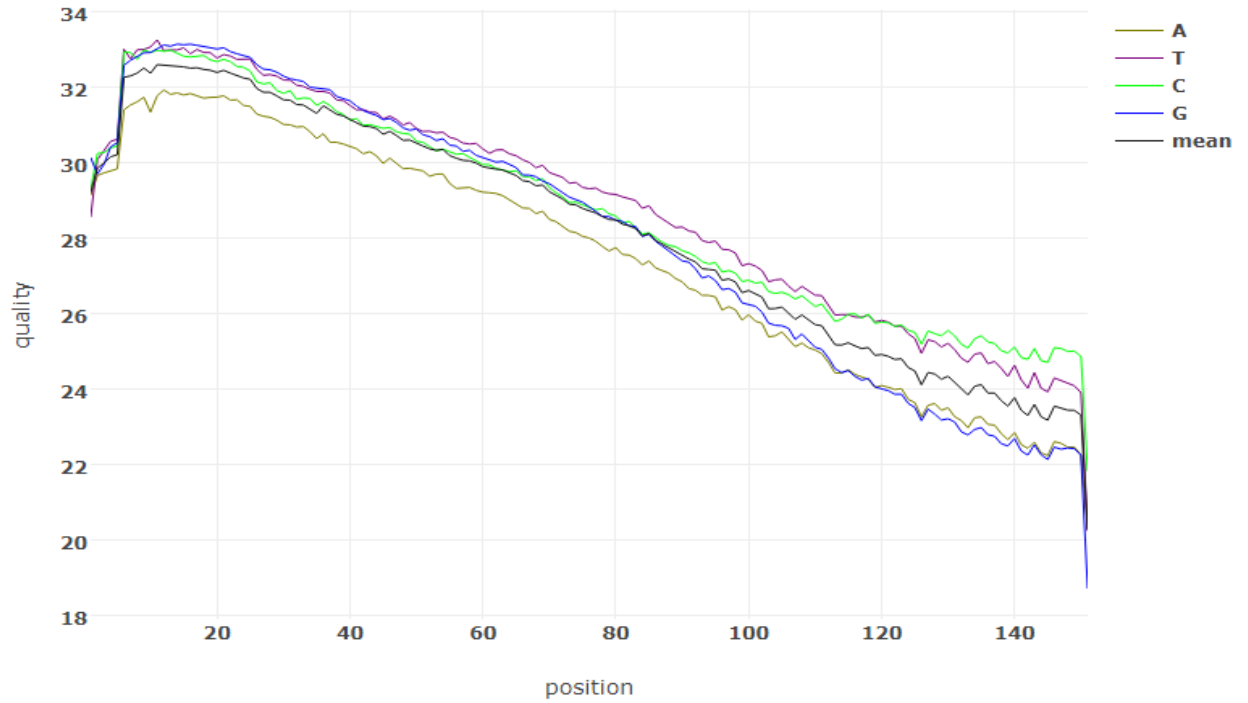
Value of each position will be shown on mouse over.



ANNEXES

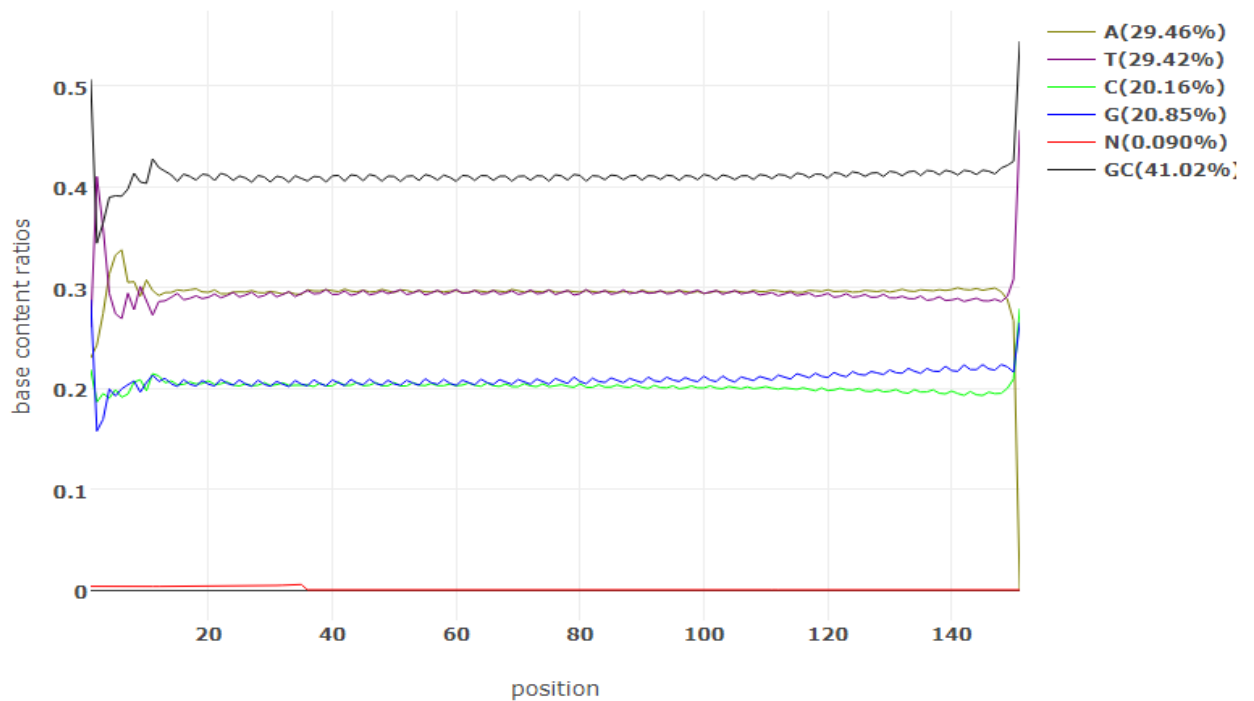
Before filtering: read2: quality

Value of each position will be shown on mouse over.



Before filtering: read2: base contents

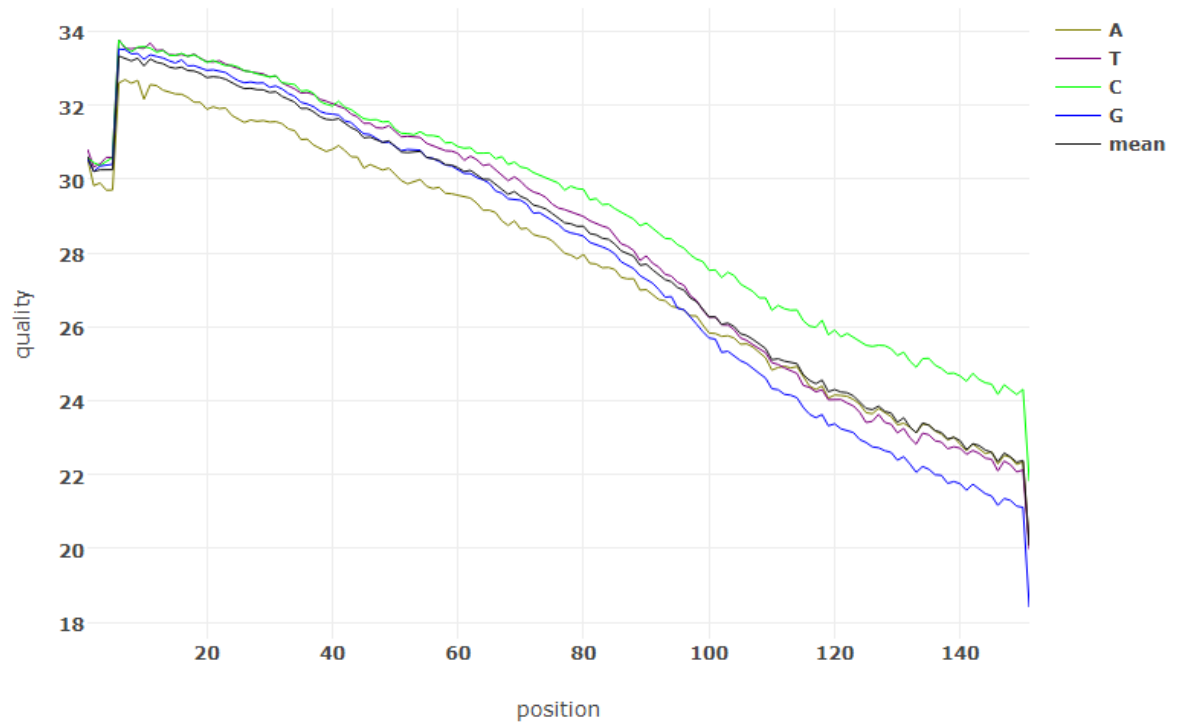
Value of each position will be shown on mouse over.



ANNEXES

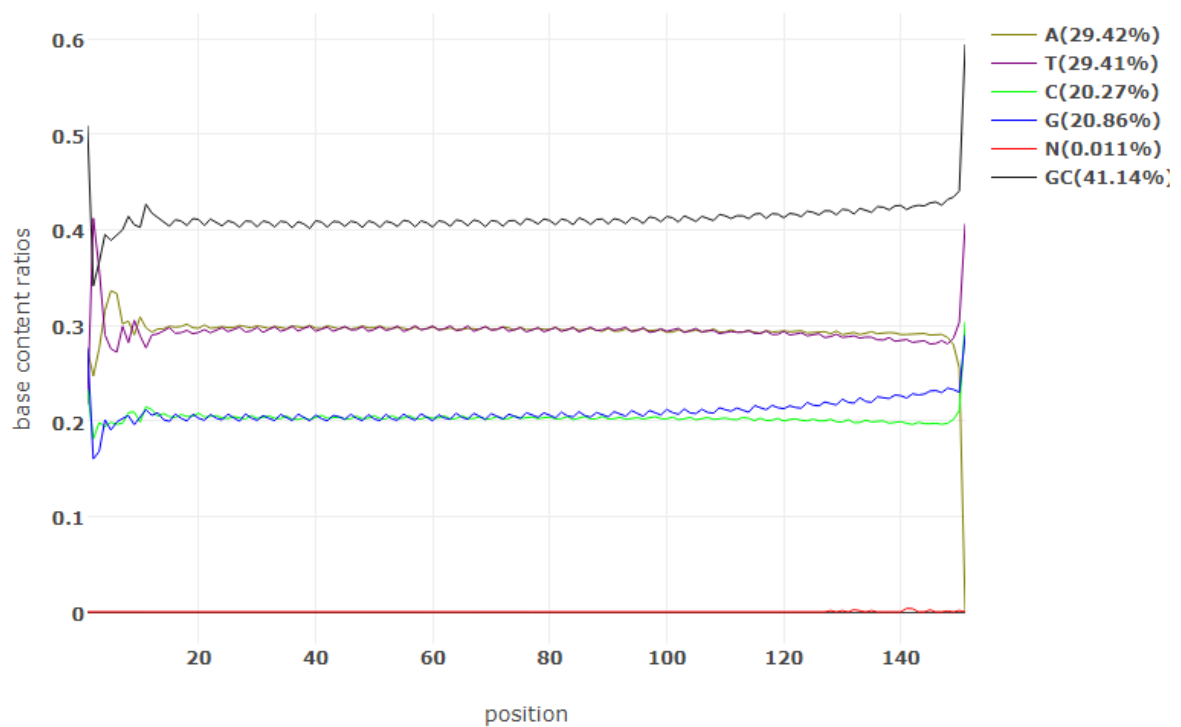
After filtering: read1: quality

Value of each position will be shown on mouse over.



After filtering: read1: base contents

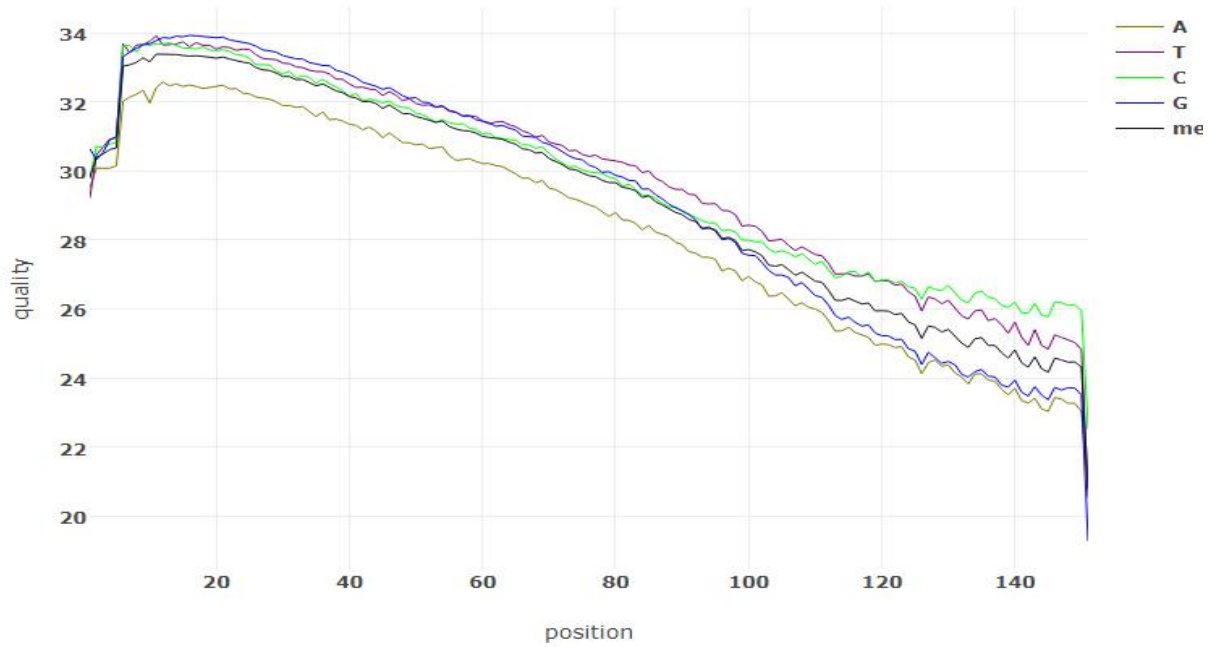
Value of each position will be shown on mouse over.



ANNEXES

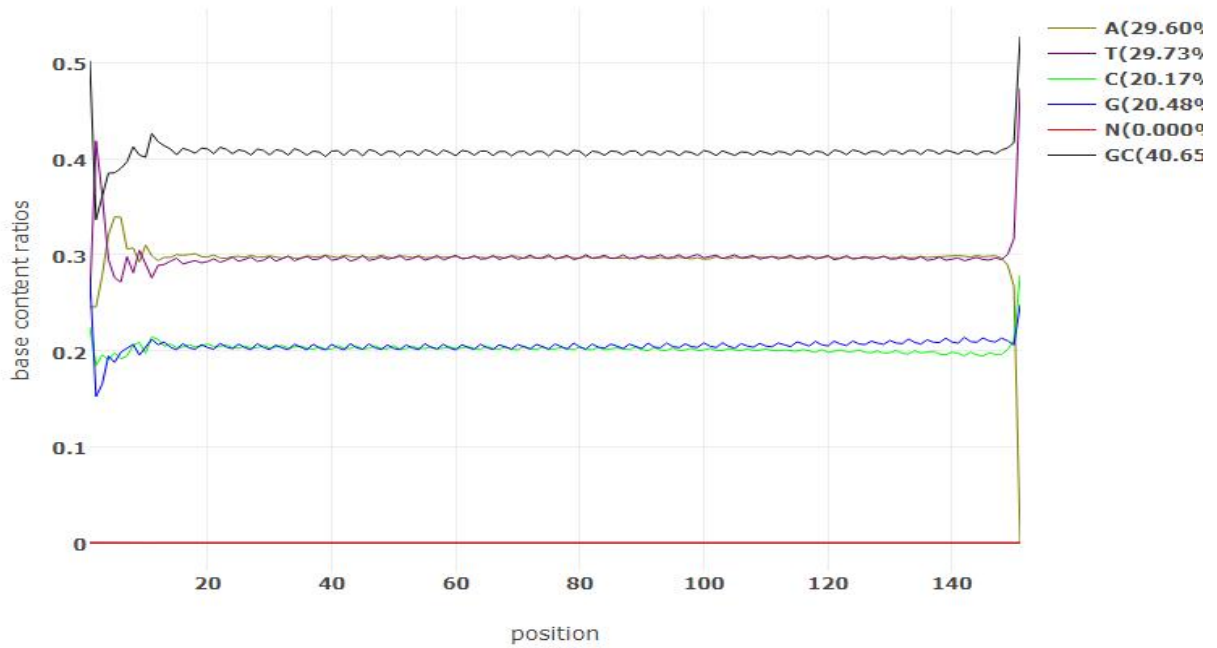
After filtering: read2: quality

Value of each position will be shown on mouse over.



After filtering: read2: base contents

Value of each position will be shown on mouse over.



PUBLICATIONS



Original Article

Open Access

Antibiotic resistance profiles of uropathogenic bacterial isolates in Haut-Sassandra Region, Côte d'Ivoire from January 2019 to December 2022

¹Gbégbé, D. A., ^{1,2}N'zi, N. P., ³Monthaut, S., ²Guessennd-Kouadio, N., and ^{*1}Angaman, D. M.

¹Department of Biochemistry-Microbiology, Jean Lorougnon Guédé University, Daloa,
P. O. Box 150 Daloa, Côte d'Ivoire

²Department of Bacteriology-Virology, National Reference Center for Antibiotics, Pasteur Institute Côte d'Ivoire,
P. O. Box 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

³Bacteriology-Virology Laboratory, Regional Hospital Center of Daloa, P. O. Box 207 Daloa, Côte d'Ivoire

*Correspondence to: angaman@ujlg.edu.ci

Abstract:

Background: The escalating issue of bacterial resistance is a profound universal peril. This looming crisis has evolved from a mere forecast to a tangible reality globally. Urinary tract infections (UTIs) significantly influence antibiotic prescriptions in primary care, thus crucially impacting the selective pressure and the emergence of antibiotic-resistant bacteria. A profound comprehension of the microorganisms involved in UTIs and their resistance patterns is crucial, particularly in Daloa city, Côte d'Ivoire. This research aims to review the antibiotic resistance profiles of uropathogens isolated from patients in the Regional Hospital Center (CHR) of Daloa, Côte d'Ivoire from January 2019 to December 2022.

Methodology: This was a descriptive cross-sectional study of 1,513 patients whose voided urine samples were received at the Bacteriology-Virology Laboratory of CHR for cyto-bacteriological examination and aerobic culture using standard microbiological protocols over a period of 4 years. Bacterial isolates were routinely identified by colony morphology, Gram staining reaction and conventional biochemical tests. The antibiotic susceptibility of the bacterial isolates was determined by the agar diffusion method and interpreted following the Antibigram Committee of the French Society of Microbiology (CASFM) guidelines.

Results: Of the 1,513 patient urine samples examined, 246 (16.3%) were positive for microbial organisms, 216 (14.3%) were positive for significant bacterial isolates, 9 (0.6%) were positive for fungi, and 21 (1.4%) were positive for ova of *Schistosoma haematobium*. Among the samples with significant bacteriuria, 91.2% were due to Gram-negative bacilli, 5.9% to Gram-positive cocci, and 2.9% to Gram-negative cocci. *Escherichia coli* was the most predominant bacterial pathogen, accounting for 73.2% of the isolates. Antibiotic susceptibility testing showed high *in vitro* resistance of the bacterial isolates to tested antibiotics, with Enterobacteriaceae exhibiting resistance rate between 56.0% for nalidixic acid (NAL) and 67.0% for amoxicillin/clavulanic acid (AMC). *Pseudomonas aeruginosa* isolates exhibited 50.0% resistance rate to ceftazidime (CAZ), ciprofloxacin (CIP), and ticarcillin (TIC) while *Staphylococcus* isolates demonstrated 100.0% resistance rate to ofloxacin (OFX), clindamycin (CMN), erythromycin, trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT), and fusidic acid (FA). The extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing isolates were identified in 15.1% of the Enterobacteriaceae.

Conclusion: The high prevalence of antibiotic resistant bacterial isolates from significant bacteriuria in our study highlights the pressing need for the formulation and implementation of strategies to address this potential public health menace. The findings of our study may be useful for healthcare authorities to plan strategic interventions that will assist in optimizing the management of bacteriuria and UTI in the city of Daloa.

Keywords: Urinary tract infection, bacterial resistance, antibiotic, ESBL, Enterobacteriaceae

Received Oct 03, 2023; Revised Dec 13, 2023; Accepted Dec 17, 2023

Copyright 2024 AJCEM Open Access. This article is licensed and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided credit is given to the original author(s) and the source. Editor-in-Chief: Prof. S. S. Taiwo

Profils de résistance aux antibiotiques des isolats bactériens uropathogènes dans la région du Haut-Sassandra, Côte d'Ivoire de janvier 2019 à décembre 2022

¹Gbégbé, D. A., ^{1,2}N'zi, N. P., ³Monthaut, S., ²Guessennd-Kouadio, N., et ^{*1}Angaman, D. M.

¹Département de Biochimie-Microbiologie, Laboratoire d'Agrovalorisation, Université Jean Lorougnon Guédé,

Daloa, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

²Département de Bactériologie-Virologie, Centre National de Référence des Antibiotiques, Institut Pasteur Côte d'Ivoire, BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire³Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Centre Hospitalier Régional de Daloa, BP 207 Daloa, Côte d'Ivoire*Correspondance à: angaman@ujlg.edu.ci

Résumé:

Contexte: Le problème croissant de la résistance bactérienne constitue un grave péril universel. Cette crise imminente est passée d'une simple prévision à une réalité tangible à l'échelle mondiale. Les infections des voies urinaires (IVU) influencent considérablement les prescriptions d'antibiotiques en soins primaires, ayant ainsi un impact crucial sur la pression sélective et l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques. Une compréhension approfondie des micro-organismes impliqués dans les infections urinaires et de leurs modèles de résistance est cruciale, en particulier dans la ville de Daloa, en Côte d'Ivoire. Cette recherche vise à examiner les profils de résistance aux antibiotiques des uropathogènes isolés chez les patients du Centre Hospitalier Régional (CHR) de Daloa, Côte d'Ivoire de janvier 2019 à décembre 2022.

Méthodologie: Il s'agit d'une étude transversale descriptive portant sur 1513 patients dont les échantillons d'urine vidés ont été reçus au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR pour examen cyto-bactériologique et culture aérobie selon des protocoles microbiologiques standards sur une période de 4 ans. Les isolats bactériens ont été systématiquement identifiés par la morphologie des colonies, la réaction de coloration de Gram et les tests biochimiques conventionnels. La sensibilité aux antibiotiques des isolats bactériens a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose et interprétée selon les directives du Comité Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM).

Résultats: Sur les 1513 échantillons d'urine de patients examinés, 246 (16,3%) étaient positifs pour les organismes microbiens, 216 (14,3%) étaient positifs pour des isolats bactériens significatifs, 9 (0,6%) étaient positifs pour des champignons et 21 (1,4%) étaient positifs pour ovules de *Schistosoma haematobium*. Parmi les échantillons présentant une bactériurie significative, 91,2% étaient dus à des bacilles à Gram négatif, 5,9% à des coques à Gram positif et 2,9% à des coques à Gram négatif. *Escherichia coli* était le pathogène bactérien le plus prédominant, représentant 73,2% des isolats. Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont montré une résistance in vitro élevée des isolats bactériens aux antibiotiques testés, les Enterobacteriaceae présentant un taux de résistance compris entre 56,0% pour l'acide nalidixique (NAL) et 67,0% pour l'amoxicilline/acide clavulanique (AMC). Les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* présentaient un taux de résistance de 50,0% à la ceftazidime (CAZ), à la ciprofloxacine (CIP) et à la ticarcilline (TIC), tandis que les isolats de *Staphylococcus* présentaient un taux de résistance de 100,0% à l'ofloxacine (OFX), la clindamycine (CMN), l'érythromycine, le triméthoprim/sulfaméthoxazole (SXT) et l'acide fusidique (FA). Les isolats producteurs de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) ont été identifiés chez 15,1% des Enterobacteriaceae.

Conclusion: La forte prévalence d'isolats bactériens résistants aux antibiotiques provenant d'une bactériurie importante dans notre étude souligne le besoin urgent de formuler et de mettre en œuvre des stratégies pour faire face à cette menace potentielle pour la santé publique. Les résultats de notre étude pourraient être utiles aux autorités sanitaires pour planifier des interventions stratégiques qui contribueront à optimiser la gestion de la bactériurie et des infections urinaires dans la ville de Daloa.

Mots-clés: Infection des voies urinaires, résistance bactérienne, antibiotique, BLSE, Enterobacteriaceae

Introduction:

The incidence of urinary tract infections (UTIs) caused by multidrug-resistant pathogens is escalating at an alarming rate globally (1,2), as these infections lead to extensive antibiotic prescriptions in primary care, contributing significantly to the selection pressure of bacterial resistance to antibiotics (3). The rising rates of antibiotic resistance have resulted in substantial morbidity, mortality, and increased healthcare costs (4). Economically, bacterial resistance leads to extension of hospital stays, necessitating more intensive care and costlier medications (5). Moreover, in low-income countries, the lack of knowledge about proper use, non-adherence to prescription protocols, and the abusive use of antibiotics often lead to increased phenomena of bacterial resistance to these molecules (6).

Microbial resistance to antibiotics is one of the top ten global threats to public health. According to the World Health Organization (WHO), sub-Saharan Africa is the most

affected by this problem, where in 2019, 1.27 million deaths were directly attributable to bacterial resistance (7). Given this situation, it is imperative to deepen the understanding of the epidemiology and antibiotic resistance of uropathogens to ensure rational and regular surveillance of their sensitivity to antibiotics to enhance clinical outcomes. Therefore, our aim is to analyze the antibiotic resistance profiles of uropathogens from patients at the Regional Hospital Center (CHR) of Daloa, Côte d'Ivoire over a four-year period (2019 to 2022).

Materials and method:

Study setting and design:

This research was a descriptive cross-sectional study conducted in the Bacteriology-Virology Laboratory of the Regional Hospital Center (CHR) of Daloa (Côte d'Ivoire), over a period of 4 years (January 2019 to December 2022).

Urine collection and microbiological analysis:

From 2019 to 2022, a total of 1,513

urine samples were received and routinely processed at the Bacteriology-Virology Laboratory of CHR in Daloa, Côte d'Ivoire. Upon reception, the initial analysis included a macroscopic examination to identify characteristics such as appearance (clear, cloudy, purulent, haematuria, presence of sediment). This was followed by microscopic examination, which entailed a wet mount to detect cells (leukocytes, erythrocytes, epithelial cells), bacteria, ova of parasites (e. g. nematodes), yeasts, and nitrites, along with direct Gram stain.

Urine samples exhibiting significant leukocyturia were cultured using the quantitative calibrated loop method. For this, 10 μ l (0.01 ml) of the sample was spread onto agar media and incubated at 37°C for 18 to 24 hrs. Nutrient agar or Uriselect medium were used for the general enumeration of urinary pathogens. The isolation of different species was facilitated by selective media such as Cetrimide agar for *Pseudomonas*, Chapman medium for *Staphylococcus*, Sabouraud agar with chloramphenicol for fungal isolation, eosin methylene blue (EMB) agar for Enterobacteriaceae, and Hektoen agar for *Salmonella*.

After culture incubation, quantitative bacterial colony counting was conducted. The interpretation of urine cultures adhered to the criteria defined by Kass in 1956, which includes a homogeneous culture (monomicrobial infection), significant leukocyturia ($\geq 10^4$ leukocytes/ml of urine), and significant bacteriuria ($\geq 10^5$ bacteria/ml of urine). Bacterial counts of 10^3 CFU/ml or 10^4 CFU/ml was also indicative of infections, particularly in samples from non-catheterized paraplegic men, women with cystitis, cases of high diuresis under antibiotic treatment or when slow-growing bacteria are present.

Following bacterial enumeration, Gram stain was performed on the colonies. Conventional biochemical such as oxidase and catalase were conducted on colonies from the ordinary agar. Enterobacteriaceae were characterized using the reduced Le Minor tray, *Staphylococcus* isolates were identified by DNase, mannitol fermentation, and motility tests, *Enterococcus* by haemolysis pattern, and *Pseudomonas* by oxidase and motility tests.

Antibiotic sensitivity testing:

From a 24-hour culture of the test isolates, a bacterial suspension was prepared in 2 ml of 0.85% NaCl solution to achieve the turbidity equivalent to 0.5 McFarland standard. The inoculum density was adjusted using a densitometer. Subsequently, Mueller Hinton (MH) agar was inoculated, followed by the placement of antibiotic-impregnated disks (as listed in Table 1). After incubation at 37°C in aerobiosis for 18 to 24 hrs, readings were taken, and results were interpreted according to the Antibiogram Committee of the French Society of Microbiology (CASFM) guidelines.

Phenotypic confirmation of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) production:

Phenotypic confirmation of isolates producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) was carried out using the double disc synergy test of amoxicillin-clavulanic acid with either of cefotaxime, ceftriaxone, or aztreonam arranged on Mueller-Hinton agar that has been pre-inoculated with the test isolates. The characteristic "champagne cork" or "funnel" zones appearing between discs of amoxicillin-clavulanic acid and the cephalosporin phenotypically confirms an isolate to be ESBL producer (8).

Data analysis:

Data were analysed using descriptive statistics on the R software (version R64 $\times$ 4.3.1), with p values of less than 0.05 considered statistically significant.

Results:

Prevalence of pathogens isolated in urine at CHR of Daloa:

In total, 1,513 urinary samples were received at the Bacteriology-Virology Laboratory of the CHR of Daloa from 2019 to 2022. Among these, microbial pathogens were recovered from 246 samples, giving an overall prevalence of positive urine cultures (PUCs) of 16.3%, while significant bacteria were isolated from 216 (14.3%) samples, fungi (*Candida* sp.) from 9 (0.6%) samples, and oval of nematodes (*Schistosoma haematobium*) from 21 (1.4%) samples (Fig 1).

Table 1: List of antibiotics tested on the bacterial isolates

Antibiotic class	Antibiotic name	Abbreviation	Content (µg)
Aminoglycosides	Amikacin	AKN	30
	Gentamicin	GMN	10
Beta-lactams	Cefuroxime	CXM	30
	Amoxicillin	AMX	25
	Amoxicillin/clavulanic acid	AMC	20/10
	Ticarcillin	TIC	75
	Cefepime	FEP	30
	Cefotaxime	CTX	30
	Cefoxitin	FOX	30
	Ceftriaxone	CRO	30
	Ceftazidime	CAZ	10
	Aztreonam	ATM	30
Carbapenem	Imipenem	IPM	10
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin	CIP	5
	Nalidixic acid	NAL	30
	Ofloxacin	OFX	5
Macrolide-Lincosamide	Erythromycin	ERY	15
	Clindamycin	CMN	2
Sulphonamides	Trimethoprim/sulfamethoxazole	SXT	1.25/23.75
Others	Fosfomycin	FOS	200
	Fusidic acid	FA	10
	Rifampicin	RA	5

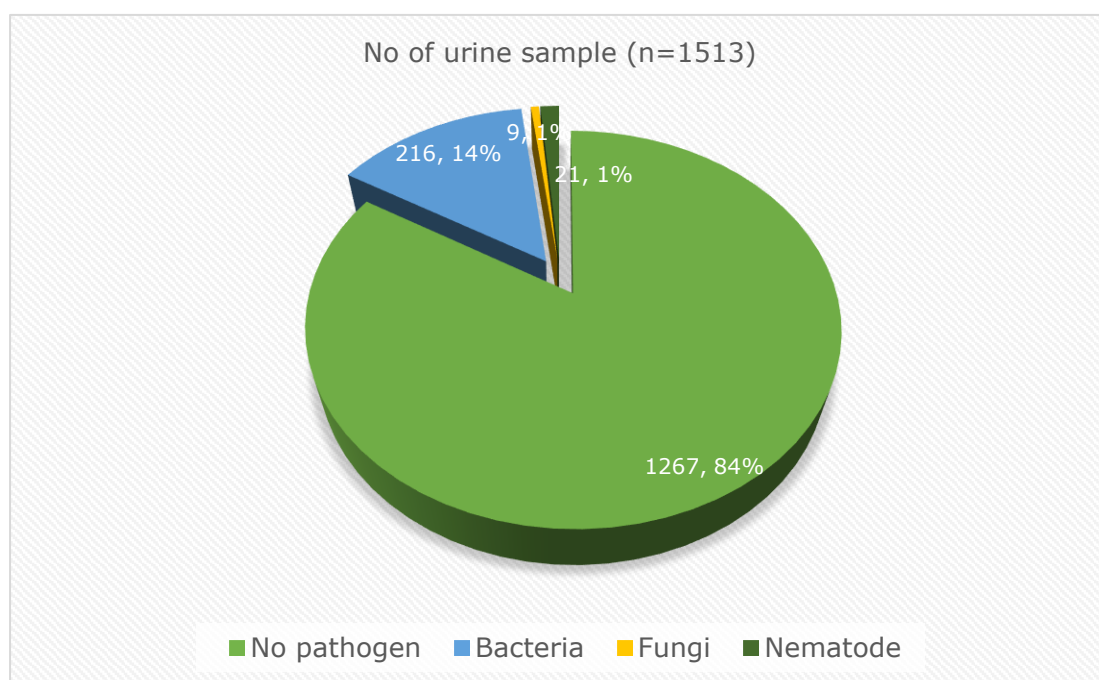


Fig 1: Prevalence of microbial pathogens from urinary tract infections in Daloa (2019 to 2022)

Distribution of bacteria species isolated from urine by Gram stain and biochemical characteristics:

Based on Gram staining reaction, significant bacteriuria was caused by Gram-negative bacilli (91.2%), Gram-positive cocci (5.9%) and Gram-negative cocci (2.9%) (Fig 2).

Fig 3 depicts the frequency of bacterial isolates, which shows that *Escherichia coli* was the most frequently isolated with 73.2%, followed by unknown Enterobacteriaceae (4.5%), *Klebsiella* sp. (4.5%), *Klebsiella pneumoniae* (4.0%) and other bacterial isolates (13.8%).

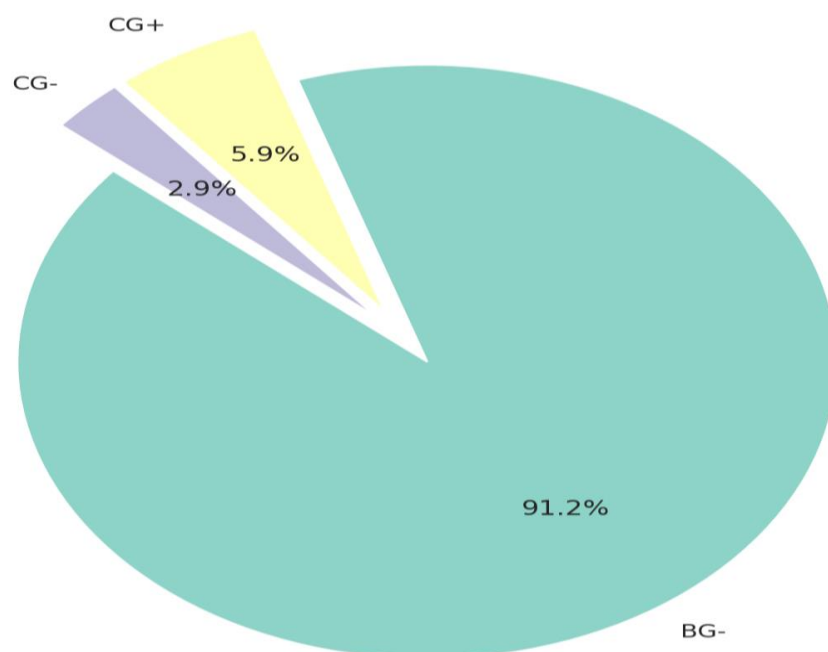


Fig 2: Frequency distribution of bacteria isolates based on Gram staining reaction

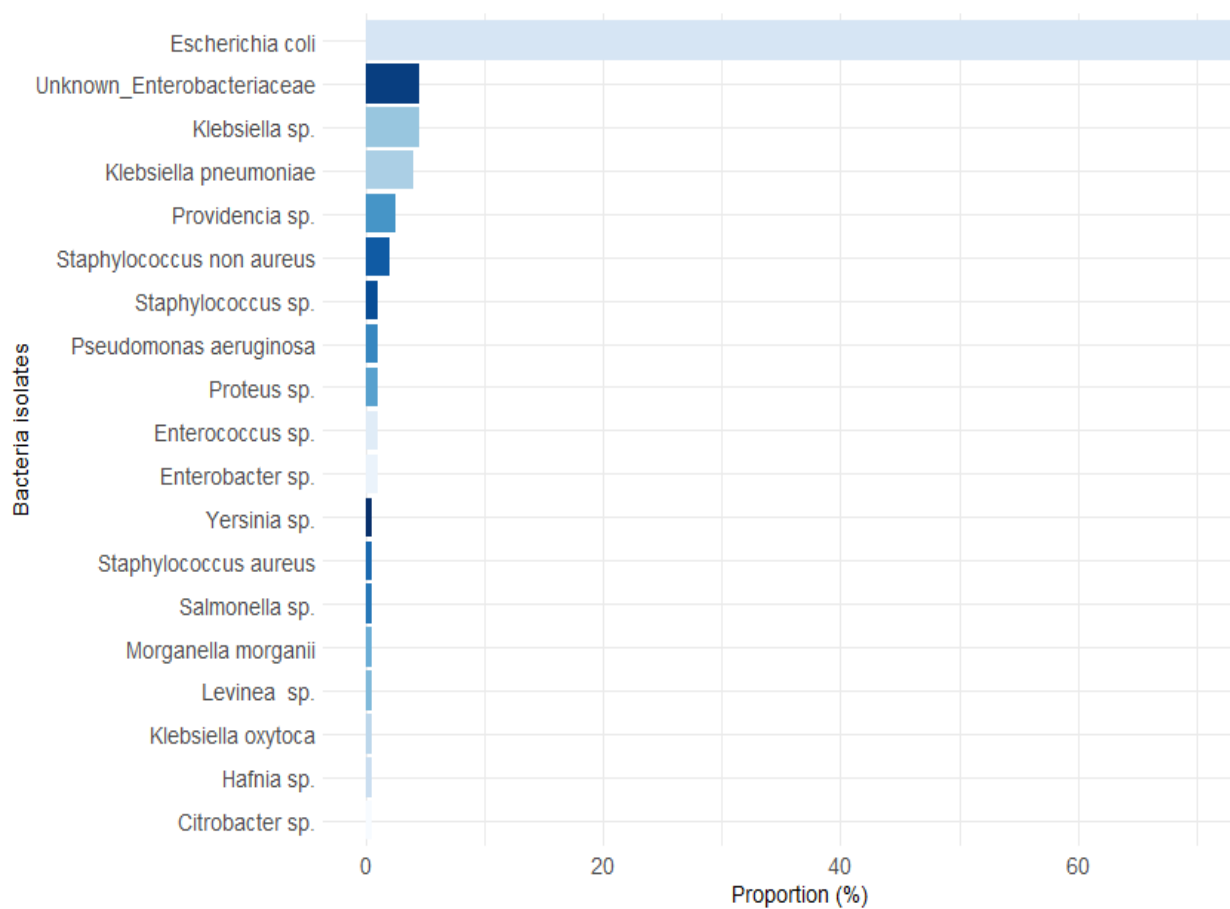


Fig 3: Frequency distribution of bacterial isolates of urinary tract infections.

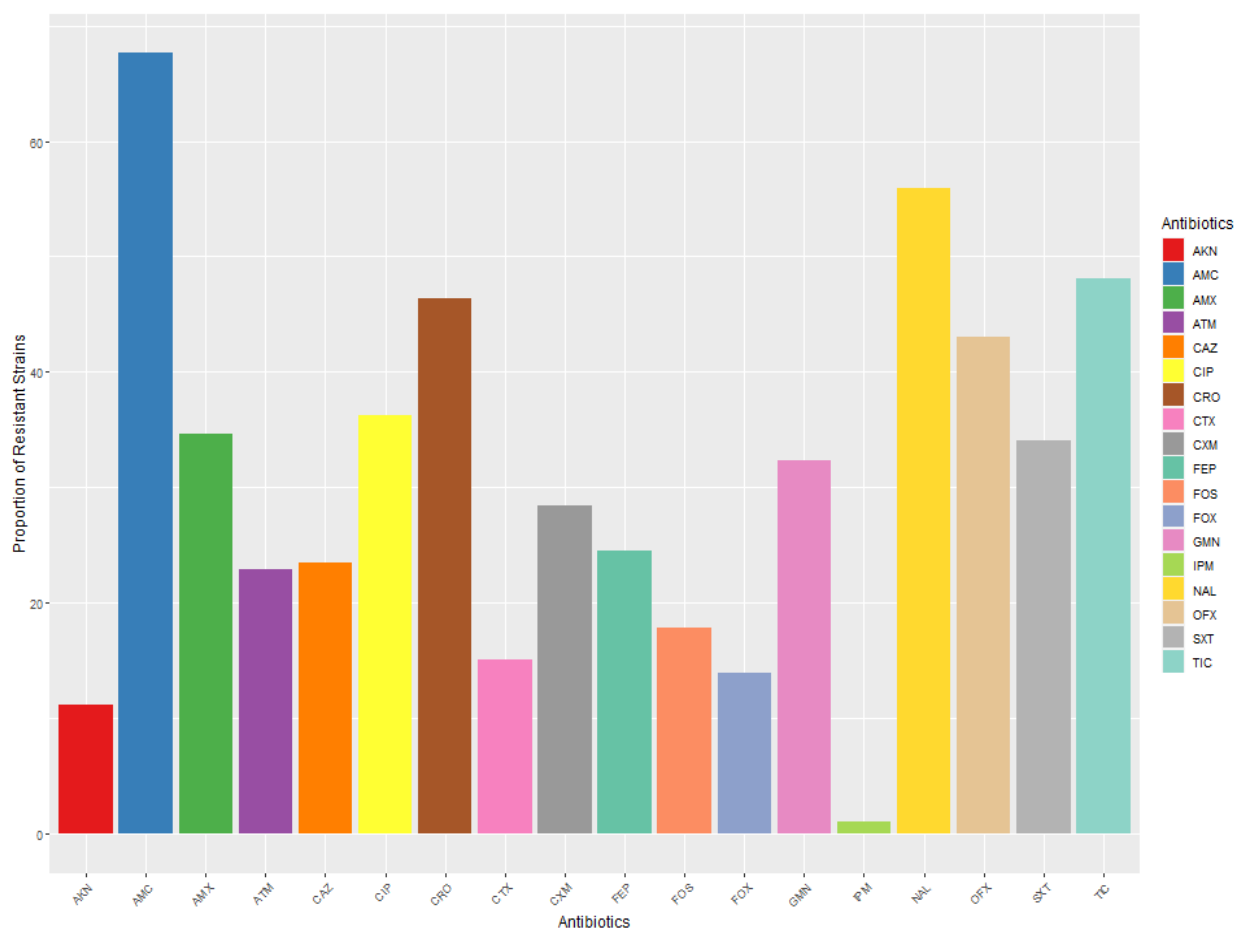


Fig 4: Resistance of Enterobacteriaceae to standard antibiotics.

Antibiotic susceptibility results of Enterobacteriaceae:

Fig 4 showed that the Enterobacteriaceae (n=179) demonstrated *in vitro* resistance to most of the antibiotics tested. However, carbapenem (represented by imipenem) showed high *in vitro* inhibitory activity (with 95% sensitivity and only 5% resistance rate) against the isolates over the 4-year period. The highest resistance rates were recorded for amoxicillin/clavulanic acid (AMC) and nalidixic acid (NAL) with resistance rates of 67.0% and 56.0% respectively.

Resistance of Enterobacteriaceae isolates of urinary tract infections to standard antibiotics:

The results of antimicrobial susceptibility showed high resistance rates to all tested antibiotics. Specifically, *Enterobacter* species were 100.0% resistant to fosfomycin (FOS), amoxicillin/clavulanic acid (AMC), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT), and cefoxitin (FOX). However, they were 100.0% sensitive to ciprofloxacin (CIP), cefepime (FEP), genta-

micin (GMN), imipenem (IMP), and cefotaxime (CTX). For *E. coli* isolates, resistance was pronounced to ticarcillin (TIC) with a rate of 91.0%, amoxicillin (AMX) 85.0%, trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT) 84.0%, and nalidixic acid (NAL) 82%. However, they were considerably sensitive to IMP (99.0%).

For *Klebsiella pneumoniae*, resistance rate to AMX and TIC was 100.0%, while to GMN and FOS, the rates were 75% and 67% respectively. Conversely, resistance rate to IMP, aztreonam (ATM), and CTX was 0%. The resistance rate of *Klebsiella* sp., was 100.0% to CXM, TIC, SXT, AMX, and ceftazidime (CAZ) but were 100.0% sensitive to IMP, amikacin (AKN) and cefuroxime (CTX).

For *Proteus* sp., 50.0% of the isolates were resistant to NAL, TIC and SXT. For *Providencia* sp., 100.0% were resistant to CIP, TIC, SXT and AMX. For unknown Enterobacteriaceae, 100.0% were resistant to AMX and CTX, and 80.0% to OFX. In contrast, they were 100% sensitive to IMP, GMN, and AKN.

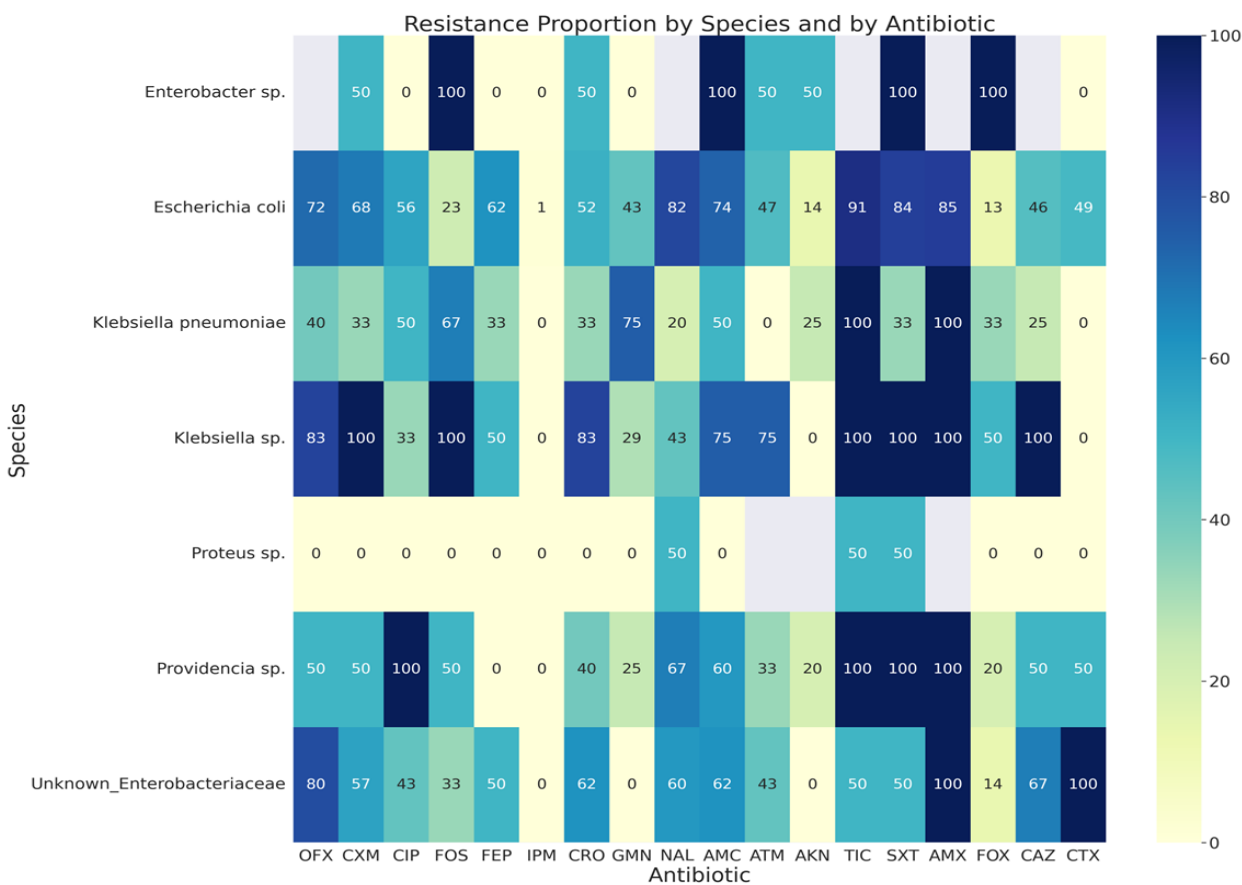


Fig 5: Resistance of Enterobacteriaceae isolates from urinary infections to common antibiotics.

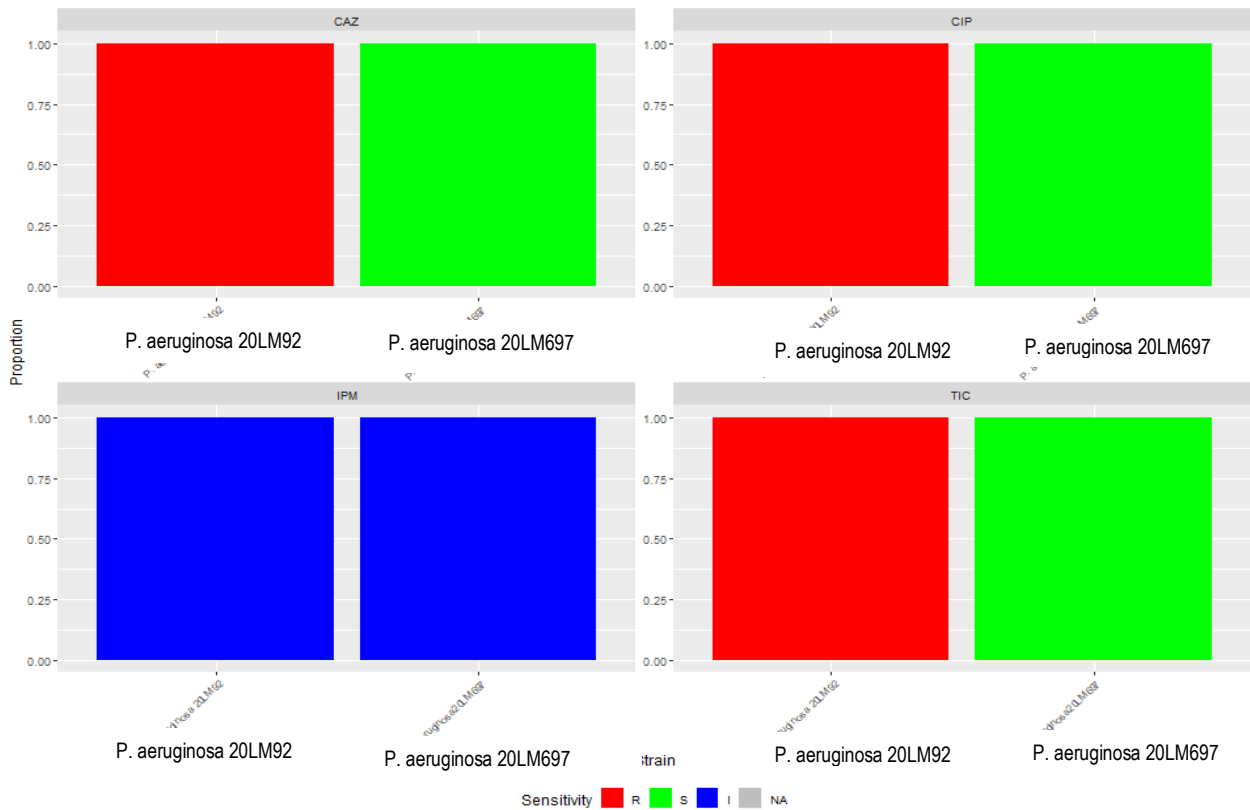


Fig 6: Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates to standard antibiotics.

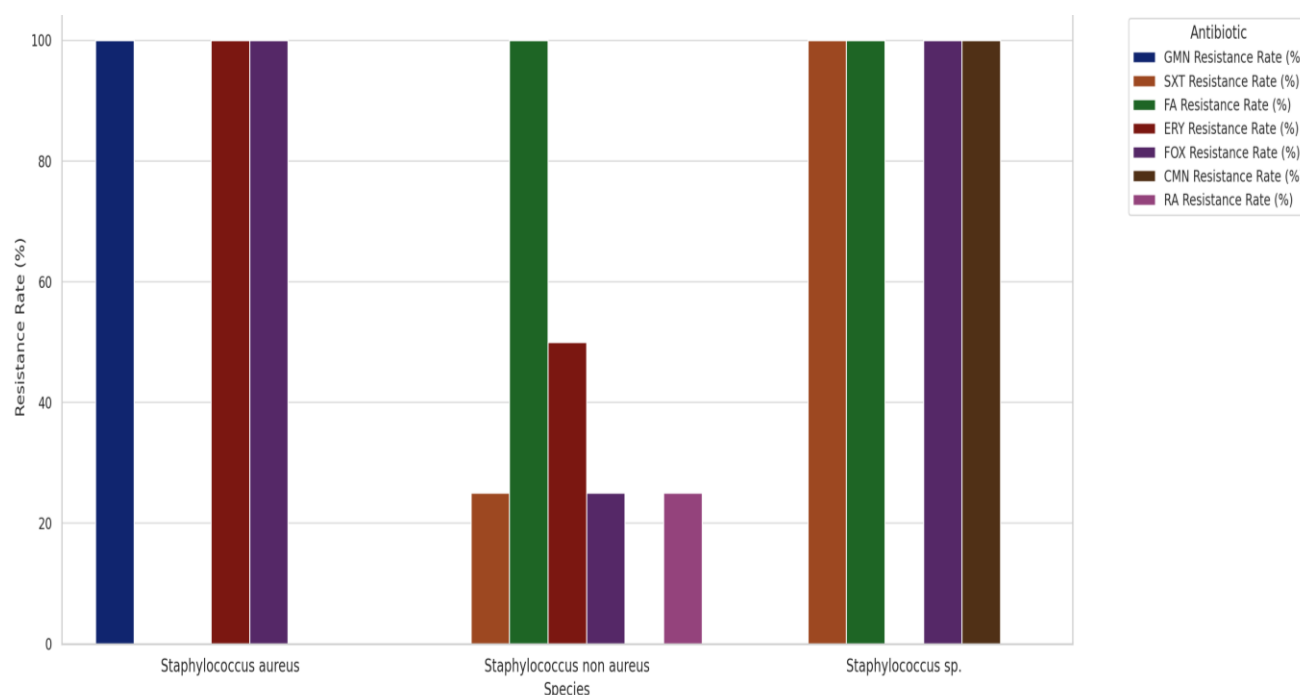


Fig 7: Resistance of *Staphylococcus* isolates to standard antibiotics.

Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates to standard antibiotics:

Fig 6 shows the resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa* isolates (n=2) to standard antibiotics, with 50.0% of the isolates resistant to ceftazidime (CAZ), ciprofloxacin (CIP), and ticarcillin (TIC) and 100.0% of the isolates with intermediate resistance to imipenem (IPM).

Resistance of *Staphylococcus* isolates to standard antibiotics:

The result of the antibiotic sensitivity test of the *Staphylococcus* isolates is presented in Fig 7, which showed that 100.0% of the isolates were resistant to erythromycin (ERY), clindamycin (CMN), ofloxacin (OFX), and trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT). Also, the non-aureus *Staphylococcus* isolates were resistant to fusidic acid (FA) and ERY with 100.0% and 66.7% rates respectively. For *Staphylococcus aureus* isolates, they were 100.0% resistant to fusidic acid (FA), gentamicin (GMN), ceftiofur (FOX) and erythromycin (ERY).

Prevalence of observed resistance phenotypes resulting from antibiotic resistance in isolated bacterial isolates:

Over the 4-year period, the antibiotic sensitivity and resistance tests performed at the Bacteriology-Virology Laboratory at CHR of Daloa identified a single resistance phenotype, extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strains among the Enterobacteriaceae isolates. This phenotype was identified in 27 of the 179 Enterobacteriaceae isolates, representing a rate of 15.1%. *Escherichia coli* accounted for 81.5% (22/27) of the ESBL-pro-

ducing isolates, 14.8% (4/27) were unidentified Enterobacteriaceae, and 3.7% (1/27) were *Klebsiella* sp.

Discussion:

Urinary tract infection is a condition characterized by the inflammation of the urinary pathways resulting from abnormal colonization of detrimental microorganisms (9). Discerning the microbial aetiology and resistance patterns of these microorganisms to conventional antibiotics is pivotal to guide clinical decisions more accurately. This study, spanning four years (2019 to 2022), showed that UTIs in Daloa are predominantly bacterial in nature, with significant bacteriuria accounting for 14.3% (216/1513) of the UTI cases, followed by infections due to *Schistosoma haematobium* (1.4%, 21/1513) and candiduria (0.6%, 9/1513).

The predominance of bacteriuria in UTI as observed in our study has been reported by several authors (10,11). This is attributed to several factors including age, frequent sexual activity, inadequate or excessive hygiene, menopause, and homosexuality (12). The results indicated a predominant incidence of Gram-negative bacilli accounting for 91.2% of bacteriuria, with *E. coli* being the most prevalent species with 73.2%. The high prevalence of *E. coli* is corroborated by other studies (13), and could be attributed to specific factors such as presence of bacterial adhesins in *E. coli* which facilitate its binding to the urinary epithelium (14,15).

The results of antibiotic susceptibility test for the Enterobacteriaceae in particular

revealed significant resistance to all tested antibiotics, with the highest resistance to amoxicillin/clavulanic acid (67.0%), followed by nalidixic acid (56.0%), ticarcillin (48.0%), and ceftriaxone (47.0%). *Escherichia coli* showed pronounced resistance to ticarcillin (91.0%), amoxicillin (85.0%) and trimethoprim/sulfamethoxazole (84.0%). *Enterobacter* sp. isolates also exhibited profound resistance (100%) to several antibiotics including fosfomycin, amoxicillin/clavulanic acid, trimethoprim/sulfamethoxazole and ceftazidime. The non-Enterobacteriaceae isolates such as *Pseudomonas aeruginosa* also exhibited 50.0% resistance to ceftazidime, ciprofloxacin and ticarcillin, and *Staphylococcus* sp. showed 100.0% resistance rate to ofloxacin, clindamycin, erythromycin and trimethoprim/sulfamethoxazole, while the non-aureus *Staphylococcus* isolates showed 100.0% resistance to fusidic acid and 66.7% to erythromycin. These high resistance rates could be attributed to the selective pressure from extensive and often inappropriate use of broad-spectrum antibiotics in both hospital and community settings (16).

Our study primarily identified ESBL resistance phenotype among the Enterobacteriaceae, with a prevalence of 15.1%. *Escherichia coli* alone accounted for 81.5% of the ESBL-producing Enterobacteriaceae, while other unidentified Enterobacteriaceae isolates accounted for 14.8% and *Klebsiella* sp. accounted for 3.7%, findings that are in agreement with reports of other studies (17,18,19). Our study provides crucial insights into the understanding of the microbial aetiology of UTIs and their antibiotic resistance patterns to available antibiotics in Daloa, which can assist healthcare authorities in devising effective strategies for the management of significant bacteriuria and UTIs in the region.

Conclusion:

The prevalence of significant bacteriuria in our study over a 4-year period in Daloa, Cote D'Ivoire, is 14.3%, while candiduria and urinary schistosomiasis constituted 0.6% and 1.4% respectively. Bacteriuria was predominantly caused by Gram-negative bacilli (91.2%), with *E. coli* being the most prevalent isolate (73.2%). The ESBL phenotype was detected in 15.1% of the Enterobacteriaceae, with *E. coli* comprising 81.5%, *Klebsiella* sp. 3.7%, and unknown Enterobacteriaceae 14.8%. The *in vitro* resistance rates of the isolates to standard antibiotics were high.

The findings of our study may be useful for healthcare authorities to plan interventions that can assist in optimizing the management of bacteriuria and UTI in the city of Daloa.

Contributions of authors:

GDA and ADM conceived the study idea; GDA, NNP and MS were involved in the study design; GDA, NNP, MS, GN and ADM were involved in analysis and interpretation of data; GDA and NNP produced the manuscript draft; and GN and ADM critically reviewed the manuscript for intellectual content. All authors read and approved the final manuscript submitted.

Source of funding:

No funding was received for the study.

Conflict of interest:

Authors declare no conflict of interest.

References:

1. Mazzariol, A., Bazaj, A., and Cornaglia, G. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections a review. J Chemother. 2017; 29 (sup1): 2-9. doi:[10.1080/1120009X.2017.1380395](https://doi.org/10.1080/1120009X.2017.1380395)
2. Gupta, A., Bansal, N., and Houston, B. Metabonomics of urinary tract infection: a new uroscope in town. Expert Rev Mol Diagn. 2012; 12(4):361-369. doi: [10.1586/erm.12.27](https://doi.org/10.1586/erm.12.27)
3. Freeman, J. T., Anderson, D. J., and Sexton, D. J. Seasonal peaks in *Escherichia coli* infections: possible explanations and implications. Clin Microbiol Infect. 2009; 15: 951-953. doi:[10.1111/j.1469-0691.2009.02866.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02866.x)
4. Rudrajit, P. State of the Globe: Rising Antimicrobial Resistance of Pathogens in Urinary Tract Infection. J Glob Infect Dis. 2018; 10: 117-118.
5. Toe, E., Dadié, A. T., Dako, E., Loukou, G., Djé, K. M., and Blé, Y. C. Prevalence and potential virulence of *Escherichia coli* in ready-to-eat raw mixed vegetable salads in collective catering in Abidjan, Côte d'Ivoire. British Food J. 2018; 20 (1):32-44. doi:[10.1108/BFJ-09-2017-0484](https://doi.org/10.1108/BFJ-09-2017-0484)
6. Ouedraogo, A. S., Jean Pierre, H., Banuls, A. L., Ouedraogo, R., and Godreuil, S. Émergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest: facteurs favorisant et évaluation de la menace. Médecine et Sante' Tropicales. 2017; 27: 147-154 <https://www.afro.who.int/sites/default/files/2023-07/AFR-RC73->
7. Bakour, S., Touati, A., Bachiri, T., Sahli, F., et al. First report of 16S rRNA methylase ArmA-producing *Acinetobacter baumannii* and rapid spread of metallo-beta-lactamase NDM-1 in Algerian hospitals. J Inf Chemother. 2014; 20: 696-701. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2014.07.010>
8. Odoki, M., Almustapha, A. A., Tibyangye, J., et al. Prevalence of bacterial urinary tract infections and Associated factors among patients attending hospitals in Bushenyi District, Uganda. Int J Microbiol. 2019; 2019: ID 4246780. P8. doi: [10.1155/2019/4246780](https://doi.org/10.1155/2019/4246780)
9. Yao, K. H., Sanogo, S., Binan, Y. O., and Diallo, A. D. Profil épidémiologique et biologique de la bactériurie asymptomatique en milieu hospitalier à Abidjan Rev Int Sci Méd. 2011; 13 (3): 18-21.
10. Agu, G. C., Shoyemi, W. R., Out, U. J., and Afolabi, B. T. Prevalence of asymptomatic bacteriuria in

- healthy tertiary institution students in Ijebu-north of Ogun state, Nigeria. Trends Sci Technol J. 2020; 5 (2): 348 – 353
12. Lobel, B., and Soussy, C-J. Livre « Les infections urinaires », Monographie En Urologie, Springer, Paris. 2007.
 13. Diarra, L., Diarra, S., Sangaré, A., et al. Profil Épidémiologique et Bactériologique des Infections du Tractus Urinaire au Laboratoire de Biologie Médicale de l'Hôpital de Sikasso. Health Sci Dis. 2022; 23 (12): 65-68
 14. Alvarez, C., Pangon, B., Allouch, P. Y., and Ghnassia, J. C. Infections urinaires: Principaux aspects épidémiologiques, bactériologiques et cliniques. Feuille Biol. 1992; 23: 15-24
 15. Larabi, K., Masmoudi, A., and Fendri, C. Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un centre hospitalo-universitaire de Tunis: à propos de 1930 cas. Médecine et Maladie Infectieuse. 2002; 33: 348-352.
[https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(03\)00180-X](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(03)00180-X)
 16. Amine, L. I., Chegri, M., and L'Kassmi, H. Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès. Antibiotiques. Mai. 2009; 11(2):90-96.
<https://doi.org/10.1016/j.antib.2008.10.004>
 17. Minchella, A., Molinari, L., Alonso, S., Bouziges, N., Sotto, A., and Lavigne, J.-P. Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. Pathologie Biologie. 2010; 58: 1–6
<https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.08.002>
 18. Penali, L., Guessend, N., and Dosso, M. Surveillance de la Résistance bactérienne aux antimicrobiens Expérience de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Africa CDC Meeting Addis-Ababa 28th March 2017: 30.
<https://au.int/sites/default/files/documents/32387>
 19. Mohammed, S., Khalid, L., and Lhoussaine, I. Profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi. Pan Afr Med J. 2017; 28: 29: doi: [10.11604/pamj.2017.28.29.11402](https://doi.org/10.11604/pamj.2017.28.29.11402)



Journal of Applied Biosciences 192: 20319 – 20330
ISSN 1997-5902

Prévalence et écologie microbienne des infections des voies urinaires au CHR de Daloa (Côte d'Ivoire)

GBEGBE Deho Aristide¹, N'ZI N'goran Parfait^{1,2}, MONTHAUT Sylvia³, ALLE Aguié Patrice³, ANGAMAN Djédoux Maxime^{1*}

¹ Département de Biochimie-Microbiologie, Laboratoire d'Agrovalorisation, Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire.

² Département de Bactériologie-Virologie, Centre National de Référence des Antibiotiques, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

³ Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Centre Hospitalier Régional de Daloa, BP 207 Daloa, Côte d'Ivoire.

*Auteur correspondant, e-mail : angaman@ujlg.edu.ci

Submission 21st September 2023. Published online at <https://www.m.elewa.org/Journals/> on 31st December 2023. <https://doi.org/10.35759/JABs.192.3>

RESUME

Objectifs : Cette étude vise à déterminer la prévalence et l'écologie microbienne des infections urinaires à Daloa de 2019 à 2022.

Méthodologie et résultats : Les données ont été collectées à partir des registres électroniques du Centre Hospitalier Régional de Daloa, couvrant 4993 patients sur quatre ans dont 1513 ECU au nombre desquels 246 cas positifs. La prévalence globale des infections urinaires était de 16,25 %, avec des taux de 7,33 % chez les femmes et 8,92 % chez les hommes. Les taux annuels variaient de 12,54 % à 19,14 %. L'âge n'a pas montré de corrélation significative avec la prévalence. *Escherichia coli* était l'agent prédominant, avec des variations selon le sexe et l'âge.

Conclusion et applications des résultats : Les infections urinaires sont un problème croissant dans la région du Haut-Sassandra. Cette étude souligne l'importance de connaître la prévalence et les agents responsables de ces infections. Les autorités doivent utiliser ces résultats pour initier des campagnes de sensibilisation sur les facteurs de risque associés à cette affection dans la région du Haut-Sassandra. Cette recherche fournit une base essentielle pour comprendre l'incidence des infections urinaires et guide les décideurs dans l'amélioration des stratégies de prévention et de gestion de ces infections. Ceci étant les autorités sanitaires doivent utiliser ces résultats pour initier des campagnes de sensibilisation sur les facteurs de risque associés à cette affection à Daloa afin de réduire les risques de contaminations. Il est donc crucial d'associer aux techniques de microbiologies classiques appliquées dans les laboratoires, les techniques de séquençages nouvelles générations pour une meilleure identification des pathogènes impliquées dans ces affections afin de mieux poser le diagnostic.

Mots clés : Infections urinaires, Prévalence, Écologie microbienne, *Escherichia coli*, Daloa (Côte d'Ivoire)

Prevalence and microbial ecology of urinary tract infections at the Daloa RHC (Côte d'Ivoire)

ABSTRACT

Objectives: This study aims to determine the prevalence and microbial ecology of urinary tract infections in Daloa from 2019 to 2022.

Methodology and Results: Data were collected from electronic records at the Daloa Regional Hospital, covering 4993 patients over four years. The overall prevalence of urinary tract infections was 16.25%, with rates of 7.33% in females and 8.92% in males. Annual rates ranged from 12.54% to 19.14%. Age did not show a significant correlation with prevalence. *Escherichia coli* was the predominant agent, with variations by gender and age.

Conclusion and Applications of results: Urinary tract infections are a growing concern in the Haut-Sassandra region, and this study underscores the importance of understanding their prevalence and causative agents. The findings provide a crucial foundation for grasping the incidence of these infections and offer guidance for decision-makers to enhance prevention and management strategies. It is imperative that health authorities leverage these insights to launch awareness campaigns in Daloa and the broader region, focusing on the risk factors to mitigate infection rates. Additionally, integrating traditional microbiology methods with next-generation sequencing techniques for pathogen identification will significantly improve diagnostic precision.

Keywords : Urinary tract infections, Prevalence, Microbial ecology, *Escherichia coli*, Daloa (Côte d'Ivoire)

INTRODUCTION

Les infections urinaires se caractérisent par une prolifération anormale de microorganismes dans les voies urinaires (Jardin, 1986). Actuellement, elles affectent environ 405 millions de personnes dans le monde, entraînant 0,23 million de décès annuels (Islam *et al.*, 2022). Aux États-Unis, 11 millions de cas d'infections urinaires sont recensés chaque année (Ngong *et al.*, 2021). En France, jusqu'en 2009, environ 2 millions de cas d'infections étaient signalés annuellement (Amine *et al.*, 2009). En Arabie Saoudite, ces infections représentent près de 10 % de tous les cas enregistrés récemment, constituant la deuxième cause d'admission aux urgences dans le pays (Almutawif & Eid, 2023). En Afrique, la prévalence globale n'est pas bien documentée (Ngong *et al.*, 2021). Cependant, au Mali, la prévalence était estimée à 18,5 % en 2019 à Bamako, tandis qu'à Sikasso, elle atteignait 13,62 % en 2022 (Diarra *et al.*, 2022). En Guinée, des études récentes menées dans trois hôpitaux de

Conakry ont révélé une prévalence significativement plus élevée des infections urinaires (60,2 %) par rapport à d'autres types d'infections telles que les bactériémies (23,8 %) et les infections du site opératoire (15,8 %) (Diallo *et al.*, 2022). En Côte d'Ivoire, la question de l'épidémiologie des infections urinaires communautaires reste un défi, en raison du manque de données disponibles. De plus, la plupart des études antérieures ont été réalisées à Abidjan. Par exemple, une étude a rapporté une prévalence de 18 % des infections urinaires néonatales à Abidjan (Kouassi-M'Bengue *et al.*, 2008), tandis qu'une autre a révélé une prévalence de 4 % chez les patients drépanocytaires au CHU de Treichville (Kamara *et al.*, 2017). Pourtant, cette infection est endémique dans tout le pays y compris les villes de l'intérieur comme Daloa, où il existe peu de données dans la littérature. Cette endémicité des infections des voies urinaires pourrait être dû aux facteurs de risque qui peuvent être de nature comportementale

(l'hygiène personnelle, l'utilisation d'une contraception spermicide, relations sexuelles), anatomique (le sexe, les problèmes de prostate), l'immunité compromise (le diabète) ou génétique (Emiru *et al.*, 2013 ; Storme *et al.*, 2019). Cette étude vise à combler cette lacune

en fournissant des informations actualisées sur l'incidence des infections urinaires dans la région du Haut-Sassandra sur une période de quatre ans, de Janvier 2019 à Décembre 2022, afin de mieux comprendre l'écologie microbienne de cette infection.

MATERIEL ET METHODES

Il s'agit d'une étude rétrospective observationnelle s'étendant sur une période de quatre (4) années, de 2019 à 2022. Cette enquête a été menée au sein du laboratoire de Bactériologie-Virologie du Centre Hospitalier Régional (CHR) de Daloa.

Critères d'inclusion : Tous les patients se présentant au laboratoire avec un bulletin d'Examen Cytobactériologique des Urines (ECBU) pendant la période d'étude ont été inclus dans l'étude.

Collecte des données : Les échantillons d'urine prélevés sur les patients ont été soumis à une analyse d'ECBU de routine. L'identification des agents pathogènes a été effectuée en se basant sur des critères culturels, morphologiques, biochimiques et antigéniques. Les données ont été recueillies en consultant les registres de routine du

laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa. Les informations concernant l'âge, le sexe, le lieu de résidence et le service médical ayant orienté le patient vers le laboratoire ont été documentées. De plus, les résultats des diagnostics biologiques des infections urinaires communautaires ont été consignés. Au total, les données de 1513 patients ont été collectées.

Analyse statistique : Une analyse statistique descriptive a été menée en utilisant le logiciel R (version R64×4.1.2). Par ailleurs, des tests de dépendance de Khi2 ont été réalisés pour évaluer les relations entre les variables pertinentes. Les valeurs de p inférieures ou égales à 0,05 ont été considérées comme statistiquement significatives, conformément aux critères de l'analyse statistique.

RESULTATS

Proportion des examens cytbactériologiques des urines (ECBU) : Selon les données recueillies, le laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa a traité un total de 4993 échantillons d'urine entre Janvier 2019 et Décembre 2022. Cependant, le nombre d'ECBU effectivement

enregistrés s'élevait à 1513, représentant ainsi une proportion de 30,30 % parmi l'ensemble des échantillons reçus. Parmi ces ECBU, 246 échantillons ont été positifs soit une prévalence de 16,25% sur la période de 2019 à 2022 (figure 1).

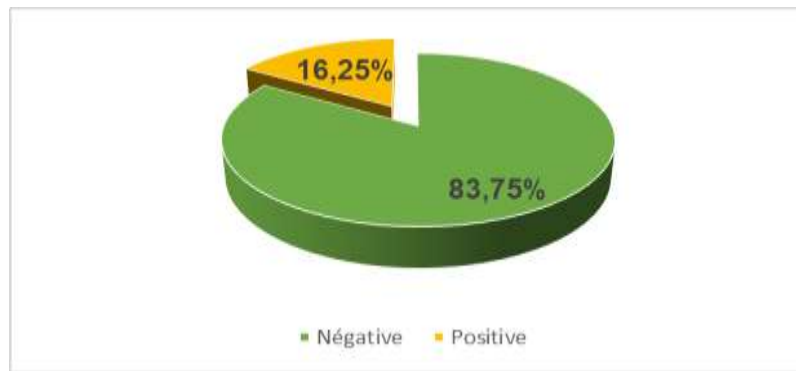


Figure 1 : Prévalence des patients testés positifs aux examens cytobactériologiques des urines (ECBU)

Prévalence annuelle des infections des voies urinaires dans la ville de Daloa : Les résultats des analyses de données montrent les prévalences annuelles des infections des voies urinaires représentées par la figure 2. Ces prévalences oscillent entre 12,54 % et 19,14 %. En effet, les prévalences de 2019, 2020, 2021 et de 2022 étaient respectivement de 13,43 %, 19,14 %, 12,54 % et 15,35 %.

Les analyses statistiques mettent en évidence l'absence de variation significative (valeur $p = 0,9994$, supérieure à 0,05) entre les prévalences de cette infection au cours de ces quatre années, telles que retenues pour l'étude dans la région du Haut-Sassandra, plus précisément au CHR de Daloa.

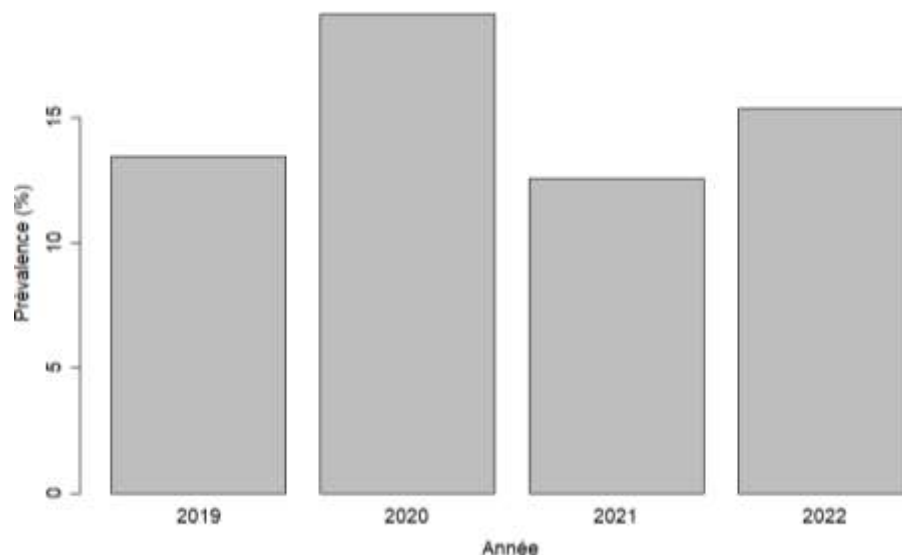


Figure 2 : Prévalence annuelle des infections des voies urinaires recensées au CHR de Daloa

Prévalence des infections urinaires en fonction du sexe : Les résultats de l'étude ont révélé que pendant la période d'étude, de Janvier 2019 à Décembre 2022, les cas d'infections urinaires observés chez les hommes étaient statistiquement similaires

(valeur $p = 0,8395$, supérieure à 0,05) à ceux observés chez les femmes. En effet, la prévalence des infections des voies urinaires chez les hommes s'établissait à 8,92%, tandis qu'elle était de 7,33% chez les femmes, comme illustré dans la Figure 3.

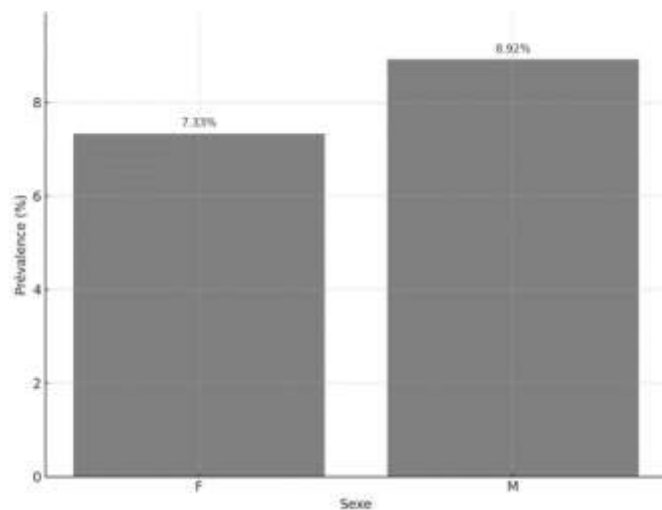


Figure 3 : Prévalence des infections urinaires en fonction du sexe

Prévalence des infections urinaires en fonction des tranches l'âge des patients : Les analyses statistiques ont révélé qu'il n'existait pas de différence significative ($0,4799 > 0,05$) en ce qui concerne la prévalence des infections urinaires ordinaires en fonction des tranches d'âge. En effet, les prévalences des infections des voies urinaires étaient de 1,52 %, 3,30 %, 4,95 % et 5,41 % respectivement pour les

patients âgés de 0 à 18 ans, de 19 à 30 ans, de 31 à 50 ans, et de plus de 50 ans, comme illustré dans la Figure 4. Les personnes les plus touchées se situaient principalement dans la tranche d'âge de 31 à 50 ans, suivies de près par celles âgées de 19 à 30 ans. À la lumière des résultats des analyses statistiques, il apparaît que le taux d'infection des voies urinaires ne dépend pas de l'âge des patients.

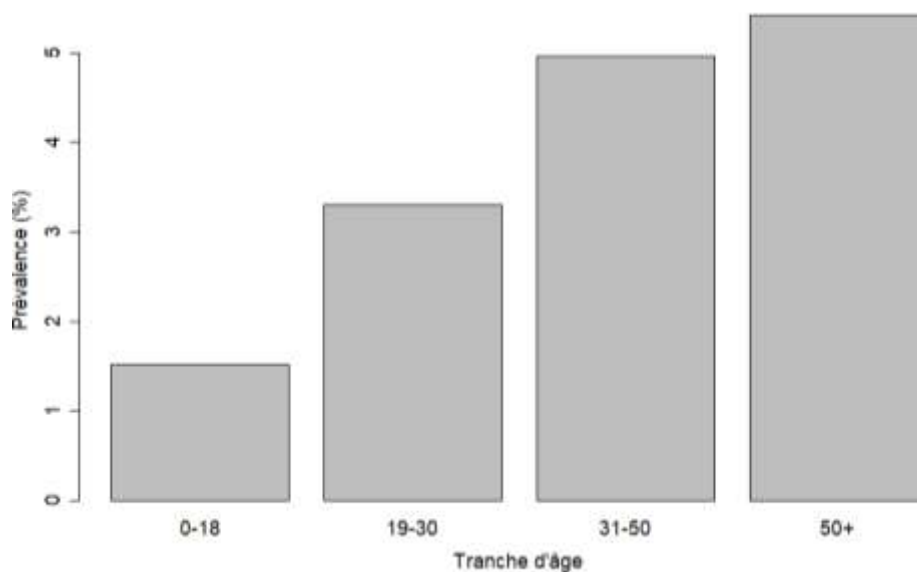


Figure 4 : Prévalence des cas d'infections urinaires en fonction des tranches d'âge des patients

Taux des infections des voies urinaires en fonction du sexe par tranche d'âge : Les taux d'infection des voies urinaires en fonction du sexe, répartis par tranche d'âge, sont présentés par la figure 5. Les analyses indiquent que les infections urinaires ne présentent pas de différences significatives en fonction du sexe,

quelle que soit la tranche d'âge (valeur $p = 0,9466$, supérieure à $0,05$). Dans la région du Haut-Sassandra, notamment au CHR de Daloa, on constate que les cas d'infections urinaires sont répartis de manière similaire entre les hommes et les femmes, quel que soit leur groupe d'âge.

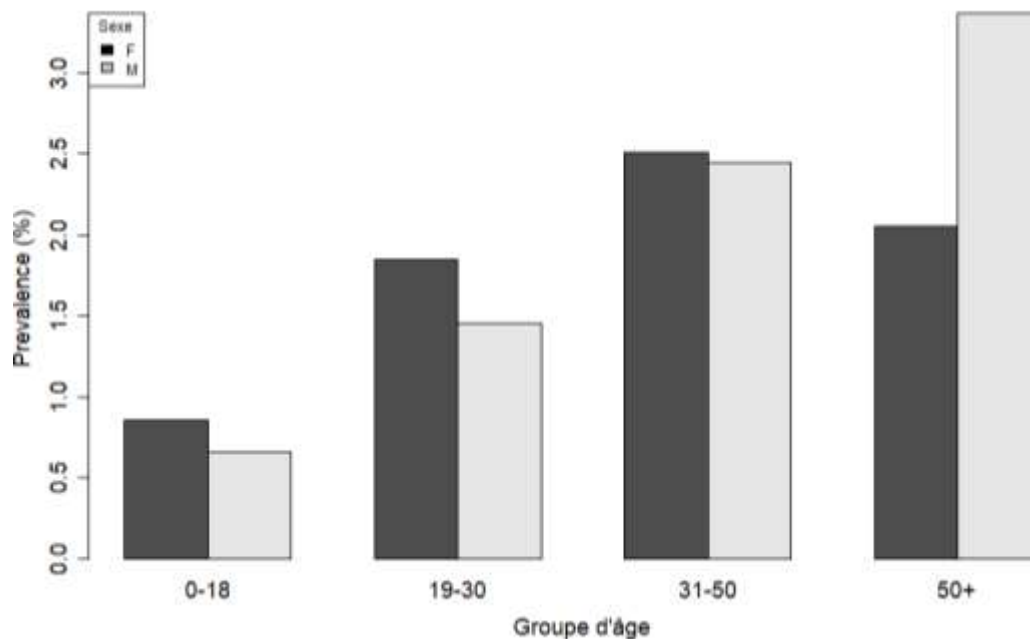


Figure 5 : Taux des infections des voies urinaires en fonction du sexe par tranche d'âge

Prévalence annuelle des pathogènes impliqués dans les infections urinaires : La prévalence annuelle des microorganismes impliqués dans les infections des voies urinaires de 2019 à 2022 est illustrée par la figure 6. Cette étude met en évidence la diversité des pathogènes responsables des infections urinaires à Daloa, parmi lesquels figurent *Escherichia coli*, *Candida sp.*, *Candida albicans*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Enterococcus sp.*, *Hafnia sp.*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella sp.*, *Levinea sp.*, *Morganella morganii*, *Proteus sp.*, *Providencia sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus non*

aureus, *Staphylococcus sp.*, *Yersinia sp.*, ainsi que des entérobactéries non identifiées. Il est à noter que la bactérie *Escherichia coli* se démarque en tant que l'agent pathogène le plus fréquemment isolé dans les cas d'infections urinaires au CHR de Daloa au cours des quatre années de l'étude. Sa prévalence a été particulièrement élevée en 2020. En revanche, les autres souches, telles que celles du genre *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Morganella*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Levinea*, *Providencia*, *Hafnia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Candida*, *Citrobacter*, et *Pseudomonas*, ont montré des prévalences relativement plus faibles.

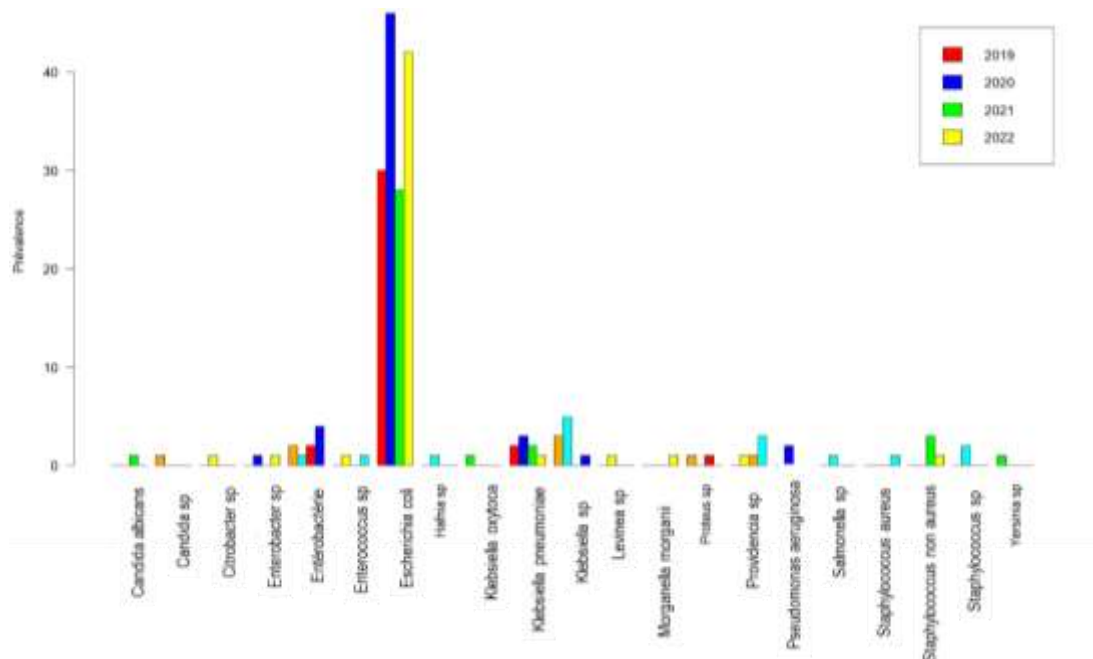


Figure 6 : Prévalence annuelle des pathogènes impliqués dans les infections des voies urinaires au CHR de Daloa

Prévalence des pathogènes impliqués dans les infections des voies urinaires en fonction du sexe : La Figure 7 présente une répartition des pathogènes impliqués dans les infections urinaires recensées au CHR de Daloa. Les résultats mettent en évidence que les bactéries des genres *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Providencia* et *Escherichia* ont été détectées dans les infections des voies urinaires, aussi bien chez les hommes que chez les femmes. En outre, il est intéressant de noter que *Escherichia coli*

s'est révélé être l'espèce la plus fréquemment isolée dans les infections urinaires de 2019 à 2022, indépendamment du sexe. Cependant, des différences ont été observées entre les sexes. *Candida sp.*, *Enterobacter sp.* et *Yersinia sp.* étaient responsables des cas d'infections urinaires spécifiquement chez les femmes à Daloa. En revanche, *Hafnia sp.*, *Citrobacter sp.*, *Levinea sp.* et *Morganella morganii* ont été isolées principalement chez les hommes.

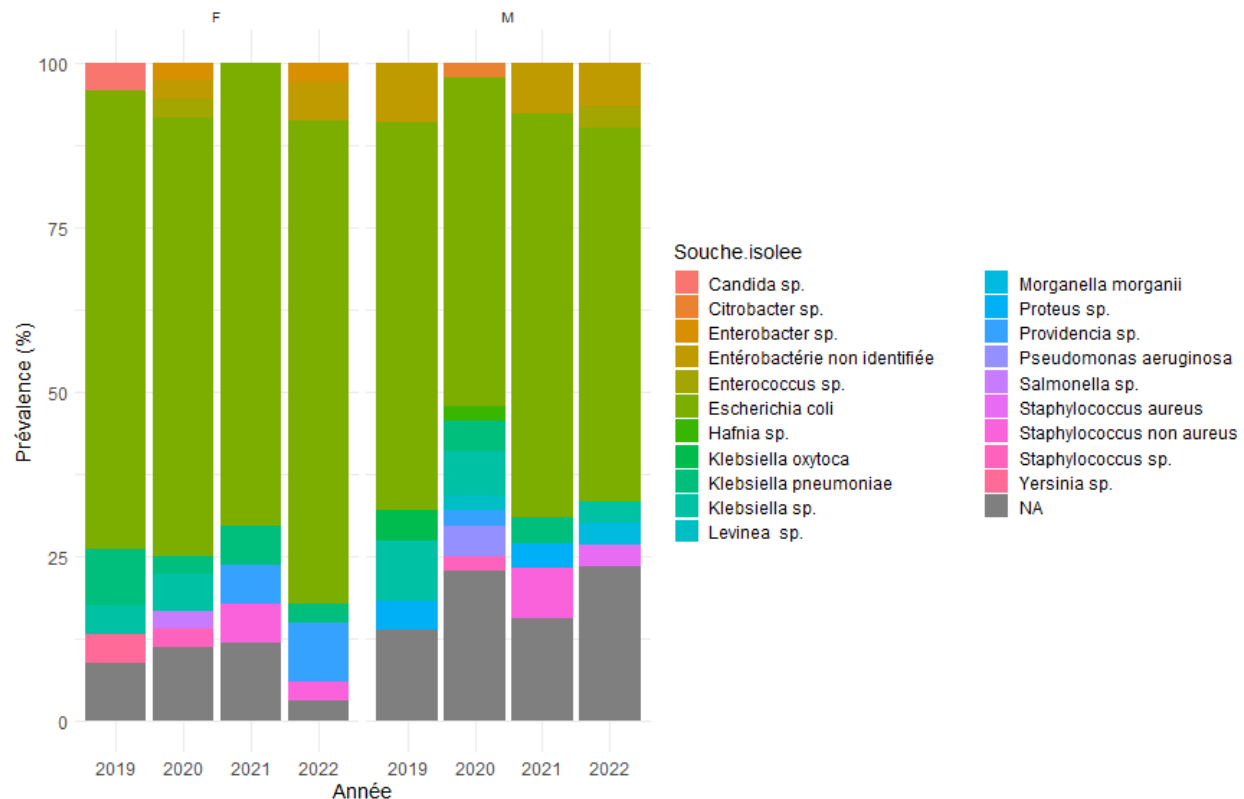


Figure 7 : Prévalence des pathogènes impliqués dans les infections des voies urinaires en fonction du sexe

Prévalence des pathogènes impliqués dans les infections des voies urinaires en fonction des tranches d'âge des patients : La prévalence des pathogènes impliqués dans les infections des voies urinaires en fonction des tranches d'âge est présentée par la Figure 8. *Escherichia coli* se distingue en tant que l'agent pathogène le plus fréquemment associé aux infections urinaires, et ce, dans toutes les tranches d'âge, avec une prévalence plus

élevée chez les patients âgés de plus de 50 ans. Il est bien de noter que le genre *Klebsiella* n'a pas été impliqué dans les infections des voies urinaires chez les patients de plus de 50 ans. En revanche, les genres *Levinea*, *Yersinia* et *Pseudomonas* ont été associés aux infections urinaires uniquement chez les patients de plus de 50 ans. De plus, le genre *Staphylococcus* a été isolé principalement chez les patients âgés de 19 à 30 ans.

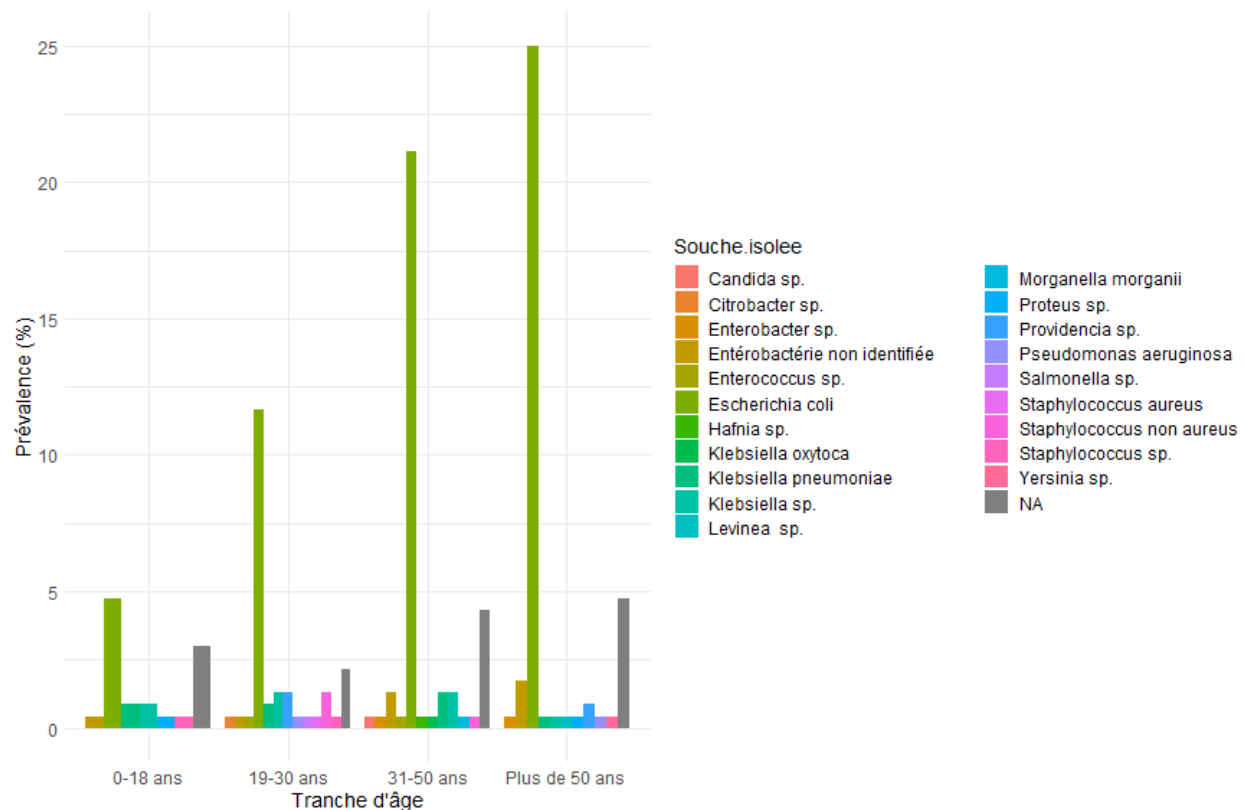


Figure 8 : Prévalence des pathogènes impliqués dans les infections des voies urinaires en fonction des tranches d'âge des patients

DISCUSSION

Les infections urinaires représentent une problématique majeure en raison de leur impact potentiel sur la santé rénale et la santé globale des individus (Kouassi-Mbengue *et al.*, 2008). La détermination de leur prévalence et de l'écologie microbienne dans la région du Haut-Sassandra de manière générale est cruciale pour orienter les autorités compétentes vers des méthodes de prise en charge efficaces des patients. Il est notable que les ECBU ont représenté 30,30% des consultations au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du Centre Hospitalier Régional (CHR) de Daloa. Cette proportion indique une considérable suspicion d'infections urinaires à Daloa. En comparaison, aux Pays-Bas, les infections urinaires ne représentaient que 1 % des consultations en médecine générale (Lugtenberg *et al.*, 2010), et environ 1 à 3 % des consultations en médecine générale au

Royaume-Uni (Schmiemann *et al.*, 2010). La prévalence globale des patients testés positifs aux ECBU s'élevait à 16,25 %, un chiffre bien supérieur à la prévalence mondiale estimée à 1,4 % (Mengistu *et al.*, 2023). Cependant, cette prévalence était inférieure aux taux alarmants enregistrés dans certaines régions d'Afrique, comme les 65,9 % à Buea et les 54 % à Bamenda qui sont deux villes du Cameroun (Akoachere *et al.*, 2012). L'examen des données a également révélé que la prévalence des infections urinaires était de 7,33 % chez les femmes et de 8,92 % chez les hommes à Daloa. Contrairement à de nombreuses études antérieures qui ont montré une prédominance des infections urinaires chez les femmes, nos résultats indiquent que, du point de vue statistique, les hommes et les femmes sont également touchés. Cette divergence par rapport aux tendances habituelles pourrait

nécessiter une enquête plus approfondie. En ce qui concerne la prévalence des infections urinaires en fonction des tranches d'âge, des taux de 1,52 %, 3,30 %, 4,95 % et 5,41 % ont été enregistrés respectivement pour les patients de 0 à 18 ans, de 19 à 30 ans, de 31 à 50 ans et de plus de 50 ans. Les analyses statistiques suggèrent que l'âge ne semble pas influencer de manière significative la prévalence des infections urinaires au CHR de Daloa. Cela contraste avec les données des États-Unis, où la prévalence des infections urinaires augmente avec l'âge, en particulier chez les femmes (Foxman, 2002 ; Colgan *et al.*, 2006). En ce qui concerne les microorganismes impliqués, *Escherichia coli* était l'agent le plus

fréquent dans toutes les tranches d'âge, avec une prévalence plus élevée chez les patients de plus de 50 ans. Cette prédominance peut être attribuée à des facteurs spécifiques, notamment les adhésines bactériennes qui facilitent la liaison à l'épithélium urinaire (Alvarez *et al.*, 1992 ; Larabi *et al.*, 2003). Cependant, d'autres microorganismes tels que *Candida sp.*, *Enterobacter sp.* et *Yersinia sp.* étaient principalement associés aux infections urinaires chez les femmes, tandis que *Hafnia sp.*, *Citrobacter sp.*, *Levinea sp.* et *Morganella morganii* étaient davantage présents chez les hommes.

CONCLUSION ET APPLICATION DES RESULTATS

En conclusion, cette étude a révélé que la prévalence globale des infections urinaires sur la période de 2019 à 2022 à Daloa était de 16,25 %, avec des taux de 7,33% chez les femmes et de 8,92 % chez les hommes. *Escherichia coli* était l'agent pathogène prédominant dans toutes les tranches d'âge, avec une fréquence d'isolement plus élevée chez les patients de plus de 50 ans. Cette recherche fournit une base importante pour la compréhension de l'incidence ainsi que les pathogènes impliquées dans les infections urinaires dans la région du Haut-Sassandra. Elle met en évidence la nécessité de continuer

à surveiller ces infections pour une meilleure prise en charge clinique. Ceci étant les autorités sanitaires doivent utiliser ces résultats pour initier des campagnes de sensibilisation des populations sur les facteurs de risque associés à cette affection dans la région du Haut-Sassandra afin de réduire les risques de contaminations. Il est donc crucial d'associer aux techniques de microbiologies classiques appliquées dans les laboratoires les techniques de séquençages nouvelles générations pour une meilleure identification des pathogènes impliquées dans ces affections afin de mieux poser le diagnostic.

RÉFÉRENCES

- Akoachere J-F T K, Suylika Y, Akum N H and Esemu N S., 2012. Etiologic profile and antimicrobial susceptibility of community-acquired urinary tract infection in two *Cameroonian town BMC Research Notes* 5 : 219.
- Almutawif Y A et Eid H M A., 2023. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of bacterial uropathogens among adult patients in Madinah, Saudi Arabia. *BMC Infectious Diseases* 23 : 582.
- Alvarez C, Pangon B, Allouch P Y, Ghnassia J C., 1992. Infections urinaires : Principaux aspects épidémiologiques, bactériologiques et cliniques. *Feuill Biol* 23 :15-24.
- Amine I L, Chegri M, Kassmi H L., 2009. Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismail de Meknès Antibiotique 11 : 90-96.

- Colgan R, Nicolle L E, McGlone A, Hooton T M., 2006. Asymptomatic bacteriuria in adults. *Women Older 70 Years* 3 : 15–0.
- Diallo M B, Camar A, Ba O D, Condé M, Souma A M, Baldé F B, Kourouma S, Bavogui J S., 2022. Prévalence et facteurs de risque des infections associées aux soins dans trois hôpitaux nationaux de la ville de Conakry. Guinée. *Revue internationale des sciences médicales Abidjan -RISM* 24(2) :175-183.
- Diarra L, Diarra S, Sangaré A, Diepkile A, Sanogo A, Marico M, Doumbia S, Bagayoko M, Dembélé D, Doumbia T, Dissa M, Ouologuem I, Coulibaly S., 2022. Profil Épidémiologique et Bactériologique des Infections du Tractus Urinaire au Laboratoire de Biologie Médicale de l'Hôpital de Sikasso. *Health Sci. Dis*, 23 (12) : 65-68.
- Foxman B., 2002. Epidemiology of urinary tract infections:incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med*. 2002, 113 (1) :5–13.
- Fries D., 1992. Infections du tractus urinaire et pyélonéphrite. In *maladies rénales : Hermann, Editeurs des sciences et des Arts Ed. Paris* 1992 : 123-145.
- Hooton TM ; 2012. Uncomplicated urinary tract infection. *New England Journal of Medicine* 366 (11) : 1028–1037.
- Kamara I, Packo S C, Yao N A, N'dathz C, Gbadi D, Tadibé D O, Bognini S, Kouassi K G, Sanogo I, Edoh V., 2017. Profil des infections urinaires bactériennes chez les drépanocytaires au service d'Hématologie du CHU de Treichville (Abidjan – Côte d'Ivoire). *Série D* 3(2) : 41-44.
- Kouassi-M'bengue A, Folquet-Amorissani M Nassirou F, Guessennd-Kouadio, N Kacou-N'Douba A, Houenou Y, Dosso M., 2008. Les infections urinaires néonatales à Abidjan : problématique de la résistance bactérienne. *Mali Médical* 23 (1) : 34-37.
- Islam MA, Islam MR, Khan R, Amin MB, Rahman M, Hossain M I., 2022. Prevalence, etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in Dhaka, Bangladesh. *PLoS ONE* 17(9) : 0274423.
- Jardin A., 1986. Les Cystites. *Revue du Praticien*, 36 15 : 2957 – 60.
- Larabi K, Masmoudi A, Fendri C., 2003. Étude bactériologique et phénotypes de résistance des pathogènes responsables d'infections urinaires dans un centre hospitalo-universitaire de Tunis : à propos de 1930 cas. *Médecine et Maladie Infectieuse* 33 : 348-52.
- Lugtenberg M, Burgers J S, Zegers-van Schaick J M, Westert G P., 2010. Guidelines on uncomplicated urinary tract infections are difficult to follow : perceived barriers and suggested interventions. *BMC Family Practice* 11(1) :1.
- Mengistu D A, Alemu A, Abdukadir A A, Husen A M, Ahmed F, Mohammed B., 2023. Incidence of Urinary Tract Infection Among Patients : Systematic Review and Meta-Analysis *The Journal of Health Care Organization, Provision, and Financing* 60 : 1–12.
- Ngong I N, Fru-Cho J, Yung M A, and Akoachere J-F K T, 2021. *BMC Pregnancy Childbirth* 21 : 673.
- Schappert S, Burt C., 2006. Ambulatory Care Visits to Physician Offices, Hospital Outpatient Departments, and Emergency Departments: United States, 2001-02. *Vital Health* 13 (159) :1-66.
- Schmiemann G, Kniehl E, Gebhardt K, Matejczyk M M, Hummers-Pradier E., 2010. The Diagnosis of Urinary Tract Infection. *Dtsch Arztebl International* 107 (21) : 36 1-7.

- Emiru T, Beyene G, Tsegaye W and Melaku S., 2013. Associated risk factors of urinary tract infection among pregnant women at Felege Hiwot Referral Hospital, Bahir Dar, North West Ethiopia *BMC Research Notes* 2013, 6:292
- Storme O, Saucedo JT, Garcia-Mora A, Dehesa-Dávila M and Naber K G., 2019. Risk factors and predisposing conditions for urinary tract infection. *Ther Adv Urol* 2019, Vol. 11: 19–28.

Research Article

Priestia flexa as a Novel Urinary Tract Pathogen in Daloa, Côte d'Ivoire: Insights From Genomic Sequencing

Dého Aristide Gbégbé^{ID},¹ Okran Beyosse Christophe Kacou^{ID},¹ N'goran Parfait N'zi^{ID},^{1,2} and Djédoux Maxime Angaman^{ID}¹

¹Department of Biochemistry-Microbiology, Jean Lorougnon Guédé University, Daloa, Côte d'Ivoire

²Department of Bacteriology-Virology, National Reference Center for Antibiotics, Institut Pasteur, Abidjan, Côte d'Ivoire

Correspondence should be addressed to Djédoux Maxime Angaman; angaman@ujlg.edu.ci

Received 7 May 2024; Accepted 13 July 2024

Academic Editor: Ferenc Olasz

Copyright © 2024 Dého Aristide Gbégbé et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Bacterial strains coded 21LM367, 21LM07, and 21LM1136 were isolated from the urine of patients with urinary tract infections (UTIs) at the Centre Hospitalier Régional de Daloa in Côte d'Ivoire. Based on average nucleotide identity (ANI) analysis, DNA-DNA digital hybridisation (dDDH), and other comparative genomic methods, strains 21LM07, 21LM367, and 21LM1136 were determined to be *Priestia flexa*. The size of the assembled complete genomes ranged from 8,624,538 to 4,007,501 bp. The average GC content was 37.76%, 46.33%, and 43.03% for strains 21LM07, 21LM367, and 21LM1136, respectively. The total number of coding regions (CDS) in each genome was 4172, 8497, and 6795, respectively, for strains 21LM07, 21LM367, and 21LM1136. Genomic prediction analysis revealed that a total of 4241, 8583, and 6881 genes were annotated in the 21LM07, 21LM367, and 21LM1136 genomes, respectively. No virulence or resistance genes were predicted in the genomes of strains 21LM07 and 21LM1136. On the other hand, two genes conferring resistance to beta-lactam and tetracyclines as well as nine virulence genes were predicted in the genome of 21LM367. In addition, 438, 350, and 153 mobile genetic elements (MGEs) were predicted in the genomes of strains 21LM367, 21LM1136, and 21LM07, respectively. Strain 21LM07 was characterised by the absence of plasmids in its genome. Two plasmids were predicted in the genomes of isolates 21LM367 and 21LM1136; however, rep7a and IncI2 were predicted to contain the tet(K) resistance gene. No typical multilocus sequences could be characterised in the genomes of the different strains.

Keywords: antibiotic resistance; comparative genomics; Côte d'Ivoire; genomic sequencing; *Priestia flexa*; urinary tract infections; virulence factor

1. Introduction

Urinary tract infections (UTIs) are characterised by abnormal proliferation of micro-organisms in the urinary tract and affect any part of the urinary system, including the bladder, kidneys, urethra, or ureters [1, 2]. UTIs manifest as pain or burning on urination, increased frequency of urination, cloudy or foul-smelling urine, and sometimes fever or back pain [3]. These conditions play a major role in nephrological pathology because of their frequency in women and men of all ages. They affect around 405 million people worldwide, causing 0.23 million deaths and costing more than \$6 billion

in treatment and lost productivity each year, with drastic consequences such as kidney failure [4–7]. The micro-organisms that cause UTIs are varied, with significant changes from 1 year to the next and differences between countries and regions [8]. However, most UTIs are caused by bacteria, the most common of which are members of the Enterobacteriaceae family, led by uropathogenic *Escherichia coli*, which is responsible for around 80% of uncomplicated UTIs, 95% of nosocomial infections, and half of all hospital-acquired infections [9–12]. In Côte d'Ivoire, as in most developing countries, the diagnosis of UTIs is essentially based on urine cytobacteriological examination (UCT). However, interpretation of the

results of the UBEC is often fraught with inconsistencies and difficulties, leading to diagnostic errors and inappropriate antibiotic prescriptions [13]. These errors lead to false positives and false negatives. False negatives result in undertreatment of UTIs, which can lead to severe sepsis and renal sequelae, while false positives lead to a lack of awareness of the true diagnosis, increased costs of managing UTIs, and exposure of patients to the side effects of antibiotics [14]. Excessive use of antibiotics for suspected UTIs has a significant impact on bacterial ecology, leading to an increase in bacterial resistance [15, 16]. However, the epidemiology and microbial ecology of UTIs in Côte d'Ivoire remain underexplored. Several factors such as local climate, healthcare practices, and antibiotic use patterns may contribute to a particular microbial environment, potentially harboring bacterial strains with distinct characteristics. Studying these local bacterial populations is crucial to developing strategies for diagnosing, treating, and preventing these conditions in the country. In addition, understanding the genetic make-up and resistance profiles of these strains can provide insight into the wider mechanisms of bacterial adaptation and antibiotic resistance. The main objective of this study is to identify and characterise new bacterial strains implicated in UTIs in Côte d'Ivoire. This research is aimed at elucidating the genetic traits of bacterial isolates implicated in UTIs, in particular their antibiotic resistance and virulence factors, using advanced molecular techniques such as next-generation sequencing (NGS) and comprehensive bioinformatics tools. NGS technologies enable a more thorough and efficient exploration of the genome, although they raise challenges in terms of access and study [17]. These advances have major implications in various fields, including medicine, biology, and genetic research, providing a more precise understanding of the genetic basis of diseases and opening the way to new therapeutic approaches. Today, genomic typing approaches based on the sequencing of complete genomes provide very high resolution, notably with core genome multilocus sequence typing (MLST), whole genome MLST, and, above all, SNP-based phylogeny. In so doing, this study is aimed at contributing to a global understanding of bacterial diversity in UTIs and the evolutionary landscape of antibiotic resistance.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design. A comprehensive genome-wide comparison was conducted on three bacterial isolates (21LM07, 21LM1136, and 21LM367) obtained from patients with UTIs at the Daloa Regional Hospital. These isolates, collected in 2021, were identified as Gram-positive bacilli and have been preserved in the Bacteriology-Virology Laboratory at the Daloa Regional Hospital. Genomic sequencing and subsequent analysis were performed to thoroughly characterise their genomic profiles and assess their potential pathogenicity and resistance mechanisms.

2.2. DNA Extraction. Genomic DNA (gDNA) was extracted from bacterial samples using the cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) method [18]. Initially, the inoculated broth, cultured for 18–24 h, was centrifuged at 10,000 rpm

for 5 min to pellet the cells. The supernatant was discarded, and the pellet resuspended in 1.5 mL of CTAB lysis buffer (CTAB1; pH 8.0) containing 20 g/L CTAB, 1.4 M NaCl, 0.1 M Tris, and 0.02 M Na-EDTA. Subsequently, 5 μ L of 20 mg/mL RNase was added, and the mixture was homogenized using a vortex mixer. The homogenate was incubated at 60°C ($\pm$ 2) for 30 min, with intermittent shaking after 15 min to ensure resuspension. After this initial incubation, 10 μ L of 20 mg/mL proteinase K was added and the mixture was vortexed again. A second incubation at 60°C ($\pm$ 2) for another 30 min included stirring after 15 min to resuspend the contents. Postincubation, the homogenate was centrifuged at 15,000 g for 10 min. A 900 μ L aliquot of the supernatant was transferred to a new tube, mixed with an equal volume of chloroform, and vortexed. After centrifugation at 15,000 g for 15 min, 650 μ L of the clear supernatant was transferred to a new tube and mixed with 1300 μ L of precipitation buffer (CTAB2; 5 g/L CTAB and 0.04 M NaCl). The mixture was incubated at room temperature for 1 h and centrifuged at 15,000 g for 15 min. The supernatant was discarded, and the pellet was resuspended in CTAB3 buffer (NaCl) and 700 μ L of chloroform. This was homogenized for 30 s and centrifuged at 15,000 g for 10 min. Subsequently, 600 μ L of the aqueous phase was mixed with 360 μ L of cold isopropanol (-20°C) and inverted several times. After a 20-min incubation at room temperature, the sample was centrifuged at 15,000 g for 15 min to pellet the DNA. The supernatant was removed, and the DNA pellet was washed with 500 μ L of 70% ethanol, gently inverting the tube several times before another centrifugation at 15,000 g for 10 min. The supernatant was discarded, and the DNA was dried in an oven at 55°C for 30 min to evaporate residual ethanol. The DNA was then rehydrated to a concentration of 50 ng/ μ L in PCR-grade water for subsequent sequencing analysis.

2.3. Genome Sequencing and Assembly. The bacterial genomes were sequenced using Illumina's NextSeq platform. DNA libraries for NGS were prepared using the ZymoBIO-MICS DNA Kit from Zymo Research. Quality of extracted DNA was assessed with a NanoDrop One9+ spectrophotometer. The gDNA samples underwent fragmentation via an enzymatic method provided in the NEBNext® Ultra™ II FS DNA Library Preparation Kit for Illumina systems. Resulting DNA fragments were purified using AMPure XP beads and underwent end-repair processes. Subsequently, Illumina-specific adaptor sequences were ligated to the fragments. Postligation, the DNA fragments were quantified and individually indexed, followed by a secondary size-selection step using AMPure XP beads to ensure library uniformity. Library quality was verified on an Agilent TapeStation system using a DNA chip. Sequencing was performed on the NextSeq platform utilizing a NextSeq 300-cycle kit. Postsequencing, the raw reads were subjected to quality control, including adapter trimming and filtering, using the Fastp tool (Version 0.23.4 + galaxy0) within the Galaxy Europe framework [19]. De novo assembly of the filtered raw reads was conducted using the Unicycler tool (Galaxy Version 0.5.0 + galaxy1), with all parameters set to default [20]. The quality and integrity of the assembled genomes were evaluated using

were considered confirmed, ensuring high confidence in the identification of virulence factors.

2.6. Prediction of Mobile Genetic Elements (MGEs). The identification of plasmids within the genomes of the bacterial isolates was conducted using PlasmidSPAdes [32]. Following this, plasmid contigs were selectively filtered to isolate relevant sequences. These sequences were then annotated with Prokka to detail specific genetic features and potential functions.

To ascertain the presence of antibiotic resistance genes and virulence factors within the plasmid sequences, the Abricate tool was employed, utilizing the ResFinder and VFDB databases for comprehensive gene prediction. This step is crucial for understanding the accessory genetic content that could contribute to the pathogenicity and resistance profiles of the isolates.

Alien Hunter [33] was utilized to predict regions within the genomes that may have been acquired through horizontal gene transfer. This analysis helps in identifying genetic segments that contribute to rapid evolutionary changes and adaptation in bacterial genomes.

The presence of prophage regions within the genome sequences was detected using the PHAge Search Tool Enhanced Release (PHASTER) database [34]. Identifying these regions is essential for understanding the lysogenic potential of the bacterial isolates and their role in horizontal gene transfer.

The broader scope of MGEs, beyond plasmids and prophages, was explored using mobileOG-db [35]. This database provided insights into various other types of mobile elements that could influence genome plasticity and the evolutionary capabilities of the isolates.

2.7. *MLST*. Molecular typing of strains using *MLST* is a standardised and discriminating technique, applied in epidemiological or phylogenetic studies. It is used to characterise the genetic relationships between bacterial strains. This technique makes it possible to compare the sequences of genes coding for metabolic enzymes in order to establish a clonal relationship between different strains. The *MLST* techniques developed are based on the analysis, by nucleotide sequencing, of the polymorphism of seven household genes conserved throughout the evolution of bacterial strains. By aligning the sequences at a given locus, it is possible to identify alleles that differ from one another as a result of mutations and/or recombination for each bacterial strain. The combination of alleles obtained from each selected locus is used to define a standard sequence (ST), representing a multilocus genotype. *MLST* was carried out by uploading the FASTA files to the p*MLST* tool. Household genes and type sequences were characterised using the p*MLST* tools [36].

The detection and characterisation of antibiotic resistance genes were performed using the Abricate tool, which queries the ResFinder database (Galaxy Version 1.0.1) with default settings [30]. This analysis is crucial for understanding the potential resistance mechanisms embedded within the bacterial genomes, facilitating insights into the therapeutic challenges posed by these isolates.

To identify virulence factor genes, the genomes were analyzed using the VFDB database [31]. This process involves the prediction and validation of genes associated with pathogenicity, which are crucial for assessing the virulence potential of the bacterial isolates. Only predicted genes with a similarity percentage between 97% and 100%

3. Results

3.1. Quantification of DNA Extracts. After extraction of the gDNA the various extracts were quantified using NanoDrop. The purity of DNA extracts from isolates 21LM1136,

21LM367, 21LM07 to 260/280 was estimated at 1.94, 1.72, and 1.79 with respective concentrations of 285.10 ng/ μ L and 173.60 ng/ μ L.

3.2. Assembly Statistics. Table 1 provides a detailed overview of the genome assembly statistics for the three bacterial isolates examined in this study. An analysis conducted using QUAST revealed variability in the GC content among the isolates, ranging from 37.7% to 46.3%. The total size of the sequenced genomes also showed significant variation, extending from 4.0 to 8.6 Mb. Notably, the genome of isolate 21LM367 was approximately twice the size of that of isolate 21LM07. Furthermore, when assessing genome assembly quality metrics such as the N50, isolate 21LM367 demonstrated the highest value, indicating a more contiguous assembly compared to the other isolates.

3.3. Taxonomic Assignment of Bacterial Isolates and Phylogenetic Analysis. The analysis of genome completeness and contamination, conducted using the CheckM tool, indicated high-quality assemblies with minimal heterogeneity. The genome of isolate 21LM07 showed no contamination and had a completeness of 99.43%. Isolates 21LM367 and 21LM1136 achieved completeness levels of 100% and 98.25%, respectively. However, the contamination metrics revealed that while 21LM367 had no detectable contaminants, 21LM1136 exhibited a contamination level of 76.67%. Taxonomic classification and phylogenetic relationships were established using comprehensive bioinformatics analyses. The three isolates—21LM07, 21LM367, and 21LM1136—were identified as members of the Bacillaceae family. Phylogenetic analysis of their complete genomes positioned these isolates within a clade closely related to *Priestia veravalensis* DSM28242T and *Priestia flexa* NBRC 15715, with similarity rates exceeding 98%. The GC content of the isolates varied from 37.7% to 46.3 mol%. Further differentiation using dDDH and ANI indicated high genomic similarity among the isolates. Specifically, dDDH values were around 99%, while ANI values were 97.28%, 97.89%, and 98.98% for isolates 21LM367, 21LM1136, and 21LM07, respectively, confirming them as strains of *Priestia flexa*. Comparison of whole genomes with reference genomes via the Kraken2 tool, based on the alignment of fragmented nucleotides, reinforced these findings. Fragmentation percentages for the isolates were 65.01% for 21LM367, 56.60% for 21LM1136, and 84.06% for 21LM07, further substantiating their classification as *Priestia flexa* strains. The resulting phylogenetic tree, illustrating the evolutionary relationships among these isolates and related species, is depicted in Figure 1.

3.4. Characteristics of Different Genomes. The comprehensive genome analysis conducted using the Prokka tool provided detailed annotations and revealed distinct genomic characteristics for each of the bacterial isolates.

The genome of isolate 21LM367 was found to be highly complex, containing a total of 8583 genes, of which 8497 were protein-coding sequences (CDS). Additionally, this isolate's genome includes 2 transfer-messenger RNAs (tmRNAs), 74 tRNAs, and 10 rRNAs. Two repeated regions

TABLE 1: Statistics of assembled genomes providing a detailed overview of the genome assembly metrics for the bacterial isolates 21LM07, 21LM1136, and 21LM367, including the number of contigs, total length, N50 values, and GC content.

Isolates	Metrics	Values
21LM07	# contigs	99
	# contigs (≥ 0 bp)	156
	# contigs (≥ 1000 bp)	91
	Largest contig	298,311
	Total length (bp)	4,007,501
	Total length (≥ 0 bp)	4,019,830
	Total length (≥ 1000 bp)	4,002,254
	N50	96,329
21LM1136	GC (%)	37.76
	# contigs	440
	# contigs (≥ 0 bp)	449
	# contigs (≥ 1000 bp)	435
	Largest contig	151,904
	Total length (bp)	6,712,893
	Total length (≥ 0 bp)	6,714,677
	Total length (≥ 1000 bp)	6,709,337
21LM367	N50	27,220
	GC (%)	44.03
	# contigs	212
	# contigs (≥ 0 bp)	279
	# contigs (≥ 1000 bp)	194
	Largest contig	1,700,642
	Total length (bp)	8,624,538
	Total length (≥ 0 bp)	8,638,832
	Total length (≥ 1000 bp)	8,612,201
	N50	129,253
	GC (%)	46.33

were also identified, highlighting a significant level of genomic organisation and potential regulatory complexities.

Annotation of the genome of isolate 21LM1136 revealed 6881 genes, with 6795 coding for proteins. This genome also harbors 1 tmRNA, 79 tRNAs, and 6 rRNAs, suggesting a slightly different transcriptional machinery compared to 21LM367, which may influence its physiological and pathogenic capabilities.

The smallest genome among the three, that of isolate 21LM07, comprises 4241 genes with 4172 protein-coding sequences. It contains 1 tmRNA, 66 tRNAs, and only 2 rRNAs, which might reflect its streamlined genomic structure tailored to specific environmental or host-related adaptations. The annotated genomes are shown in Figures 2, 3, and 4.

3.5. Prediction of Resistance and Virulence Genes of Bacterial Isolates. This analysis focused on the prediction of antibiotic resistance and virulence genes within the genomes of three *Priestia flexa* strains, based on data retrieved from the

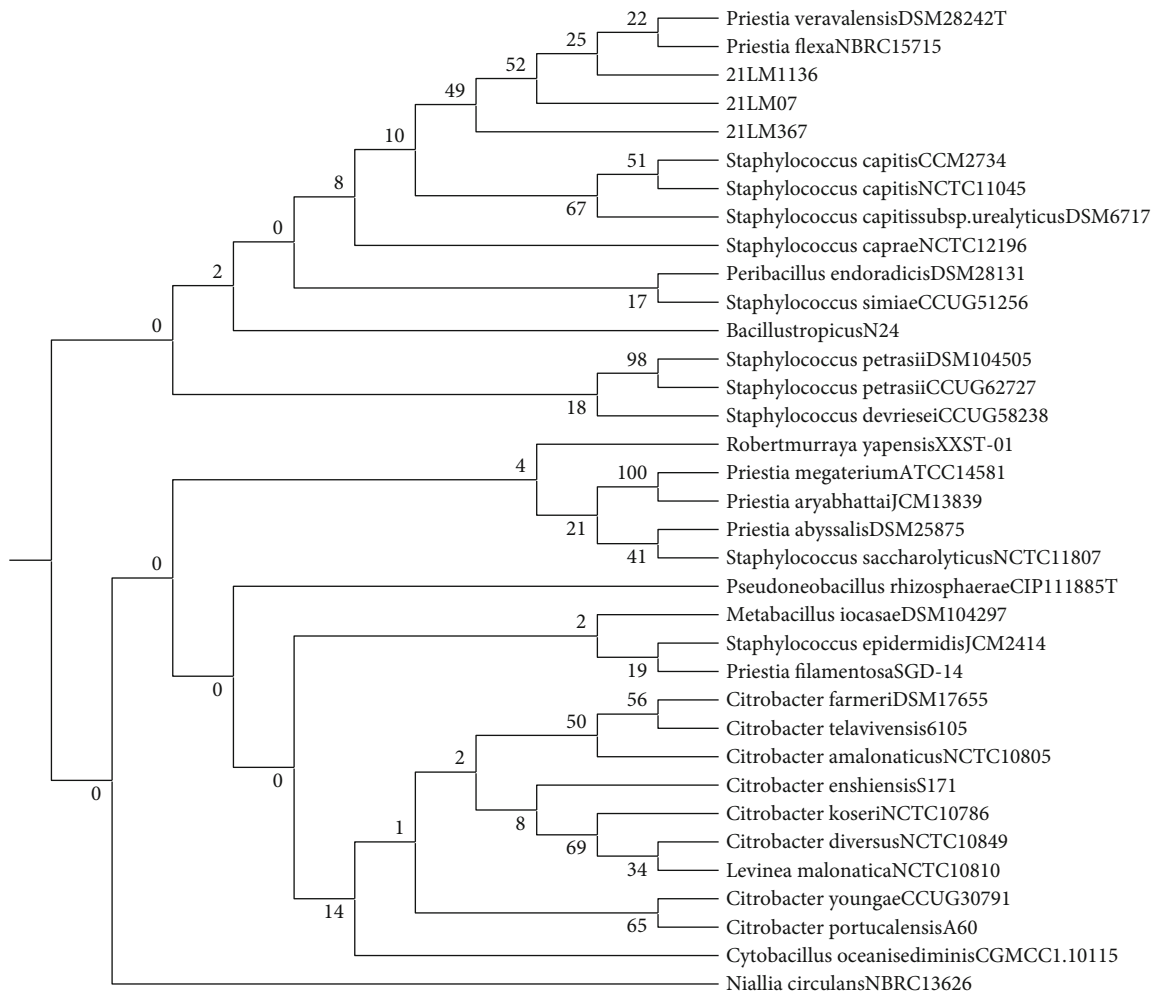


FIGURE 1: Phylogenetic tree of bacterial isolates showing the relationships between the bacterial isolates and related species, generated using MEGA 11 software.

ResFinder and VFDB databases. The criteria for inclusion required that the predicted genes exhibit a similarity percentage between 97% and 100%.

For strains coded 21LM1136 and 21LM07, no resistance or virulence genes were identified in the respective databases. In contrast, the genome of strain 21LM367 exhibited a notable presence of resistance genes. Specifically, two genes were identified:

- blaMAL-1_2 gene: Conferring resistance to beta-lactam antibiotics, this gene was found with a 100% coverage and 98.34% identity, registered under the accession number AJ609506.
- tet(K) gene: Associated with resistance to tetracycline, this gene also showed a 100% coverage and identity, cataloged under the accession number U38656.

Additionally, nine virulence factors were predicted in the genome of 21LM367, prominently including yersiniabactin. These findings are detailed in Table 2 and highlight the potential pathogenic capabilities of this particular strain.

3.6. Prediction of MGEs and Characterisation of Resistance Genes and Virulence Factors Linked to These Elements.

The characterisation of MGEs in the genomes of the three bacterial isolates was extensively analyzed and is summarized in Table 3.

The plasmidFinder tool was employed to detect plasmids within the genomes of isolates 21LM367 and 21LM1136, predicting the presence of IncI2 and rep7a plasmid sequences. In contrast, isolate 21LM07 was notable for the absence of any plasmid sequences.

Analysis using ResFinder identified the tet(K) gene, which confers resistance to tetracycline, in isolates 21LM367 and 21LM1136. This gene demonstrated 100% identity and coverage and was cataloged under the accession number U38656.

Unique among the isolates, 21LM1136 harbored the SenB gene on its plasmids, identified as an enterotoxin with 99.91% coverage and 98.59% identity, indicating a significant virulence potential linked to MGEs.

Analysis predicted significant horizontal gene transfer regions across the genomes, with isolate 21LM367 exhibiting 244 regions, isolate 21LM1136 with 202 regions, and isolate

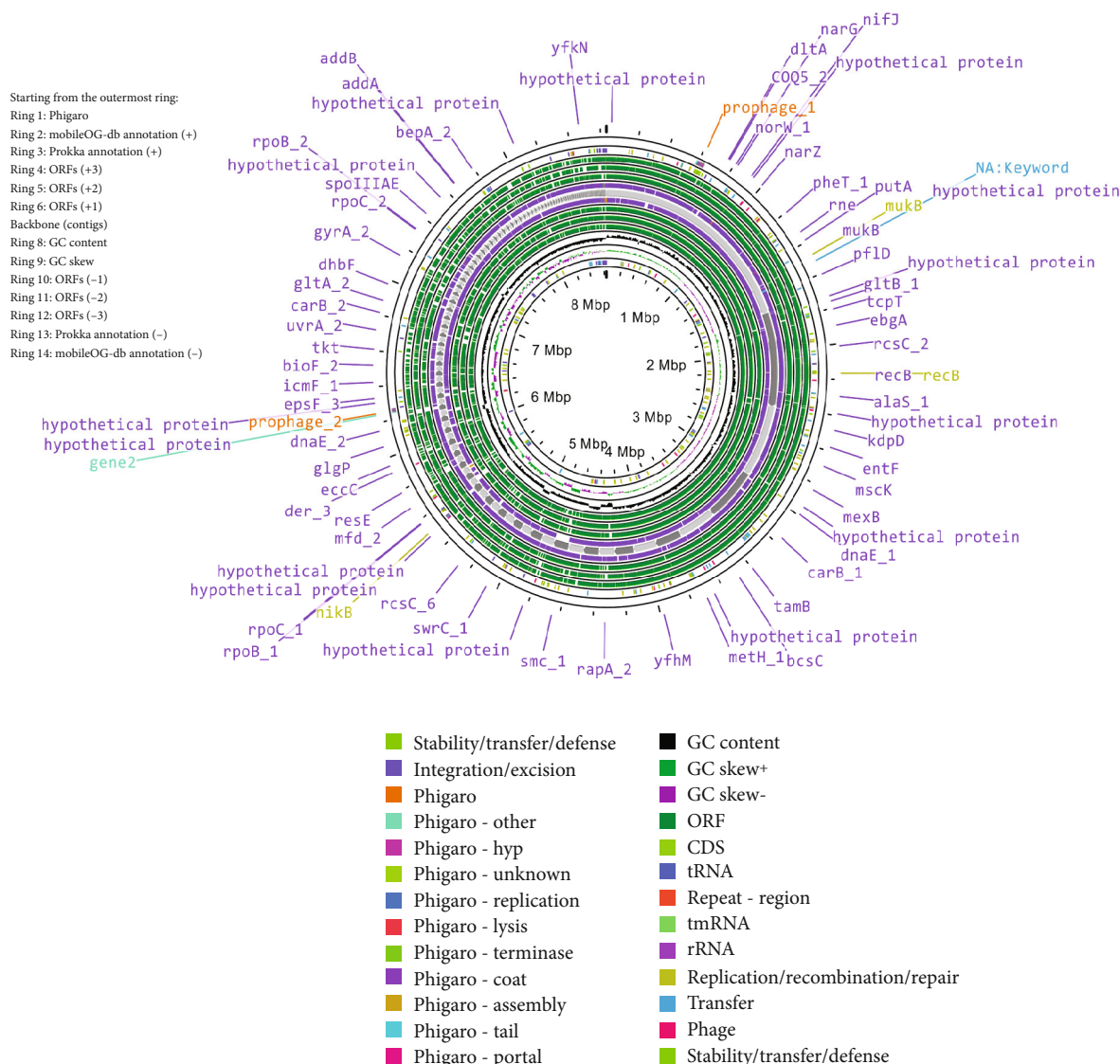


FIGURE 2: Genomic visualization of *Priestia flexa* isolate 21LM367, annotated using Proksee, highlighting annotations and mobile genetic elements.

21LM07 with 136 regions, highlighting the dynamic genomic architecture and potential for genetic exchange.

The genomic sequences of the isolates revealed the presence of prophage regions. Isolate 21LM367 contained one intact prophage region similar to PHAGE-Enteromorph-237-NC-019704. Isolates 21LM07 and 21LM1136 both exhibited one intact and one incomplete prophage region each, with the intact regions resembling PHAGE-Bacill-PM1-NC-020883 and the incomplete ones similar to PHAGE-Brevib-Sundance-NC-028749 and PHAGE-Geobac-E3-NC-029073, respectively.

A total of 438, 350, and 153 MGEs were predicted in the genomes of isolates 21LM367, 21LM1136, and 21LM07, respectively, illustrating a significant variation in the presence and type of mobile genetic content across the isolates.

3.7. MLST. The results of MLST in the genomes of the three isolates submitted for this study using the pMLST tool

revealed the absence of housekeeping genes in isolate 21LM07. MLST was also unable to reveal the type of sequence. MLST typing of the genome of isolates 21LM1136 and 21LM367 predicted the presence of seven housekeeping genes, namely, *aspC*(252), *clpX*(~281), *fadD*(293), *mdh*(256), *arcA*(107), *dnaG*(~230), and *lysP*(271).

4. Discussion

UTIs represent a crucial public health problem because of their drastic impact on the renal health of individuals [37]. Accurate identification of the microorganisms involved in these conditions in developing countries such as Côte d'Ivoire is therefore essential in order to guide the competent authorities towards effective patient management methods. Despite the usefulness of routine phenotypic or molecular typing methods, NGS offers extraordinary insight into the genomic organisation of the pathogens that cause epidemics.

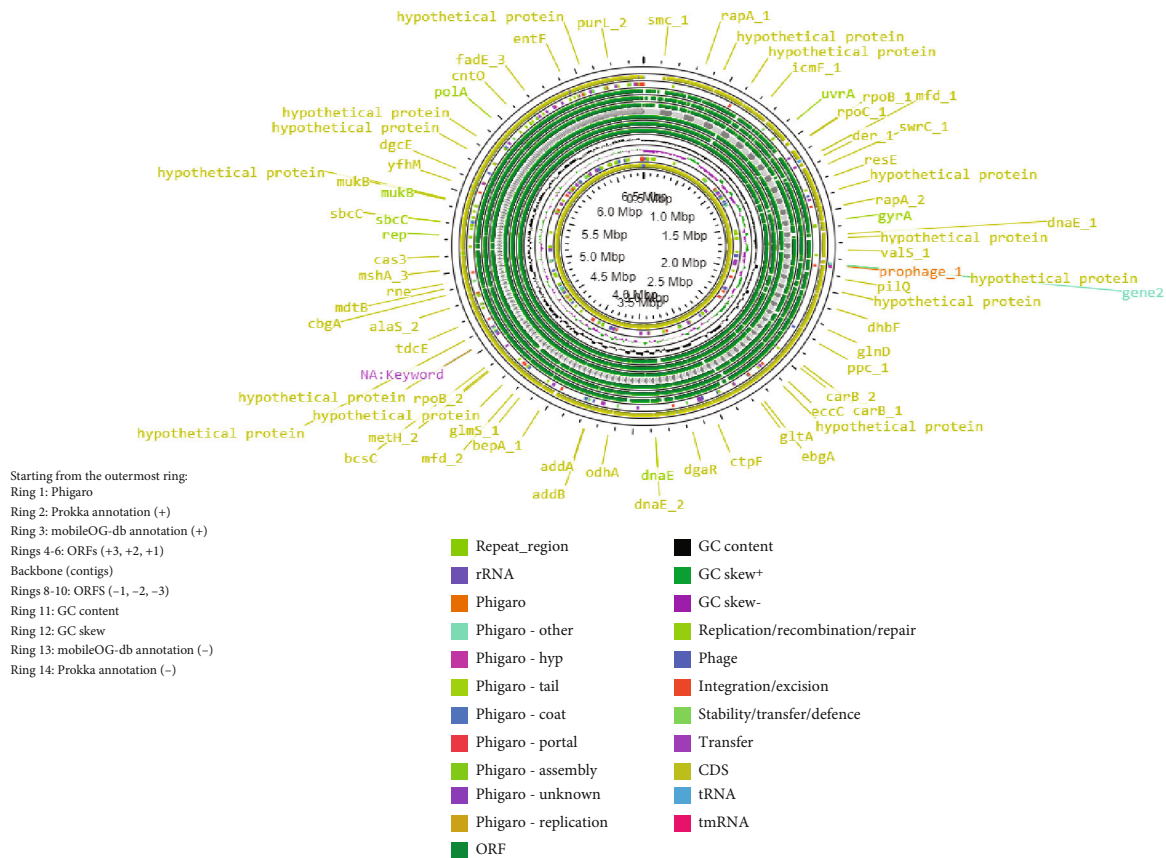


FIGURE 3: Genomic visualization of *Priestia flexa* isolate 21LM1136, annotated using Proksee, highlighting annotations and mobile genetic elements.

The data generated by genome sequencing can be used to track clinically important pathogens circulating in the population in the town of Daloa. However, studies based on these cutting-edge techniques and exploring the dynamic organisation of bacterial genomes are virtually nonexistent in Côte d'Ivoire. Therefore, the aim of this study was to characterise the strains involved in UTIs using their whole genome and to assess the distribution of their virulence gene, antibiotic resistance gene, and MGEs. On the basis of ANI analysis, dDDH, and other comparative genomics methods, it was determined that the strains 21LM07, 21LM367, and 21LM1136 submitted for study were *Priestia flexa*. This bacterium, *Priestia flexa*, is a Gram-positive halophytic bacillus and mangrove endophyte [38]. Prized for its biotechnological applications such as the development of bioplastics, the production of bioethanol, bioremediation of chromium-contaminated environments, and the amelioration of arsenic-related stress in the growth of *Oryza sativa* L, no study has yet revealed the involvement of *Priestia flexa* in UTIs [38–41]. However, recent research has isolated *Priestia flexa* from human faeces, suggesting that the human intestine could be a reservoir for this bacterium [42]. This discovery could explain its presence in UTIs in Daloa, through a potential transfer from the anal region to the bladder. Following analysis of the different genomes, variation in genetic content within the genomes was observed.

Prediction analysis showed a variation in GC content of between 37.7% and 46.3% and in genome size of between 4 and 8.6 Mb. This variability in genome size and GC content within the same species could be due to contamination of the sequences of isolates 21LM1136 and 21LM367 or to the increased presence of xenologous genes in these organisms. Annotation of the different genomes predicted that the genome of coded bacterial isolate 21LM367 contained 8583 genes and 8497 coding regions (CDS), two (2) repeat regions, 2 tmRNAs, 74 tRNAs, and 10 rRNAs. The genome of isolate 21LM1136 contained 6881 genes and 6795 CDS, 1 tmRNA, 79 tRNA, and 6 rRNA and two repeat regions. In contrast, the genome of isolate 21LM07 contained 4241 genes, 4172 CDS, 1 tmRNA, 66 tRNA, and 2 rRNA. The genomic characteristics of the *Priestia flexa* strains observed in this study are very different from those observed in the *Priestia* sp. strain isolated in Mexico [43]. The presence of different RNAs, the most abundant of which were tRNAs, shows the pathogenicity potential of the different bacterial isolates studied, as the development of an infection essentially depends on the coordinated and sequential expression of a multitude of virulence factors and accessory genes. This coordination is ensured by an extremely complex regulatory network made up of protein factors as well as regulatory RNAs [44]. The presence of repeated sequences in the genomes of isolates 21LM367 and 21LM1136 is thought to be



FIGURE 4: Genomic visualization of *Priestia flexa* isolate 21LM07, annotated using Proksee, highlighting annotations and mobile genetic elements.

TABLE 2: Virulence genes identified in the genome of *Priestia flexa* isolate 21LM367, including gene names, percentage identity, accession numbers, and the associated products.

Gene	%identity	Accession	Product
<i>fyuA</i>	98.57	NP_405467	(<i>fyuA</i>) pesticin/yersiniabactin receptor protein (yersiniabactin [VF0136]) (<i>Yersinia pestis</i> CO92)
<i>ybtE</i>	97.84	NP_405468	(<i>ybtE</i>) yersiniabactin siderophore biosynthetic protein (yersiniabactin [VF0136]) (<i>Yersinia pestis</i> CO92)
<i>ybtU</i>	99.36	NP_405470	(<i>ybtU</i>) yersiniabactin biosynthetic protein YbtU (yersiniabactin [VF0136]) (<i>Yersinia pestis</i> CO92)
<i>irp1</i>	98.59	NP_405471	(<i>irp1</i>) yersiniabactin biosynthetic protein Irp1 (yersiniabactin [VF0136]) (<i>Yersinia pestis</i> CO92)
<i>irp2</i>	98.84	NP_405472	(<i>irp2</i>) yersiniabactin biosynthetic protein Irp2 (yersiniabactin [VF0136]) (<i>Yersinia pestis</i> CO92)
<i>ybtA</i>	99.27	NP_405473	(<i>ybtA</i>) transcriptional regulator YbtA (yersiniabactin [VF0136]) (<i>Yersinia pestis</i> CO92)
<i>ybtP</i>	98.67	NP_405474	(<i>ybtP</i>) lipoprotein inner membrane ABC-transporter (yersiniabactin [VF0136]) (<i>Yersinia pestis</i> CO92)
<i>ybtQ</i>	98.22	NP_405475	(<i>ybtQ</i>) inner membrane ABC-transporter YbtQ (yersiniabactin [VF0136]) (<i>Yersinia pestis</i> CO92)
<i>ybtX</i>	98.36	NP_405476	(<i>ybtX</i>) putative signal transducer (yersiniabactin [VF0136]) (<i>Yersinia pestis</i> CO92)

due to their large size. The study revealed that a variation in the presence of antibiotic resistance genes was found between the genomes compared. No resistance or virulence genes were observed in the genome of strain 21LM07. Resistance

was acquired in strain 21LM1136. However, the combined action of intrinsic and acquired resistance was observed in strain 21LM367. This combination of intrinsic and acquired resistance observed in isolate 21LM367 would be a serious

TABLE 3: Mobile genetic elements found in the genomes of the bacterial isolates 21LM07, 21LM1136, and 21LM367, categorized by function such as integration/excision, replication/recombination/repair, phage, stability/transfer/defense, and transfer.

Isolates	Mobile genetic elements	Number
21LM07	Integration/excision	55
	Replication/recombination/repair	46
	Phage	25
	Stability/transfer/defense	08
	Transfer	19
	Plasmides	00
21LM1136	Integration/excision	55
	Replication/recombination/repair	133
	Phage	55
	Stability/transfer/defense	31
	Transfer	76
	Plasmides	02
21LM367	Integration/excision	76
	Replication/recombination/repair	163
	Phage	68
	Stability/transfer/defense	39
	Transfer	92
	Plasmides	02

obstacle to the treatment of infections caused by this bacterial strain. In addition, the blaMAL-1_2 and tet(K) genes conferred intrinsic resistance in strain 21LM367 to beta-lactams and tetracyclines. Overall, the acquired resistance observed in strains 21LM367 and 21LM1136 was mediated by the rep7a and IncI2 plasmids and characterised by the tet(K) gene. The pathogenicity of strain 21LM367 was conferred by 9 genes. The pathogenicity of this strain is thought to result from the concerted action of several virulence factors. Elsewhere in the world, data on the epidemiology of *Priestia flexa* resistance to antibiotics is scarce, given its low involvement in infections. Nevertheless, a recent study showed that a *Priestia flexa* isolate called *Priestia flexa* KS1 was resistant to cefixime, clavulanic acid/ceftazidime, nalaf-line, methicillin, trimethoprim, kanamycin, and nalidix antibiotics and degraded mucin under in vitro conditions and acclimatised better in the gastrointestinal environment [42]. However, the genes conferring resistance in *Priestia flexa* KS1 and their location were not elucidated by this study. Analysis of bacterial MGEs in genomic sequences is a critical step towards profiling the underlying causes of antibiotic resistance, phenotypic or metabolic diversity, and the evolution of bacterial genera. The prediction of MGEs in the sequences of the three strains in the study resulted in the recording of a total of 438, 350, and 153 MGEs in the sequences of 21LM367, 21LM1136, and 21LM1136, respectively. The results of this study show the presence of integron cassettes in association with islands of resistance, highlighting the dynamic nature of the genomes. Among these MGEs, the presence of phage regions was reported. In the genome of iso-

late 21LM367, only one intact phage region was predicted, and this region was similar to PHAGE-Entero-mEp237-NC-019704 (16). On the other hand, in the genomes of isolates 21LM07 and 21LM1136, the presence of one intact phage region and one incomplete phage region was demonstrated. The predicted intact phage regions were similar to PHAGE-Bacill-PM1-NC-020883 (12). The incomplete phage regions were similar to PHAGE-Brevib-Sundance-NC-028749(2) and PHAGE-Geobac-E3-NC-029073(2), respectively. The role of bacterial prophages in the transfer of resistance genes has been reported in several studies [45]. However, in this study, no resistance genes were predicted in these prophage regions. Nevertheless, further study is needed to analyze the potential of these prophage regions in the transfer of resistance genes and virulence in these strains. In the present study, the presence of plasmids, in particular the rep7a and IncI2 plasmids, was reported in the genomes of isolates 21LM1136 and 21LM367, associated with the putative tet(K) gene conferring resistance to doxycycline and tetracycline. The SenB (enterotoxin) gene was also predicted as a virulence factor linked to plasmids from isolate 21LM1136. This presence of plasmid-mediated resistance and virulence genes would be due to horizontal gene transfer. In order to establish the clonal relationships between the different strains of *Priestia flexa* involved in UTIs in the town of Daloa, the nucleotide sequence variation of seven housekeeping genes was determined. The MLST typing results predicted the presence of seven housekeeping genes, aspC(252), clpX(~281), fadD(293), mdh(256), arcA(107), dnaG(~230), and lysP(271), in the genomes of isolates 21LM1136 and 21LM367 and an absence of a housekeeping gene in the genome of isolate 21LM07, suggesting that isolate 21LM367 is related to isolate 21LM1136.

5. Conclusion

This study conclusively identified *Priestia flexa* in the urine of patients from the Centre Hospitalier Régional de Daloa, marking the first documented instance of this bacterium as a pathogen in UTIs in both Daloa and the broader Côte d'Ivoire region. This discovery underscores the critical role of advanced genomic sequencing techniques in uncovering the diversity of infectious agents involved in UTIs, enhancing our understanding of their epidemiology. The identification of *Priestia flexa* not only broadens the known spectrum of UTI pathogens but also provides a crucial foundation for further epidemiological studies in Daloa and across Côte d'Ivoire. The findings emphasize the necessity for ongoing surveillance and research to improve clinical management and outcomes of UTIs, highlighting the dynamic and complex nature of bacterial infections within the urinary tract.

Data Availability Statement

Genomic sequence data are deposited in NCBI Sequence Read Archive under the BioProject PRJNA1069903 and BioSample accession SAMN41213920.

Ethics Statement

This study utilized bacterial strains isolated from nonidentifiable biological products, ensuring that no direct patient identifiers were involved in the sample collection or analysis. Given the nature of these samples and their classification as nonidentifiable, informed consent was deemed not required. Nonetheless, all procedures were conducted in strict accordance with international standards for human dignity and research ethics. This research did not fall under the scope of the Ethical Principles for Research Involving Humans (EPTC 2), as it did not involve identifiable human subjects directly. Compliance with all applicable institutional and national ethical standards was maintained throughout the research process.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Author Contributions

D.M.A., D.A.G., and O.B.C.K. were responsible for the conception and the design. O.B.C.K., D.A.G., N.P.N., and D.M.A. were responsible for the analysis and interpretation of data. D.A.G. and O.B.C.K. were responsible for the drafting of the article. D.M.A. and N.P.N. were responsible for the critical revision for important intellectual content. D.M.A., N.P.N., O.B.C.K., and D.A.G. were responsible for the final approval of the version to be published. D.A.G. and O.B.C.K. contributed equally to this work.

Funding

The authors received no specific funding for this work.

References

- [1] K. Kalinderi, D. Delkos, M. Kalinderis, A. Athanasiadis, and I. Kalogiannidis, "Urinary tract infection during pregnancy: current concepts on a common multifaceted problem," *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, vol. 38, no. 4, pp. 448–453, 2018.
- [2] M. Bargoty, L. Kumar, P. Kachhap, P. Das, V. Sachdeva, and S. A. Bhattar, "A flow cytometric and cytochemistic analysis of urine to detect early urinary tract infection," *Annals of Pathology and Laboratory Medicine*, vol. 7, no. 1, pp. A7–12, 2020.
- [3] B. Foxman, "Epidemiology of urinary tract infections. Incidence, morbidity, and economic costs," *The American Journal of Medicine*, vol. 113, no. 1, pp. 5–13, 2002.
- [4] F. Wagenlehner, Z. Tandogdu, R. Bartoletti et al., "The global prevalence of infections in urology study: a long-term, worldwide surveillance study on urological infections," *Pathogens*, vol. 5, no. 1, p. 10, 2016.
- [5] M. A. Belete and M. Saravanan, "A systematic review on drug resistant urinary tract infection among pregnant women in developing countries in Africa and Asia; 2005–2016," *Infection and Drug Resistance*, vol. 13, pp. 1465–1477, 2020.
- [6] M. A. Islam, M. R. Islam, R. Khan et al., "Prevalence, etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in Dhaka, Bangladesh," *PLoS One*, vol. 17, no. 9, pp. 1–13, 2022.
- [7] A. Chemlal, F. A. Ismaili, I. Karimi et al., "Les infections urinaires chez les patients insuffisants rénaux chroniques hospitalisés au service de néphrologie: profil bactériologique et facteurs de risque," *Pan African Medical Journal*, vol. 20, p. 100, 2015.
- [8] P. Behzadi, E. Behzadi, and R. Ranjbar, "Urinary tract infections and *Candida albicans*," *Central European Journal of Urology*, vol. 68, no. 1, pp. 96–101, 2015.
- [9] A. L. Flores-Mireles, J. N. Walker, M. Caparon, and S. J. Hultgren, "Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options," *Nature Reviews Microbiology*, vol. 13, no. 5, pp. 269–284, 2015.
- [10] R. Kucheria, P. Dasgupta, S. Sacks, M. Khan, and N. Sheerin, "Urinary tract infections: new insights into a common problem," *Postgraduate Medical Journal*, vol. 81, no. 952, pp. 83–86, 2005.
- [11] B. K. Dhakal, R. R. Kulesus, and M. A. Mulvey, "Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic *Escherichia coli*," *European Journal of Clinical Investigation*, vol. 38, no. s2, pp. 2–11, 2008.
- [12] B. Foxman, "The epidemiology of urinary tract infection," *Nature Reviews Urology*, vol. 7, no. 12, pp. 653–660, 2010.
- [13] V. Leroy and P. Mariani-Kurkdjian, "Epidemiology and diagnosis of urinary tract infections," *Médecine Thérapeutique Pédiatrie*, vol. 7, no. 3, pp. 173–179, 2004.
- [14] R. L. Lammers, S. Gibson, D. Kovacs, W. Sears, and G. Strachan, "Comparison of test characteristics of urine dipstick and urinalysis at various test cutoff points," *Annals of Emergency Medicine*, vol. 38, no. 5, pp. 505–512, 2001.
- [15] E. A. L. Fenwick, A. H. Briggs, and C. I. Hawke, "Management of urinary tract infection in general practice: a cost-effectiveness analysis," *British Journal of General Practice*, vol. 50, pp. 635–639, 2000.
- [16] J. T. Freeman, D. J. Anderson, and D. J. Sexton, "Seasonal peaks in *Escherichia coli* infections: possible explanations and implications," *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 15, no. 10, pp. 951–953, 2009.
- [17] E. R. Mardis, "The impact of next-generation sequencing technology on genetics," *Trends in Genetics*, vol. 24, no. 3, pp. 133–141, 2008.
- [18] X. Huang, N. Duan, H. Xu, T. N. Xie, Y.-R. Xue, and C.-H. Liu, "DNA extraction from fungi with high polysaccharide content using CTAB-PEG," *Molecular Biology*, vol. 52, no. 4, pp. 718–726, 2018.
- [19] S. Chen, Y. Zhou, Y. Chen, and J. Gu, "Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ pre-processor," *Bioinformatics*, vol. 34, no. 17, pp. i884–i890, 2018.
- [20] R. R. Wick, L. M. Judd, C. L. Gorrie, and K. E. Holt, "Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads," *PLoS Computational Biology*, vol. 13, no. 6, article e1005595, 2017.
- [21] A. Mikheenko, A. Prjibelski, V. Saveliev, D. Antipov, and A. Gurevich, "Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG," *Bioinformatics*, vol. 34, no. 13, pp. i142–i150, 2018.
- [22] A. Gurevich, V. Saveliev, N. Vyahhi, and G. Tesler, "QUAST: quality assessment tool for genome assemblies," *Bioinformatics*, vol. 29, no. 8, pp. 1072–1075, 2013.
- [23] D. H. Parks, M. Imelfort, C. T. Skennerton, P. Hugenholtz, and G. W. Tyson, "CheckM: assessing the quality of microbial

- genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes," *Genome Research*, vol. 25, no. 7, pp. 1043–1055, 2015.
- [24] J. P. Meier-Kolthoff and M. Goker, "TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy," *Nature Communications*, vol. 10, no. 1, p. 2182, 2019.
- [25] M. Richter, R. Rossello-Mora, F. Oliver Glockner, and J. Peplies, "JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison," *Bioinformatics*, vol. 32, no. 6, pp. 929–931, 2016.
- [26] F. D. Orata, J. P. Meier-Kolthoff, D. Sauvageau, and L. Y. Stein, "Phylogenomic analysis of the Gammaproteobacterial methanotrophs (order Methylococcales) calls for the reclassification of members at the genus and species levels," *Frontiers in Microbiology*, vol. 9, p. 3162, 2018.
- [27] D. E. Wood and S. L. Salzberg, "Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments," *Genome Biology*, vol. 15, no. 3, p. R46, 2014.
- [28] J. R. Grant, E. Enns, E. Marinier et al., "Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes," *Nucleic Acids Research*, vol. 51, no. W1, pp. W484–W492, 2023.
- [29] T. Seemann, "Genome analysis Prokka: rapid prokaryotic genome annotation," *Bioinformatics*, vol. 30, no. 14, pp. 2068–2069, 2014.
- [30] V. Bortolaia, R. S. Kaas, E. Ruppe et al., "ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 75, no. 12, pp. 3491–3500, 2020.
- [31] B. Liu, D. Zheng, Q. Jin, L. Chen, and J. Yang, "VFDB 2019: a comparative pathogenomic platform with an interactive web interface," *Nucleic Acids Research*, vol. 47, no. D1, pp. D687–D692, 2019.
- [32] D. Antipov, N. Hartwick, M. Shen, M. Raiko, A. Lapidus, and P. A. Pevzner, "PlasmidSPAdes: assembling plasmids from whole genome sequencing data," *Bioinformatics*, vol. 32, no. 22, pp. 3380–3387, 2016.
- [33] G. S. Vernikos and J. Parkhill, "Interpolated variable order motifs for identification of horizontally acquired DNA: revisiting the Salmonella pathogenicity islands," *Bioinformatics*, vol. 22, no. 18, pp. 2196–2203, 2006.
- [34] D. Arndt, A. Marcu, Y. Liang, and D. S. Wishart, "PHAST, PHASTER and PHASTEST: tools for finding prophage in bacterial genomes," *Briefings in Bioinformatics*, vol. 20, no. 4, pp. 1560–1567, 2019.
- [35] C. L. Brown, J. Mullet, F. Hindi et al., "mobileOG-db: a manually curated database of protein families mediating the life cycle of bacterial mobile genetic elements," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 88, no. 18, article e0099122, 2022.
- [36] A. Carattoli, E. Zankari, A. Garcia-Fernandez et al., "In silico detection and typing of plasmids using plasmidfinder and plasmid multilocus sequence typing," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 58, no. 7, pp. 3895–3903, 2014.
- [37] A. Kouassi-M'bengue, M. Folquet-Amorissani, F. Nassirou et al., "Neonatal urinary tract infections in Abidjan: the problem of bacterial resistance," *Mali Médical*, vol. 23, no. 1, pp. 34–37, 2008.
- [38] N. Chathalingath, J. S. Kingsly, and A. Gunasekar, "Biosynthesis and biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate) from *Priestia flexa*: A promising mangrove halophyte towards the development of sustainable eco-friendly bioplastics," *Microbiological Research*, vol. 267, article 127270, 2023.
- [39] A. Shukla, A. Gupta, and S. Srivastava, "A bacterial consortium (*Priestia endophytica* NDAS01F, *Bacillus licheniformis* NDSA24R, and *Priestia flexa* NDAS28R) and thiourea improved arsenic stress tolerance and enhanced the growth of *Oryza sativa* L.," *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 195, pp. 14–24, 2023.
- [40] D. S. UbiIcône, M. G. E. Icône, E. J. Ikharja, E. A. Akwagiobe, A. D. Asitok, and S. P. Antai, "Production, characterization, and bio-ethanologenic potential of a novel tripartite raw starch-digesting amylase from *Priestia flexa* UCCM 00132," *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, vol. 54, no. 5, pp. 597–611, 2024.
- [41] P. Ravishankar, M. Srinivas Ravi, K. Bharathi, S. K. Subramanian, S. K. Asiedu, and D. Selvaraj, "Unlocking nature's toolbox: kinetin-producing *Priestia flexa* VL1 paves the way for efficient bioremediation of chromium-contaminated environments," *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 12, no. 2, article 112065, 2024.
- [42] G. Deswal, M. K. Selwal, H. Nirvan, and K. K. Selwal, "*Priestia flexa* KS1: a new bacterial strain isolated from human faeces implicated in mucin degradation," *International Microbiology*, vol. 26, no. 3, pp. 475–486, 2023.
- [43] M. E. Ortega-Urquieta, V. Valenzuela-Ruiz, D. Mitra et al., "Draft genome sequence of *Priestia* sp. strain TSO9, a plant growth-promoting bacterium associated with wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) in the Yaqui Valley, Mexico," *Plants*, vol. 11, no. 17, p. 2231, 2022.
- [44] C. Lays, C. Romilly, A. Tomasini et al., "L'ARN non codant RsaA favorise la persistance et atténue la virulence de *Staphylococcus aureus*," *Médecine Sciences*, vol. 30, no. 10, pp. 839–841, 2014.
- [45] J. Haaber, J. J. Leisner, M. T. Cohn et al., "Bacterial viruses enable their host to acquire antibiotic resistance genes from neighbouring cells," *Nature Communications*, vol. 7, no. 1, pp. 1–8, 2016.

Résumé

Les infections des voies urinaires (IVU) sont un problème majeur de santé publique, affectant environ 405 millions de personnes et causant 0,23 million de décès annuellement dans le monde. Cependant, l'incidence de ces infections en Côte d'Ivoire reste peu documentée. Dans un contexte où les IVU sont endémiques et les diagnostics précis sont difficiles, cette étude rétrospective et observationnelle, réalisée de janvier 2019 à décembre 2022 à Daloa, vise à évaluer la Prévalence des IVU et à contribuer à la surveillance épidémiologique. Utilisant des données épidémiologiques issues des registres de routine du Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHR de Daloa, cette recherche intègre les techniques de séquençage de Sanger et de nouvelle génération et des analyses bio-informatiques pour l'identification des isolats et la prospection des génomes. Le taux de suspicion des IVU était 30,30 % et la majorité des personnes suspectées avait l'âge compris entre 20 et 30 ans. L'incidence globale des IVU était de 13,75 %, et les incidences annuelles varient entre 11,94 % et 17,22 %. Les IVU étaient majoritairement causées par *Escherichia coli* (72,60%). Les entérobactéries étaient plus sensibles à l'amikacine (11,2 %) et à l'imipénème (1,1 %). La prévalence des entérobactéries productrices de BLSE était de 15,08 % avec une prédominance de *Escherichia coli* (81,48 %). L'analyse des séquences des ADNr 16S a permis de mettre évidence le genre de 75 %, le genre et l'espèce de 17,85 % des isolats, mais n'a pas pu caractériser le genre ni l'espèce de 7,15 % des isolats bactériens. Par ailleurs, l'utilisation du NGS incluant les approches bio-informatiques a permis d'identifier 5 isolats et d'analyser leur contenu. Les isolats identifiés incluaient 3 souches de *Priestia flexa*, 1 de *Enterobacter hormaechei* et 1 de *Staphylococcus saprophyticus*. Ces souches identifiées développaient à la fois des résistances intrinsèques et acquises à l'exception de *Priestia flexa* 21LM07. *Priestia flexa* 21LM367 s'est avéré la souche la plus virulente. La présence de plasmides, de phages, de cassettes d'intégrons en association avec des îlots de résistance a été enregistrée. L'isolat 20LM111 appartenait au clone ST114.

Mots clés : Infections des voies urinaires, séquençage de nouvelle génération, Prévalence, gènes de virulence, gènes de résistance.

Abstract

Urinary tract infections (UTIs) are a major public health problem, affecting approximately 405 million people and causing 0.23 million deaths annually worldwide. However, the incidence of these infections in Côte d'Ivoire remains poorly documented. In a context where UTIs are endemic and accurate diagnoses are difficult, this retrospective and observational study, carried out from January 2019 to December 2022 in Daloa, aims to assess the prevalence of UTIs and contribute to epidemiological surveillance. Using epidemiological data from routine registers of the Bacteriology-Virology Laboratory of the Daloa CHR, this research integrates Sanger and next-generation sequencing techniques and bioinformatics analyses for the identification of isolates and genome prospecting. The UTI suspicion rate was 30.30% and the majority of suspected people were between 20 and 30 years old. The overall incidence of UTIs was 13.75%, and the annual incidences varied between 11.94% and 17.22%. UTIs were mainly caused by *Escherichia coli* (72.60%). Enterobacteria were more sensitive to amikacin (11.2%) and imipenem (1.1%). The prevalence of ESBL-producing enterobacteria was 15.08% with a predominance of *Escherichia coli* (81.48%). Analysis of 16S rDNA sequences revealed the genus of 75%, the genus and species of 17.85% of isolates, but could not characterize the genus or species of 7.15% of bacterial isolates. Furthermore, the use of NGS including bioinformatics approaches allowed to identify 5 isolates and analyze their content. The identified isolates included 3 strains of *Priestia flexa*, 1 of *Enterobacter hormaechei* and 1 of *Staphylococcus saprophyticus*. These identified strains developed both intrinsic and acquired resistances with the exception of *Priestia flexa* 21LM07. *Priestia flexa* 21LM367 was the most virulent strain. The presence of plasmids, phages, integron cassettes in association with resistance islands was recorded. Isolate 20LM111 belonged to clone ST114.

Keywords: Urinary tract infections, next-generation sequencing, prevalence, virulence genes, resistance genes.