

Université du Québec
Institut National de la Recherche Scientifique
Institut Armand Frappier

**CARACTERISATION DE SOUCHES D'*ESCHERICHIA COLI*
PATHOGENES URINAIRES PROVENANT DE GUADELOUPE :
PORTRAIT DE LA DIVERSITE DES FACTEURS DE
VIRULENCE PRESENTS**

Par
Sékolène Maris

Mémoire présentée pour l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en Microbiologie Appliquée

Jury d'évaluation

Président du jury et
examineur interne

Maritza Jaramillo
INRS-Institut Armand Frappier

Examineur externe

Antoine Talarmin
Institut Pasteur de Guadeloupe

Directeur de recherche

Charles M. Dozois
INRS-Institut Armand Frappier

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord mon directeur de recherche le professeur Charles Dozois pour m'avoir fait confiance et m'avoir donné l'opportunité d'étudier dans son laboratoire et de découvrir le monde de la recherche.

Je remercie aussi Sébastien Houle pour son aide technique, sa patience et sa disponibilité tout au long des expériences de cette étude.

Je voudrais aussi exprimer ma gratitude à tous les membres du laboratoire y compris aux stagiaires Charline Herrscher et Noémie Fessy, pour l'aide qu'ils m'ont tous apportée tout au long de ma maîtrise ainsi que pour l'ambiance sympathique qu'ils ont créée au sein du laboratoire.

Je remercie également la province de Québec qui m'a permis de venir étudier ici.

Je remercie enfin ma famille qui m'a soutenue et encouragée dans mon projet et sans laquelle rien n'aurait été possible

RÉSUMÉ

Les *E. coli* uropathogènes (UPEC) sont responsables d'environ 80% des infections du tractus urinaire (ITUs). La diversité des souches d'UPEC ainsi que leurs facteurs de virulences peuvent varier selon la région géographique. Ces facteurs de virulence permettent à *E. coli* de coloniser le système urinaire.

Une évaluation de la diversité des facteurs de virulence présents parmi différentes souches, peut mener à la découverte de nouveaux clones infectieux associés à des régions géographiques spécifiques.

Comme aucune étude n'a auparavant documenté les souches UPEC provenant de la Guadeloupe, le but de notre étude a été d'effectuer un virotypage, grâce à des PCR multiplexes. Vingt-et-un facteurs de virulence ont été criblés, et le phénotype d'hémolyse sur gélose a été évalué. Le résultat du criblage de ces facteurs de virulence montre une présence importante de gènes codant des systèmes de sidérophores, mais aussi du « vacuolating autotransporter » (Vat) et des fimbriae P. On retrouve aussi un facteur de virulence spécifique aux *E. coli* pathogènes aviaires (APEC) : la « temperature-sensitive hemagglutinin » (Tsh), ainsi que des nouveaux facteurs de virulence précédemment découverts par notre laboratoire dans une souche APEC. Enfin, on a caractérisé de façon plus précise les souches infectant les hommes ainsi que le groupe phylogénétique récemment identifié : F.

Ces analyses nous ont permis de mieux caractériser les souches UPEC de la Guadeloupe. Ces données pourront permettre d'améliorer le diagnostic des souches UPEC et d'identifier des systèmes spécifiques qui pourront servir comme cible vaccinale ou thérapeutique contre les infections du tractus urinaire.

Mots clés : Infection du tractus urinaire; *Escherichia coli* uropathogénique; facteur de virulence; groupe phylogénétique; hémolyse.

ABSTRACT

Uropathogenic *E. coli* (UPEC) are responsible for 80 % of urinary tract infections (UTIs). The diversity of UPEC strains and their virulence factors can vary depending on the geographic area where they are found. UPEC strains can colonise the urinary system thanks to virulence factors.

To evaluate the diversity of virulence factors present among strains from clinical cases can lead to discovery of new infectious clones in specific geographic regions.

As no studies have previously documented the characterization of UPEC strains from Guadeloupe, the aim of our study was to perform virotyping, by multiplex PCR. Twenty-one virulence factor associated sequences were targeted. The hemolysis phenotype was also evaluated on agar plates. The results show a significant presence of sequences encoding siderophores, vacuolating autotransporter (Vat) and P-fimbriae. We also identified a virulence factor more specific to avian pathogenic *E. coli* (APEC): the temperature-sensitive hemagglutinin, Tsh, as well as new virulence factors recently discovered in our laboratory through sequencing of an APEC strain. Finally, we characterized more precisely the strains infecting men as well as the recently identified phylogenetic group: F.

These analyses allowed us to better characterise UPEC strains from Guadeloupe. This data will allow us to improve the diagnosis of UPEC strains and to identify specific systems which could be used as potential vaccine or therapeutic targets against urinary tract infections.

Keys words: Urinary tract infection; Uropathogenic *Escherichia coli*; virulence factors; phylogenetic group; hemolysis.

TABLE DES MATIÈRES

Table des matières

1	REVUE DE LITTERATURE	1
1.1	ESCHERICHIA COLI.....	1
1.1.1	<i>E. coli</i> pathogènes intestinaux.....	2
1.1.2	<i>E. coli</i> pathogènes extra-intestinaux	4
1.1.3	Risque zoonotique.....	5
1.1.4	Résistance aux antibiotiques.....	6
1.1.5	Les groupes phylogénétiques	7
1.2	LES FACTEURS DE VIRULENCE DES UPEC	8
1.2.1	Localisation.....	8
1.2.2	Fimbriae.....	9
1.2.3	Autotransporteurs.....	15
1.2.4	Hémolysine RTX (<i>HlyA</i>)	19
1.2.5	Sidérophores	22
2	PROBLEMATIQUE	29
3	MATERIELS ET METHODES	31
3.1	SOUCHES ETUDIEES	31
3.2	CARACTERISATION DES GROUPES PHYLOGENETIQUES.....	31
3.3	TEST D'HEMOLYSE.....	35
3.4	VIROTYPAGE	36
3.5	TESTS STATISTIQUES.....	41
3.5.1	<i>Khi 2</i> ou test de Fisher	41
3.5.2	Test de Student (ou test t).....	42
3.5.3	Test de corrélation de Pearson	42
4	RESULTATS	43
4.1	DISTRIBUTION DES INFECTIONS URINAIRES.....	43
4.2	DISTRIBUTION DES GROUPES PHYLOGENETIQUES.....	46
4.3	HEMOLYSE.....	49
4.4	VIROTYPAGE	51
4.4.1	Fimbriae.....	54
4.4.2	Autotransporteurs.....	58
4.4.3	Toxines.....	62

4.4.4	<i>Sidérophores</i>	64
4.4.5	<i>Profils de virotypages</i>	68
4.4.6	<i>Nombre de systèmes de virulence par groupe phylogénétique</i>	70
4.4.7	<i>Association de facteurs de virulence des souches associées aux infections chez les Hommes et chez les Femmes</i>	71
4.4.8	<i>Corrélation entre gènes</i>	79
4.4.9	<i>Groupe phylogénétique F</i>	80
5	DISCUSSION	85
5.1	DISTRIBUTION DES INFECTIONS	85
5.2	VIRULENCE	87
5.3	HOMMES	90
5.4	GROUPE PHYLOGENETIQUE F	91
6	CONCLUSION	93
7	REFERENCES	95

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 3.1 : SEQUENCES DES AMORCES UTILISEES ET TAILLES DES PRODUITS PCRS. (CLERMONT, CHRISTENSON ET AL. 2013)	32
TABLEAU 3.2 : SEQUENCES DES AMORCES UTILISEES ET TAILLES DES PRODUITS PCRS. (CLERMONT, CHRISTENSON ET AL. 2013)	34
TABLEAU 3.3 : SEQUENCES DES AMORCES UTILISEES ET TAILLES DES PRODUITS PCRS.....	36
TABLEAU 3.4 : EXEMPLE D'UN TABLEAU DE CONTINGENCE.....	42
TABLEAU 4.1 : TABLEAU DE CONTINGENCE REPRESENTANT LES PERSONNES INFECTEES AYANT SEJOURNEES OU NON A L'HOPITAL DANS LES 12 MOIS PRECEDANT L'INFECTION SELON LEUR SEXE.....	44
TABLEAU 4.2 : TABLEAU DE CONTINGENCE REPRESENTANT LES FEMMES MONTRANT OU NON DES SIGNES D'INFECTION SELON QU'ELLES SOIENT ENCEINTES OU NON.....	45
TABLEAU 4.3 : TABLEAU DE CONTINGENCE REPRESENTANT LES SOUCHES DE GROUPE PHYLOGENETIQUE A SELON LE SEXE DES PERSONNES INFECTEES.....	47
TABLEAU 4.4 : TABLEAU DE CONTINGENCE REPRESENTANT LES SOUCHES DE GROUPE PHYLOGENETIQUE B2 SELON LE SEXE DES PERSONNES INFECTEES	48
TABLEAU 4.5 : TABLEAU DE CONTINGENCE REPRESENTANT LES SOUCHES DE GROUPE PHYLOGENETIQUE D SELON LE SEXE DES PERSONNES INFECTES.....	48
TABLEAU 4.6 : RESULTATS OBTENUS APRES CRIBLAGE DE L'ENSEMBLE DES GENES.....	51
TABLEAU 4.7 : POURCENTAGES DE PRESENCE DES SIDEROPHORES SELON LE GROUPE PHYLOGENETIQUE DES SOUCHES.....	65
TABLEAU 4.8 : PROFILS DES SOUCHES SELON LEURS FACTEURS DE VIRULENCE ET SI OUI OU NON ELLES FONT DE L'HEMOLYSE.....	69
TABLEAU 4.9 : PROFILS DES SOUCHES POSSEDANT LES NOUVEAUX FACTEURS DE VIRULENCE PLASMIDIQUES.....	70
TABLEAU 4.10 : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR LE GENE <i>SAT</i>	71
TABLEAU 4.11 : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR LE GENE <i>TSH</i>	71
TABLEAU 4.12 : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR LE GENE <i>CNF1</i>	73
TABLEAU 4.13 : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR LE GENE <i>PAPG II/III</i>	74
TABLEAU 4.14 : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR LE GENE <i>HLYA</i>	74
TABLEAU 4.15 : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR LE GENE <i>ATA</i>	75
TABLEAU 4.16 : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR LE GENE <i>ATB</i>	75
TABLEAU 4.17 : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR LE GENE <i>PAPA</i>	76
TABLEAU 4.18 : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR LE GENE <i>PAPG II/III</i>	76
TABLEAU 4.19 : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR LES SOUCHES POSSEDANT <i>PAPA</i>	78
TABLEAU 4.20 : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR LES SOUCHES POSSEDANT <i>PAPG II/III</i>	78

TABLEAU 4.21 : TABLEAU DE CONTINGENCE COMPARANT LA PRESENCE DE FACTEURS DE VIRULENCE DANS LES SOUCHES SELON QU'ELLES FASSENT PARTIE DU GROUPE PHYLOGENETIQUE F OU D'UN AUTRE GROUPE PHYLOGENETIQUE.....	80
TABLEAU 4.22 : TABLEAU DE CONTINGENCE COMPARANT LE NOMBRE DE SOUCHES FAISANT DE L'HEMOLYSE SELON QU'ELLES FASSENT PARTIE DU GROUPE PHYLOGENETIQUE F OU D'UN AUTRE GROUPE PHYLOGENETIQUE.....	83

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1.1 : RISQUES ZONOTIQUES ENTRE EXPEC AVIAIRES ET HUMAINS (MELLATA 2013).....	6
FIGURE 1.2 : DIVERSITE PHYLOGENETIQUE DES SOUCHES D' <i>E. COLI</i> (JAUREGUY, LANDRAUD ET AL. 2008).	8
FIGURE 1.3 : SCHEMA DE L'OPERON FIM. (THANASSI, NUCCIO ET AL. 2007)	10
FIGURE 1.4: SCHEMA DE LA REGULATION DE L'OPERON <i>FIM</i> . (SCHWAN 2011).....	10
FIGURE 1.5 : ARCHITECTURE DU FIMBRIA TYPE 1. (LILLINGTON, GEIBEL ET AL. 2014)	11
FIGURE 1.6 : LIAISON D'UN FIMBRIA P SUR UN RECEPTEUR A-D-GALCTOPYRANOSYL-(1-4)-B-D- GALCTOPYRANOSIDE SITUE SUR UNE CELLULE EPITHELIALE DE REIN. (DAVIS 2011).....	12
FIGURE 1.7 : SCHEMA DE L'OPERON PAP. (LAVOIE 2013)	12
FIGURE 1.8 : ARCHITECTURE DU FIMBRIA P. (LILLINGTON, GEIBEL ET AL. 2014)	13
FIGURE 1.9 : SCHEMA DE LA STRUCTURE D'UN AUTOTRANSPORTEUR.....	16
FIGURE 1.10 : SCHEMA REPRESENTANT LA SECRETION DES AUTOTRANSPORTEURS. (HENDERSON 1998)	17
FIGURE 1.11 : OPERON HLY (THOMAS, HOLLAND ET AL. 2014).....	20
FIGURE 1.12 : SECRETION DE TYPE 1 DE HLYA (FRONZES, CHRISTIE ET AL. 2009).....	21
FIGURE 1.13 : STRUCTURES CHIMIQUES DES SIDEROPHORES SALMOCHELINE ET ENTEROBACTINE. (HOLDEN AND BACHMAN 2015).....	24
FIGURE 1.14 : SCHEMA REPRESENTANT L'EXPORT DES SALMOCHELINES ET L'IMPORT DU COMPLEXE SALMCHELINE-Fe ³⁺ . (LORENZO 2014).....	24
FIGURE 1.15 : STRUCTURES CHIMIQUES DU SIDEROPHORE YERSINIABACTINE. (HOLDEN AND BACHMAN 2015)..	25
FIGURE 1.16 : STRUCTURES CHIMIQUES DU SIDEROPHORE AEROBACTINE. (HOLDEN AND BACHMAN 2015)	26
FIGURE 1.17 : SCHEMA REPRESENTANT L'IMPORT DU COMPLEXE AEROBACTINE-Fe ³⁺ . (LORENZO 2014).....	27
FIGURE 3.1 : ARBRE PERMETTANT DE TROUVER LE GROUPE PHYLOGENETIQUE DES SOUCHES SELON LE RESULTAT DES PCRS. (CLERMONT, CHRISTENSON ET AL. 2013)	33
FIGURE 4.1 : MOYENNES D'AGE DES PERSONNES INFECTEES.....	43
FIGURE 4.2 : POURCENTAGES DES PERSONNES INFECTEES DE CHAQUE SEXE AYANT EFFECTUEES UN SEJOUR A L'HOPITAL AU COURS DES 12 MOIS PRECEDANT L'INFECTION.	45
FIGURE 4.3 : NOMBRE DE SOUCHES SELON LES GROUPES PHYLOGENETIQUES	46
FIGURE 4.4 : POURCENTAGES DE FEMMES ET D'HOMMES INFECTES SELON LE GROUPE PHYLOGENETIQUE AUQUEL APPARTIENT LES SOUCHES RESPONSABLE DES INFECTIONS.....	49
FIGURE 4.5 : POURCENTAGES DE SOUCHES FAISANT DE L'HEMOLYSE SELON LE GROUPE PHYLOGENETIQUE AUQUEL APPARTIENT LA SOUCHE.	50
FIGURE 4.6 : POURCENTAGES DE PRESENCE DES FACTEURS DE VIRULENCE DANS L'ENSEMBLE DES SOUCHES...	52
FIGURE 4.7 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT DES FIMBRIAE.....	54
FIGURE 4.8 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT DES FIMBRIAE ET CE POUR CHAQUE GROUPE PHYLOGENETIQUE.....	55
FIGURE 4.9 : POURCENTAGES DE SOUCHES CODANT POUR <i>PAPG</i> SELON L'ORIGINE DES SOUCHES.	56

FIGURE 4.10 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT LE GENE <i>FOCG</i> SELON LE SEXE DE LA PERSONNE INFECTEE.	57
FIGURE 4.11 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT LES AUTOTRANSPORTEURS.....	58
FIGURE 4.12 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT LES AUTOTRANSPORTEURS ET CE POUR CHAQUE GROUPE PHYLOGENETIQUE.	59
FIGURE 4.13 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT <i>VAT</i> SELON L'AGE DES PERSONNES INFECTEES.....	60
FIGURE 4.14 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT LE GENE <i>VAT</i> SELON LE SEXE DE LA PERSONNE INFECTEE.	61
FIGURE 4.15 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT LES TOXINES <i>CNF1</i> ET <i>RTX</i>	62
FIGURE 4.16 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT LES TOXINES ET CE POUR CHAQUE GROUPE PHYLOGENETIQUE.....	63
FIGURE 4.17 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT LES SIDEROPHORES.	64
FIGURE 4.18 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT LES SIDEROPHORES ET CE POUR CHAQUE GROUPE PHYLOGENETIQUE.....	65
FIGURE 4.19 : POURCENTAGES DES SOUCHES POSSEDANT LES GENES <i>IROB</i> ET <i>IRON</i> SELON LE SEXE DE LA PERSONNE INFECTEE.	67
FIGURE 4.20 : NOMBRES DE SYSTEME DE VIRULENCE PAR SOUCHES SELON LEUR GROUPE PHYLOGENETIQUE. ...	70
FIGURE 4.21 : POURCENTAGES DE SOUCHES AYANT LES GENES <i>SAT</i> ET <i>TSH</i> SELON L'AGE DES PERSONNES INFECTEES.	72
FIGURE 4.22 : NOMBRES DE FACTEURS DE VIRULENCE PAR SOUCHES SELON LE SEXE DE LA PERSONNE INFECTEE.	73
FIGURE 4.23 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT LES FACTEURS DE VIRULENCE <i>PAPÁ</i> ET <i>PAPG II/III</i> SELON QUE LES FEMMES INFECTEES SOIENT ENCEINTES OU NON.....	77
FIGURE 4.24 : POURCENTAGES DE SOUCHES POSSEDANT LES FACTEURS DE VIRULENCE <i>PAPÁ</i> ET <i>PAPG II/III</i> SELON QUE LES PERSONNES INFECTEES PRESENTES OU NON DES SIGNES D'INFECTION URINAIRE.	79
FIGURE 4.25 : POURCENTAGE DE SOUCHES POSSEDANT LES FACTEURS DE VIRULENCE SELON QU'ELLES APPARTIENNENT AU GROUPE PHYLOGENETIQUE F OU A UN AUTRE GROUPE PHYLOGENETIQUE.....	82
FIGURE 4.26 : POURCENTAGES DE SOUCHES FAISANT DE L'HEMOLYSE SELON QUE LES SOUCHES APPARTIENNENT AU GROUPE PHYLOGENETIQUE F OU A UN AUTRE GROUPE PHYLOGENETIQUE.	83

LISTE DES MESURES ET UNITES

°C : degré Celsius

% : Pourcentage

KDa : kilo-Dalton

M : molaire

mL : milli-litre

mM : milli-molaire

μM : micro-molaire

μl : microlitre

U : unité

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- ADN : Acide DésoxyriboNucléique
- AIEC : E*sch*erichia Coli Adhérente Invasive
- APEC : E*sch*erichia Coli Pathogène Aviaire
- ARN : Acide RiboNucléique
- ARNt : ARN de Transfert
- AT : Auto-Transporteur
- DNA : DeoxyriboNucleic Acid (non anglais de l'ADN)
- dNTPs : Deoxy-Nucleotide-TriPhosPhate
- EAEC : E*sch*erichia Coli EntéroAggrégative
- EHEC : E*sch*erichia Coli EntéroHémorragiques
- EIEC : E*sch*erichia Coli Entéro-Invasives
- EPEC : E*sch*erichia Coli EntéroPathogène
- ETEC : *Escherichia coli* entérotoxinogène
- Fe³⁺ : Ion ferrique oxydé
- HUS : Syndrome Urémique Hémolytique
- InPEC : E*sch*erichia Coli Pathogène Intestinal
- ITU : Infection du Tractus Urinaire
- LB : Lysogeny Broth
- MgSO₄ : Sulfate de magnésium
- MLEE : MultiLocus Enzyme Electrophoresis
- MLST : Muli Locus Sequence Typing
- NaOH : Hydroxide de sodium
- NMEC : E*sch*erichia Coli associé à la Méningite Néonatale
- PAI : Ilot de Pathogénicité

pb : Paire de Base

PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction en Chaîne par Polymérase)

pH : Potentiel Hydrogène

RTX : Repeats-In-ToXin

SEPEC : Escherichia Coli associée à la SEPticémie

SPATE : Serine Protease AutoTransporters of Enterobacteriaceae

Tris : Trihydroxyméthylaminométhane ou 2-amino-2-hydroxyméthyl-1,3-propanediol

UPEC : Escherichia Coli UroPathogène

UTI : Infection du Tractus Urinaire

1 REVUE DE LITTÉRATURE

1.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Elle fut découverte en 1885 par Théodore Escherich.

On trouve *E. coli* de façon commensale dans la flore intestinale et fécale, tant chez les humains que chez certains animaux. La flore intestinale est colonisée peu après la naissance. La bactérie et l'hôte coexistent sans impact sur leur santé respective. Cette coexistence entraîne des bénéfices mutuels (Kaper, Nataro et al. 2004).

E. coli peut non seulement être une bactérie commensale, mais aussi un pathogène. La pathogénèse de ces bactéries se fait par étapes. Tout d'abord elles colonisent une muqueuse. Puis elles se multiplient et causent des dommages à l'hôte tout en essayant d'évader ses défenses (Kaper, Nataro et al. 2004).

On peut séparer les *E. coli* pathogènes en deux catégories, les *E. coli* pathogènes intestinaux (InPEC) et les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC). Chacune de ces catégories contient différentes sous-catégories provoquant différents symptômes. Les *E. coli* peuvent être classées de plusieurs manières, notamment par pathotype (un groupe d'organismes de la même espèce causant les mêmes maladies) ou par groupe phylogénique. Les différents pathotypes sont regroupés selon qu'ils sont causés par des pathogènes intestinaux ou extra-intestinaux.

Il existe une grande diversité de souches d'*E. coli*. Cette diversité ainsi que la pathogénicité des souches sont dues à l'insertion de matériel génétique, que ce soit sous forme d'îlot de pathogénicité, de transposon, de bactériophage ou de plasmide. Ce matériel génétique incorporé peut contenir des gènes impliqués dans la virulence. La diversité d'*E. coli* est aussi due à des remaniements de l'ADN de la souche.

1.1.1 *E. coli* pathogènes intestinaux

Les souches d'*E. coli* pathogènes intestinales (InPEC) peuvent être regroupées en six catégories :

- Les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC)
- Les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC)
- Les *E. coli* entéro-invasives (EIEC)
- Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC)
- Les *E. coli* enteroaggrégatives (EAEC)
- Les *E. coli* adhérentes invasives (AIEC)

E. coli entérotoxigène (ETEC)

Les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), fréquemment associées à la "diarrhée du voyageur", sont des souches produisant des entérotoxines : toxine thermosensible (toxines LT), et/ou toxine thermostable (toxines ST). Lors de la colonisation de l'intestin, les entérotoxines provoquent la diarrhée. Les infections aux ETECs sont principalement trouvées chez les voyageurs, les nourrissons et les enfants dans les pays en voie de développement. Elles peuvent aussi être trouvées chez les animaux d'élevage (Kaper, Nataro et al. 2004).

E. coli entéro-pathogène (EPEC)

Les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC) provoquent, elles aussi, des diarrhées de type persistantes. Toutefois elles ne produisent pas d'entérotoxine. Ces souches sont capables de s'attacher aux cellules intestinales et de réarranger le cytosquelette. Les EPECs provoquent principalement des gastro-entérites infantiles dans les pays développés (Kaper, Nataro et al. 2004).

E. coli entéro-invasive (EIEC)

Les *E. coli* entéro-invasives (EIEC) provoquent des diarrhées aqueuses et parfois la dysenterie. L'infection se fait dans la muqueuse du colon, les bactéries l'envahissent et se multiplient de façon intracellulaire. Les EIECs sont similaires à la bactérie *Shigella* (Kaper, Nataro et al. 2004).

E. coli entérohémorragique (EHEC)

Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) sont associées aux colites hémorragiques et au syndrome urémique hémolytique (HUS) provoqués par la production de Shigatoxines (Stx). Les EHECs peuvent aussi provoquer une défaillance rénale. Les toxines inhibent la synthèse des protéines et provoquent la mort cellulaire. Les EHECs sont surtout trouvées chez les enfants, mais aussi dans la flore normale bovine. Les EHECs provoquent ce qu'on appelle la "maladie du hamburger" (Kaper, Nataro et al. 2004).

E. coli enteroaggrégative (EAEC)

Les *E. coli* enteroaggrégatives (EAEC) causent des diarrhées aiguës et persistantes chez les adultes et les enfants. Les EAECs sont présentes, aussi bien dans les pays en voie de développement que dans les pays développés. Les EAECs colonisent le colon et y sécrètent des entérotoxines et des cytotoxines (Kaper, Nataro et al. 2004).

E. coli adhérentes invasives (AIEC)

Les *E. coli* adhérentes invasives sont majoritairement associées à la maladie de Crohn. Cette maladie est responsable d'infections importantes dans l'intestin. Les AIECs sont capables d'adhérer fortement aux cellules épithéliales de l'intestin et de les envahir. Le mécanisme impliqué dans ces actions consiste en la polymérisation de microtubules et le recrutement d'actine. L'action des bactéries induit une sécrétion inflammatoire de cytokine. Les AIECs sont aussi capables de survivre et de se répliquer dans des macrophages : ce qui induit une importante sécrétion de TNF- α (Agus, Massier et al. 2014).

1.1.2 *E. coli* pathogènes extra-intestinaux

Les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC), ne sont pas associés aux infections quand ces souches se trouvent dans le tractus intestinal. Cependant lorsqu'elles colonisent des tissus hors de l'intestin, elles peuvent causer des infections importantes (Johnson and Russo 2002).

Les ExPECs peuvent être regroupées en quatre catégories :

- Les *E. coli* uropathogènes (UPEC),
- Les *E. coli* associées à la septicémie (SEPEC),
- Les *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC)
- Les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC)

Les ExPECs possèdent une grande diversité de facteurs de virulence. Les ExPECs semblent avoir été créées par l'accumulation de certains facteurs de virulence dans des souches *E. coli* appartenant aux groupes phylogénétiques B2 et D (Johnson and Russo 2002).

E. coli uropathogènes (UPEC)

Les *E. coli* uropathogènes (UPEC) sont responsables de 80 % des infections des voies urinaires (UTI) soit environ 150 millions de personnes par an dans le monde. Les UPECs touchent particulièrement les femmes de tout âge. Environ 60 % des femmes souffrent d'une UTI au moins une fois dans leur vie, et 25 % d'entre elles auront une récurrence. Les UTIs se produisent lorsqu'il y a contamination de la région urogénitale par la flore fécale. Les bactéries peuvent atteindre la vessie et provoquer une cystite aiguë ou infecter les reins et provoquer une pyélonéphrite aiguë. Dans certains cas les UTIs peuvent mener à une septicémie. Ces septicémies causent en moyenne 40000 morts par année aux États-Unis. Les UTIs reposent sur la présence de plusieurs facteurs de virulence. La présence ou non de ces facteurs influence la sévérité de l'UTI (Kaper, Nataro et al. 2004).

E. coli associées à la septicémie (SEPEC)

Les *E. coli* associées à la septicémie (SEPEC) provoquent des septicémies.

E. coli associées à la méningite néonatale (NMEC)

Les *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC) provoquent des méningites chez les nouveau-nés, 15 à 40 % des nouveau-nés atteints décèdent. Bon nombre des survivants souffrent de défauts neurologiques graves. Les bactéries sont transportées par voies hématogènes (voies sanguines) (Kaper, Nataro et al. 2004)

E. coli pathogènes aviaires (APEC)

Les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC) affectent les voies respiratoires de la volaille. Elles peuvent aussi causer des péricardites et des septicémies. Ces pathogènes sont responsables d'importantes pertes économiques (Kaper, Nataro et al. 2004).

1.1.3 Risque zoonotique

Des analyses phylogénétiques par MLST de souches APECs et UPECs montrent que certaines souches APECs et UPECs sont étroitement liées. On trouve des souches humaines et aviaires appartenant aux mêmes groupes phylogénétiques ainsi qu'aux mêmes sérotypes. Certaines souches possèdent aussi les mêmes facteurs de virulence (Moulin-Schouleur, Reperant et al. 2007, Clermont, Olier et al. 2011).

Ces similarités incitent à penser que les souches aviaires auraient des propriétés zoonotiques. Il est donc possible que certaines souches APECs puissent alors coloniser l'être humain et devenir une source de souches UPECs. Les souches d'origine aviaires accèderaient au colon grâce à l'ingestion de produit de volailles contaminées (Johnson, Kariyawasam et al. 2007).

Il existe aussi de nombreuses études démontrant le transfert de plasmides d'APECs vers des UPECs (Johnson, Kariyawasam et al. 2007).

Ces transferts de gènes ou de plasmides posent aussi un problème au niveau des résistances aux antibiotiques. En effet, l'usage intensif d'antibiotiques dans l'industrie avicole provoque l'apparition de nombreuses résistances chez les ExPECs aviaires, bon nombre d'entre eux sont par ailleurs multi-résistants. Ces résistances peuvent, elles aussi, être transmises aux ExPECs humains tel que montré sur la figure 1.1 (Achtman 1986).

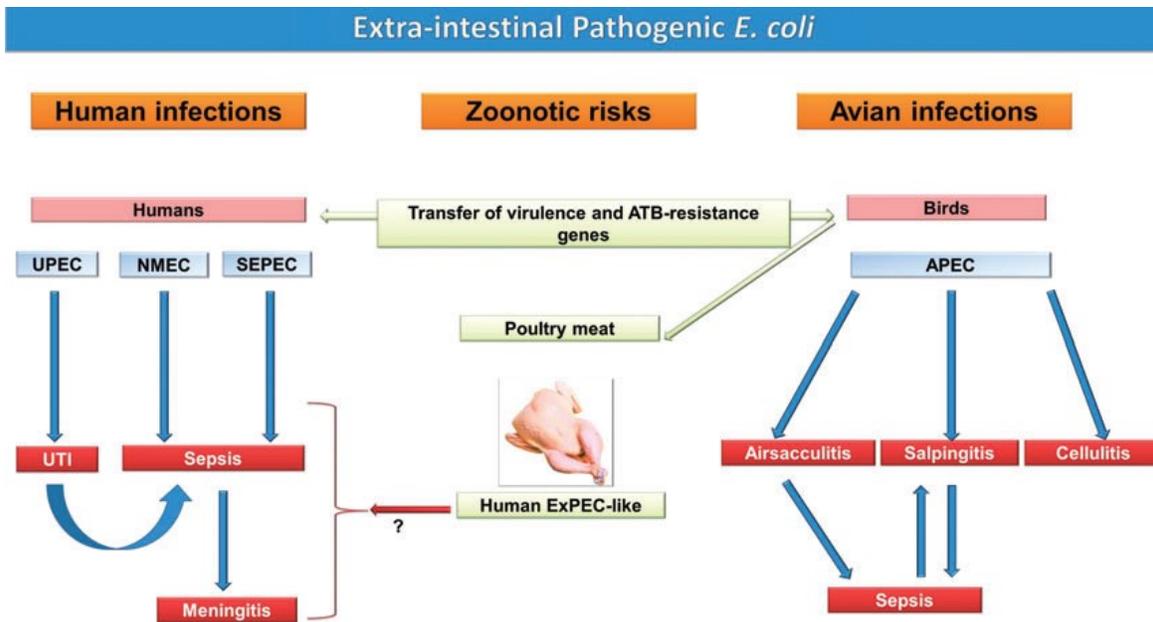


Figure 1.1 : Risques zoonotiques entre ExPEC aviaires et humains (Mellata 2013).

1.1.4 Résistance aux antibiotiques

Le terme "antibiotique" signifie « agent agissant contre les microorganismes ». Lorsqu'un microorganisme continue à se multiplier ou tout simplement survit en présence d'une concentration d'antibiotiques normalement capable d'inhiber ou de tuer les individus de la même espèce, alors il y a résistance. Dans le cas contraire, l'organisme est dit sensible (Sabtu, Enoch et al. 2015).

Un microorganisme peut être intrinsèquement résistant ou il peut avoir acquis cette résistance par mutation ou par transfert de gènes (Sabtu, Enoch et al. 2015).

L'émergence de résistance est accentuée par l'utilisation intensive d'antibiotiques. Celle-ci permet la sélection des souches possédant des résistances aux antibiotiques. Ces souches peuvent alors proliférer et transférer leur résistance à une autre espèce (Sabtu, Enoch et al. 2015).

La quantité d'antibiotiques consommée par un individu influe sur les résistances que possèdent les microorganismes l'infectant. Cela peut expliquer la différence de résistance entre les individus infectés à l'hôpital et ceux victimes d'infections communautaires (Sabtu, Enoch et al. 2015).

L'accumulation de résistances à des antibiotiques de familles différentes crée des bactéries multi-résistantes (BMR). Une bactérie est dite BMR lorsqu'elle possède des résistances à plus de trois familles d'antibiotiques.

Il existe une classe d'antibiotiques appelés β -lactam laquelle comprend tout antibiotique possédant un noyau β -lactam (un lactame contient trois atomes de carbone et un atome d'azote). Les résistances aux antibiotiques β -lactam sont appelées β -lactamases. Non seulement il existe de nombreux β -lactam dans la nature, mais l'être humain en a synthétisé d'autres pour combattre les bactéries. L'usage intensif des antibiotiques a fait apparaître des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (Bradford 2001).

1.1.5 Les groupes phylogénétiques

Grâce à la méthode du "multilocus enzyme electrophoresis" (MLEE), il a été possible de classer les souches d' *E. coli* faisant partie de la collection de référence "ECOR-collection". Ces souches ont été obtenues dans différentes parties du monde et représentent une tranche de la diversité d'*E. coli*. Cette classification regroupant initialement les souches en quatre groupes, A, B1, B2 et D, a ensuite été améliorée, notamment grâce à l'utilisation de PCR multiplex. Les ECOR sont aujourd'hui classés en 7 groupes phylogénétiques : A, B1, B2, C, D, E et F (Clermont, Christenson et al. 2013).

Le groupe C correspond à un groupe étroitement lié au groupe B1 (par MLST), mais précédemment identifié comme A par triplex PCR.

Les groupes phylogénétiques B2 et F sont ceux ayant émergé en premier. Les groupes A, B1 et C ont, quant à eux, divergé plus récemment (Clermont, Olier et al. 2011).

La classification des souches d'*E. coli* est d'une grande aide pour prédire la pathogénicité d'une souche. En effet, on note que les souches B2 possèdent un grand nombre de facteurs de virulence impliqués dans les infections extra-intestinales et font donc majoritairement partie des ExPECs de même que les souches du groupe D, bien que de façon moindre, tandis que les souches des groupes A et B1 sont majoritairement commensales. Les InPECs font quant à eux majoritairement partie des groupes phylogénétiques A, B1 et D (Johnson and Russo 2002).

L'arbre phylogénétique ci-dessous a été construit en analysant les séquences de huit gènes codant pour des protéines conservées.

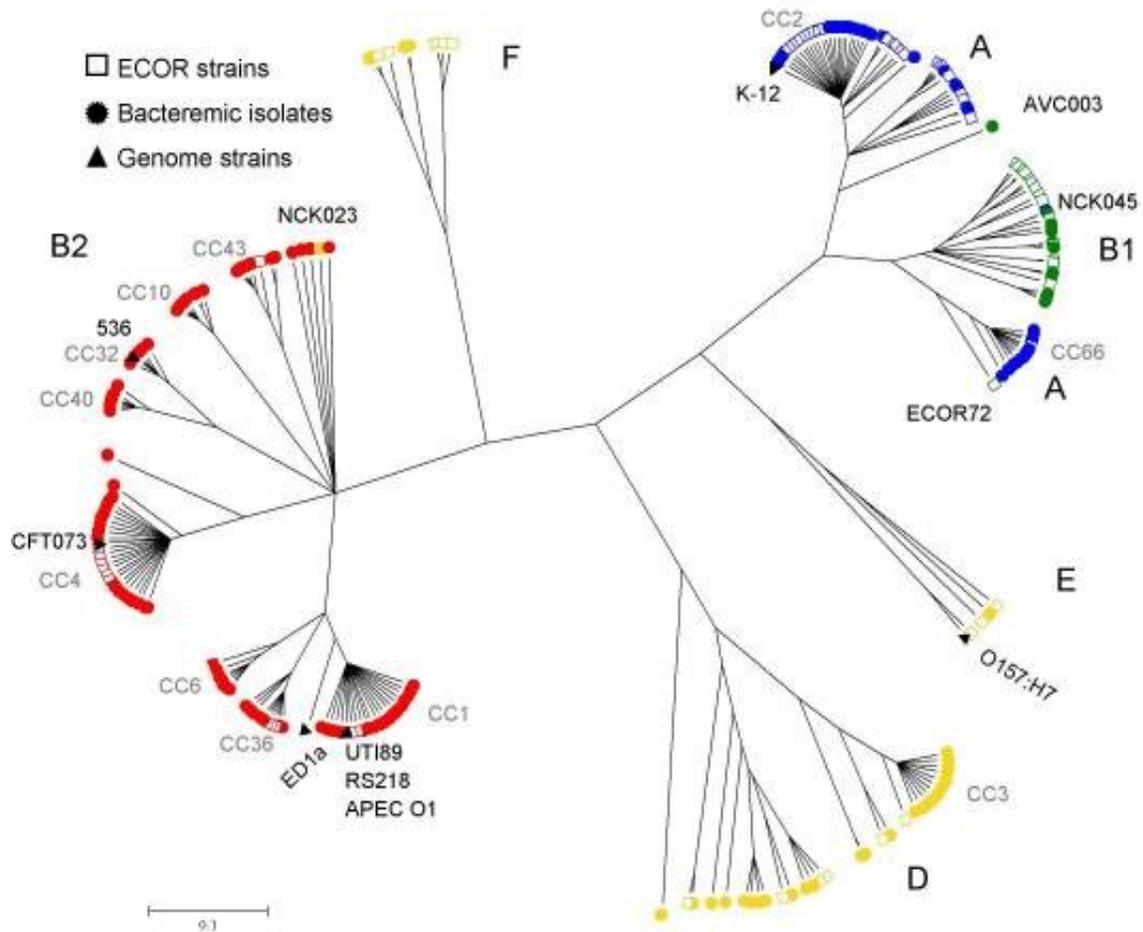


Figure 1.2 : Diversité phylogénétique des souches d' *E. coli* (Jaureguy, Landraud et al. 2008).

1.2 Les facteurs de virulence des UPEC

1.2.1 Localisation

On trouve les gènes codant pour les facteurs de virulence soit sur des éléments génétiques transmissibles (par exemple des transposons, des plasmides et des bactériophages), soit sur des régions du génome bactérien appelées « îlots de pathogénicité » (PAI).

Les plasmides, les phages et les îlots de pathogénicité permettent une évolution rapide des bactéries et la création de nouveaux pathogènes par transfert horizontal.

On retrouve les PAIs particulièrement dans les souches pathogènes. La majorité des PAIs sont situés sur le chromosome bactérien, mais on en retrouve aussi sur des plasmides et les génomes de phages. Ils peuvent avoir une taille allant jusqu'à 200 kb (kilobase) d'ADN.

Il existe plusieurs façons d'identifier un PAI (Hacker and Tschape 1997, Hacker 2000) :

- Ils contiennent plusieurs gènes de virulence.
- Ils possèdent souvent un pourcentage de nucléotides G et C différent (inférieur ou supérieur) à la moyenne du génome de l'espèce spécifique.
- Ils sont souvent entourés de séquences d'insertions ou de séquences répétées.
- On les retrouve souvent intégrés à proximité des sites d'ARNt (ARN de transfert).
- Les PAIs sont dans certains cas instables, ils peuvent être excisés du génome.

Les PAIs peuvent contenir de nombreux facteurs de virulence différents. On y retrouve par exemple :

- Des gènes codant des facteurs d'adhérence tels que les fimbriae P et S.
- Des sidérophores tels que yersiniabactine et l'aérobactine.
- Des toxines telles que l'hémolysine α .
- Des systèmes de sécrétions, par exemple de type III et IV.

(Hacker 2000, Gal-Mor and Finlay 2006)

1.2.2 Fimbriae

Les fimbriae (aussi connu sur le nom de pili) sont des hétéropolymères d'environ 1 μ m de longueur et de diamètre allant de 5 à 10 nm (Klemm and Schembri 2000, Kaper, Nataro et al. 2004).

Les UPECs expriment plusieurs adhésines/fimbriae, tels que des fimbriae de type 1, des fimbriae de type P, des fimbriae F1C et des fimbriae S. Ces fimbriae se trouvent tous sur le chromosome bactérien. Les fimbriae sont nécessaires à la bactérie pour promouvoir la colonisation des surfaces, ce qui aide à empêcher l'évacuation par l'urine et permet l'infection par la bactérie. Chaque souche peut exprimer différents types de fimbriae selon leur contenu génétique et les phases où la bactérie se trouve (Hight 1987).

Chacun de ces fimbriae est assemblé grâce à un même mécanisme. Celui-ci comprend :

- Une protéine chaperonne périplasmique qui lie les sous-unités ensemble et les transporte à la surface de la bactérie.
- Une protéine usher (portier) de la membrane extérieure qui assemble les sous-unités en filaments à la surface de la cellule

(Thanassi, Nuccio et al. 2007).

Fimbriae de type 1

Les fimbriae de type 1 sont des adhésines qui interviennent dans l'hémagglutination mannose sensible. Ils reconnaissent les résidus mannosylés sur les cellules, et sont souvent décrits comme des adhésines mannose sensibles parce que leurs cibles sont des résidus de α -D-Mannose. Les fimbriae de type 1 se lient entre autres aux glycoprotéines mannosylées présentes dans la vessie, ils sont souvent associés aux cystites. L'hémagglutination et l'adhérence des fimbriae de type 1 sont inhibés en présence de mannose.

Les fimbriae de type 1 sont codés par l'opéron *fimBEAICDFGH* que l'on retrouve sur le chromosome comme montré sur la figure ci-dessous.

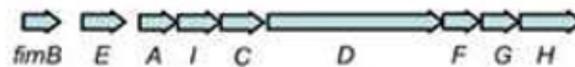


Figure 1.3 : Schéma de l'opéron *fim*. (Thanassi, Nuccio et al. 2007)

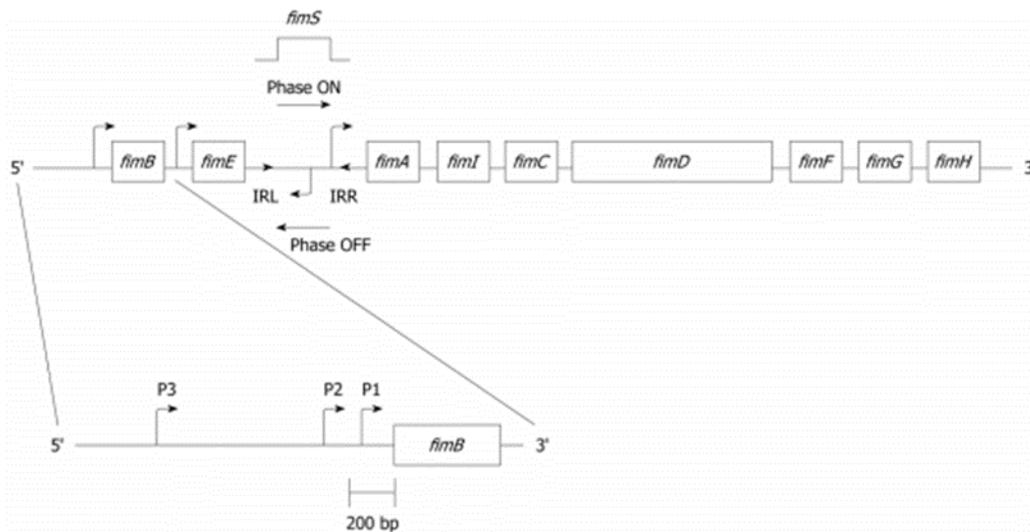


Figure 1.4: Schéma de la régulation de l'opéron *fim*. (Schwan 2011)

Chacun des gènes de l'opéron à un rôle spécifique :

- La protéine FimA est responsable de la structure du pilus (Klemm 1984).
- Les protéines FimC et FimD sont responsables du transport et de l'assemblage du fimbria. FimC est une protéine chaperonne périplasmique qui aide les protéines du fimbria à traverser le périplasme (Hal Jones 1993, Mulvey 1998). Les protéines du fimbria sont ensuite prises en charge par FimD, une protéine de la membrane externe qui leur permet de sortir de la bactérie (Freitag 1983, Mulvey 1998).
- Le gène *fimH* code pour l'adhésine responsable de l'attachement au récepteur.

L'extrémité du filament du fimbria mesure de 10 à 19 nm, il est constitué de FimH et des protéines adaptatrices FimF et FimG tel que montré sur la figure suivante. Ces dernières permettent l'adhésion de l'adhésine au fimbria (pilus) (Minion 1985, Mulvey 1998).

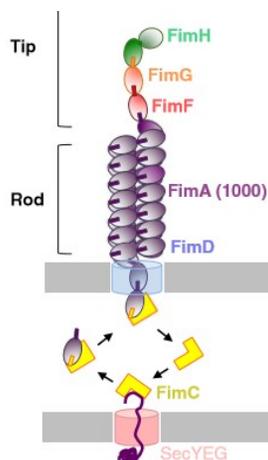


Figure 1.5 : Architecture du fimbria type 1. (Lillington, Geibel et al. 2014)

L'expression des fimbriae de type 1 varie selon la phase où se trouve la bactérie : dans une même population certaines bactéries possèdent des pili tandis que d'autres non. Cette variation de phase est contrôlée par une région d'ADN avec orientation variable qui sert comme un interrupteur appelé *fimS*. Le fragment d'ADN *fimS* contient aussi le promoteur pour l'opéron *fim*. Le changement de phase entre bactérie fimbrié et non-fimbrié se fait grâce aux recombinaisons FimB et FimE (Abraham 1985, Zhang, Susanto et al. 2016). La régulation de l'opéron *fim* est schématisée sur la figure 1.4.

Fimbriae de type P

Contrairement aux fimbriae de type 1, les fimbriae de type P expriment une hémagglutination mannose résistante en adhérant à des récepteurs de surface telle que la structure α -D-Gal(1-4)-PD-Gal de l'antigène P présent sur des érythrocytes et des cellules épithéliales (voir figure 1.6) (Hight 1987).

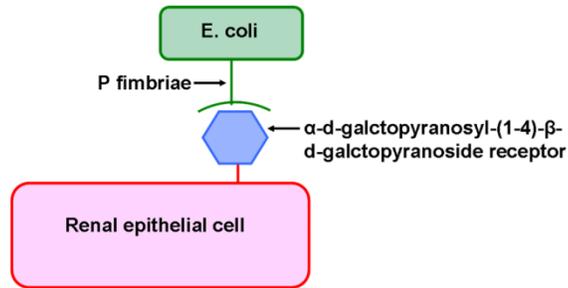


Figure 1.6 : Liaison d'un fimbria P sur un récepteur α -d-galctopyranosyl-(1-4)- β -d-galctopyranoside situé sur une cellule épithéliale de rein. (Davis 2011)

Les fimbriae P sont encodés par le système *pap* comprenant 9 gènes structuraux et 2 gènes régulateurs localisés sur 9.5 kb d'ADN. Ils sont situés sur le chromosome de la bactérie (Hight 1987, Bergsten, Wullt et al. 2005). La structure des fimbriae comprend :

- La sous-unité de base (PapA)
- L'adhésine (PapG)
- Des protéines s'associant à l'adhésine (PapE, PapF et PapK)
- Les fonctions d'assemblage des fimbriae (PapC, PapD et PapJ)
- Les éléments de régulation PapB et PapI

(Waksman and Hultgren 2009)

La figure suivante montre l'arrangement des différents gènes de l'opéron *pap* sur le chromosome de la bactérie.

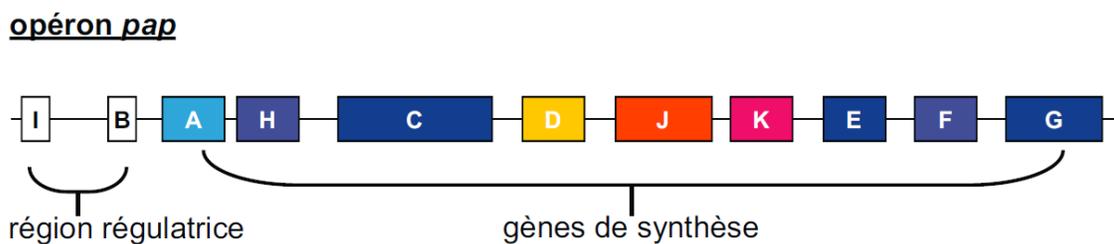


Figure 1.7 : Schéma de l'opéron *pap*. (Lavoie 2013)

Dans le cas des fimbriae de type P, comme pour tous les fimbriae membres de la famille « chaperonne-usher », la biogenèse des structures est dépendante de 2 protéines dédiées à l'organisation de la structure : la protéine chaperonne et la protéine usher.

PapD est une protéine chaperonne périplasmique qui apporte les sous-unités à PapC, une protéine de la membrane extérieure qui va assembler les différentes protéines requises pour former le pilus.

PapA forme une hélice tournant vers la droite. L'ajout de PapH permet de finir la polymérisation de PapA et d'ancrer la protéine "usher" dans la cellule. PapE forme l'embout du fimbria. Enfin PapG, situé à l'extrémité distale du fimbria, permet la liaison au récepteur (Antao, Wieler et al. 2009, Lillington, Geibel et al. 2014) La structure du fimbria P est schématisée sur la figure 1.8.

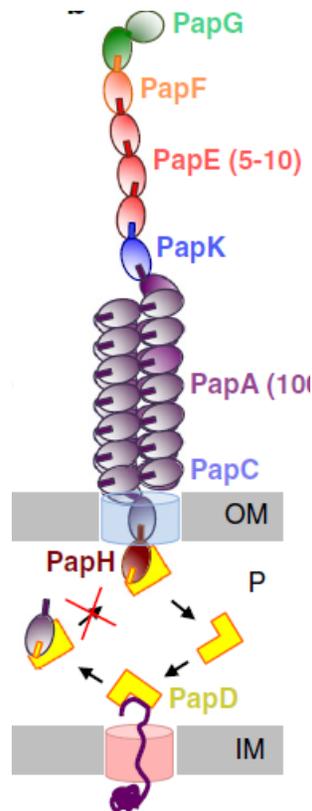


Figure 1.8 : Architecture du fimbria P. (Lillington, Geibel et al. 2014)

Les bactéries possédant les fimbriae P, agglutinent les érythrocytes des individus de groupe sanguin P1 ou P2, mais pas du groupe P qui ne possède pas de "globoseries de GSL" (glycosphingolipids) (Bergsten, Wullt et al. 2005). Les "globoseries de GSL" sont des molécules bipolaires intégrées dans les feuillettes externes des membranes de cellules eucaryotes.

Il existe au moins trois allèles de l'adhésine PapG : PapGI, PapGII et PapGIII, qui reconnaissent chacune une forme différente du récepteur. Les souches PapGI sont atypiques et possèdent une adhésine PapGJ96. Les souches PapGII possèdent l'adhésine papGIA2 qui reconnaît la plupart des globoseries de GSL et s'attachent donc à la plupart des individus de groupe sanguin

P positif. Les souches PapGIII possèdent l'adhésine PrsGJ96 qui reconnaît un épitope (déterminant antigénique), défini par un résidu GalNAc, lié par un noyau de globoseries (Bergsten, Wullt et al. 2005).

L'allèle PapGIII est surtout présent chez les femmes et les enfants atteints d'une cystite tandis que l'allèle PapGII est principalement retrouvé chez les patients souffrant de bactériémie et de pyélonéphrite (Antao, Wieler et al. 2009).

Plus de 80 % des souches d'*E. coli* impliquées lors d'une pyélonéphrite possèdent des fimbriae P (Antao, Wieler et al. 2009).

Fimbriae F1C

Les fimbriae F1C sont importants pour la formation de biofilms et l'adhérence aux surfaces abiotiques et biotiques (Lasaro, Salinger et al. 2009). Ils se lient aux cellules épithéliales des tubules distaux et des canaux collecteurs ainsi qu'aux cellules endothéliales humaines des reins et de la vessie. Leur spécificité de liaison semble être similaire à celle des fimbriae S avec lesquels ils possèdent une grande homologie de séquence (Khan 2000).

Les fimbriae F1C sont codés par un opéron appelé foc. Cet opéron est composé de huit gènes dont FocA, FocC, FocF, FocG, FocL et FocH. FocA code pour la sous-unité majeure du fimbria F1C. FocC code pour une protéine chaperonne du périplasma, cette protéine est responsable de la stabilisation des protéines dans le périplasma et de leur transport à la surface de la cellule. FocF, FocG et FocH codent pour des sous-unités mineures (Khan 2000, Lasaro, Salinger et al. 2009). FocL code pour une protéine similaire à FocA (Antao, Wieler et al. 2009).

Le fimbria F1C est un facteur d'adhérence ne faisant pas d'hémagglutination (Khan 2000). Il se lie à des récepteurs glycolipides spécifiques : le glucosylceramide (GlcCer), le "β1-linked galactosylceramide 2" (GalCer2), le lactosylceramide, le globotriaosylceramide, le paragloboside (nLc4Cer), le lactotriaosylceramide, le gangliotriaosylceramide (asialo-GM2[GgO3Cer]) et le gangliotetraosylceramide (asialo-GM1 [GgO4Cer]) (Antao, Wieler et al. 2009).

Le fimbria F1C est généralement exprimé par 14 % des UPECs (Khan 2000). Le pourcentage atteint 27 % pour les patients atteints de pyélonéphrite (Aulipere; Leinonen 1984).

Fimbriae S

Le fimbria S est un fimbria mannose résistant (Rahdar, Rashki et al. 2015). Il est souvent présent chez les ExPECs causant des méningites et des septicémies chez les nouveau-nés (Aulipere; Leinonen 1984). On le retrouve dans 50 % des souches UPEC, 24 % des souches NMEC et 9.2 % des souches APEC (Antao, Wieler et al. 2009).

Les fimbriae de type S possèdent eux aussi plusieurs sous-unités structurales encodées dans l'opéron sfa. L'opéron code pour au moins 7 gènes dont la sous-unité SfaA qui forme le corps basal, l'adhésine SfaS qui se lie à l'acide sialique et les protéines associées à l'adhésine, SfaG et SfaH (Antao, Wieler et al. 2009).

L'opéron sfa est situé sur un îlot de pathogénicité, on y retrouve dans certaines souches les gènes, qui codent pour le système de sidérophore salmochélines, sur le même PAI (Hacker 2000).

L'expression de l'opéron sfa dépend de plusieurs conditions environnementales : la température, l'osmolarité et la présence de glucose. L'opéron sfa est aussi régulé par deux protéines régulatrices, SfaB et SfaC (Antao, Wieler et al. 2009).

Les fimbriae de type S se lient aux récepteurs contenant des fractions d'acide sialique et sont capables d'agglutiner les érythrocytes humains et bovins. Ils peuvent aussi se lier aux glycolipides cérébraux (Khan 2000). Les fimbriae peuvent enfin se lier aux épithéliums humains (Antao, Wieler et al. 2009).

1.2.3 Autotransporteurs

Les autotransporteurs sont une famille de protéines capables de s'autosécréter à travers la membrane d'une bactérie à Gram négatif grâce à un mécanisme appelé sécrétion de type V (Restieri, Garriss et al. 2007).

Il existe différents autotransporteurs dont des toxines, des hémagglutinines, des cytotoxines, mais aussi des SPATEs (Serine Protease AutoTransporters of Enterobacteriaceae). Les SPATEs comprennent des toxines, des adhésines et des protéases. Tsh, Vat et Sat sont tous les trois des SPATEs. Les SPATEs possèdent un motif de protéase de sérine. Bien que ce motif soit aussi trouvé chez les protéases d'immunoglobulines IgA, les SPATEs ne semblent

pas capables de cliver les IgA. Les SPATEs sont typiquement absents des bactéries non-pathogènes comme *E. coli* K-12 (Restieri, Garriss et al. 2007).

Les autotransporteurs ont tous 3 domaines (schématisés sur la figure 1.9):

- Un domaine aminé terminal permettant le transport du précurseur vers la membrane interne dépendant de la protéine Sec.
- Un domaine α (ou domaine passager) donnant sa fonction à la protéine.
- Un domaine carboxylé terminal permettant la sécrétion à travers la membrane externe grâce à un tonneau β .

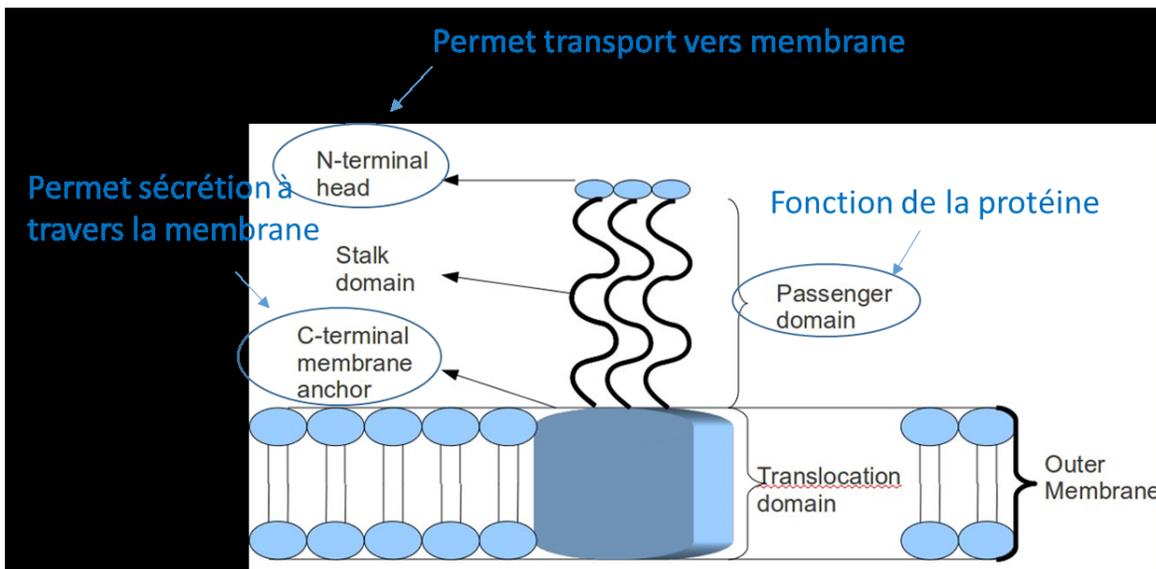


Figure 1.9 : Schéma de la structure d'un autotransporteur.

Une fois passé à travers la membrane, le domaine α est, soit libéré dans le milieu, soit reste attaché à la surface de la bactérie (voir figure ci-dessous). (Ian R Henderson 1998, Restieri, Garriss et al. 2007)

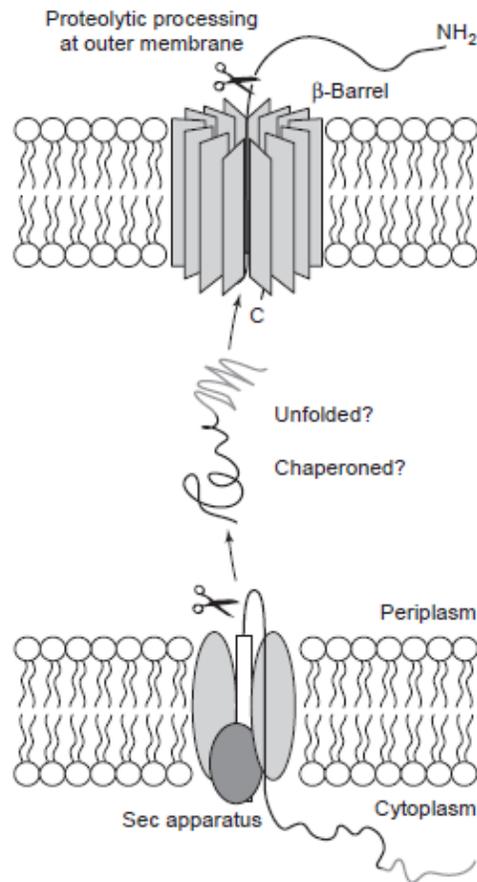


Figure 1.10 : Schéma représentant la sécrétion des autotransporteurs. (Henderson 1998)

Secreted autotransporter toxin (Sat)

Sat, ou “secreted autotransporter toxin”, est une protéine de 142 kDa (kiloDalton) avec un domaine passager de 107 kDa contenant un site protéase de sérine actif, un peptide signal de 49 acides aminés et un domaine autotransporteur C-terminal de 30 kDa. On le retrouve encodé dans l’îlot de pathogénicité II de la souche CFT073 (Guyer and Nataro 2000).

Sat a une activité sérine protéase. Elle possède aussi une activité cytopathique (modification structurelle de la cellule hôte) sur les cellules des reins, de la vessie et sur d’autres lignées cellulaires (Guyer and Nataro 2000, Guyer, Radulovic et al. 2002).

Sat est associée aux UTIs et aux groupes phylogéniques B2 et D, ainsi qu’avec certaines souches de groupe A. Il est peu présent chez les APECs (Restieri, Garriss et al. 2007).

Temperature-sensitive hemagglutinin ou tsh autotransporter

Tsh, ou « temperature-sensitive hemagglutinin », partage des similitudes avec des protéases d'immunoglobuline A (IgA) de *Neisseria gonorrhoeae* et *Haemophilus influenzae* (Dozois 2000). Elle est aussi très semblable à la protéine Hbp avec une différence de seulement deux acides aminés (Dozois 2000). Hbp est une protéine qui se lie à l'hème. Elle possède une activité sérine protéase ciblant l'hémoglobine (Dozois 2000, Heimer, Rasko et al. 2003). Hbp permet aussi une synergie microbiale entre *E. coli* et *Bacteroides fragilis*. Cette synergie permet la formation d'abcès lors des infections par ces deux bactéries (Heimer, Rasko et al. 2003, Nishimura, Yoon et al. 2010)

La régulation de la transcription de Tsh dépend de la température (Heimer, Rasko et al. 2003). Après maturation, Tsh produit deux protéines, Tsh_s et Tsh_β.

Tsh_s est une protéine extracellulaire de 106 kDa contenant le motif sérine-protéase. Tsh_β est une protéine de la membrane externe de 33 kDa permettant la sécrétion de Tsh_s (Kobayashi, Gaziri et al. 2010). Tsh_s provient du domaine N-terminal après séparation du peptide signal. Tsh_β provient du domaine C-terminal (Stathopoulos 1999).

Tsh_s adhère aux cellules sanguines, à l'hémoglobine, aux fibronectines et au collagène IV. Il exerce aussi une activité protéolytique contre la caséine (protéine présente dans le lait) (Kobayashi, Gaziri et al. 2010). Tsh contribue au développement de lésions et au dépôt de fibrine dans les sacs aériens chez la volaille (Dozois 2000). Il est aussi capable d'agglutiner les érythrocytes de poulet.

Le gène codant pour Tsh est localisé sur un grand plasmide de virulence conjugatif de type ColV chez les APECs auquel il est fortement associé. Il est en revanche peu présent chez les souches UPECs (Dozois 2000, Restieri, Garriss et al. 2007).

Vacuolating autotransporter (vat)

Vat, ou « vacuolating autotransporter », est une protéine de 148.3 kDa comprenant trois domaines :

- Un domaine N-terminal de 55 acides aminés
- Un domaine passager de 111.8 kDa qui possède un site de protéase de sérine
- Un domaine C-terminal de 30.5 kDa qui permet la translocation à travers la membrane externe.

Vat a 75% d'homologie avec Tsh. Le gène Vat est localisé typiquement sur un îlot de pathogénicité, il est adjacent au gène ARNt *thrW*. Vat a une fonction cytotoxique induite par la formation de vacuole intracellulaire (Parreira and Gyles 2003).

Vat est associé aux souches UPEC. Il est fortement présent parmi les groupes phylogéniques B2 et D, et certaines souches de groupe A. Il peut aussi être trouvé dans les APECs (Restieri, Garriss et al. 2007).

1.2.4 Hémolysine RTX (HlyA)

L'hémolysine est une toxine RTX. Les toxines RTX sont des toxines produites par des bactéries à Gram négatif et caractérisées par des répétitions dans la séquence protéique ainsi que par un système de sécrétion de type 1 (T1SS). Les fragments des séquences répétées sont riches en aspartate et glycine. Ils se situent en C-terminal, ce qui facilite le transport par le système T1SS (Smith, Weingarten et al. 2015).

Les toxines RTX sont composées d'un regroupement de gènes comprenant la toxine RTX en elle-même, une acyltransférase permettant l'activation de la toxine et les protéines du système de sécrétion de type 1. Ces gènes sont typiquement localisés sur des îlots de pathogénicités.

L'hémolysine α est une protéine provoquant la lyse de plusieurs cellules eucaryotes (globules rouges, leucocytes, cellules épithéliales de la vessie,...) en formant des pores dans leur membrane cellulaire (Garcia 2012). Lorsqu'elle est présente à des concentrations trop faibles pour lyser les cellules, Hly cause des oscillations de calcium dans les cellules épithéliales via un mécanisme impliquant la formation de pores (Garcia 2012).

Il existe plusieurs hémolysines : α -hémolysine, β -hémolysine et γ -hémolysine.

Les *E. coli* uropathogéniques peuvent produire de l' α -hémolysine. Dans le cas d'infection extra, l'hémolysine peut contribuer à des infections de cystites, des pyélonéphrites et des septicémies.

L'action de l'hémolysine α permet de rendre disponible le fer nécessaire pour la croissance bactérienne en libérant le fer piégé dans les cellules de l'hôte (Hight 1987).



Figure 1.11 : opéron hly (Thomas, Holland et al. 2014)

L'hémolysine est encodée par un opéron composé de quatre gènes : hlyCABD, positionnés tels que sur la figure 1.11, présent principalement sur un îlot de pathogénicité chez les UPECs mais aussi sur certains plasmides. Lorsqu'il est présent sur un PAI, l'opéron hly est souvent Co localisé avec des gènes codant pour le fimbria P ou pour le cytotoxique necrotizing factor 1. Certains gènes peuvent posséder deux PAI contenant chacun une copie d'opéron hly (Hacker 2000).

Les gènes présents sur l'opéron ont des rôles spécifiques :

- Le gène HlyA code pour le précurseur inactif de l'hémolysine.
- Le gène HlyC code pour une acyltransférase qui permet l'activation de l'hémolysine en acylant deux lysines de Hly aux positions 564 et 690.
- HlyB est une protéine de liaison à l'ATP qui interagit avec HlyD.
- HlyD est une protéine de la membrane interne.

Ensemble HlyB et HlyD permettent la sécrétion de l'hémolysine par le système de sécrétion de type 1 avec l'aide de TolC, une protéine du transport membranaire non spécifique à l'hémolysine tel que schématisé sur la figure 1.12 (Smith, Weingarten et al. 2015). Les gènes codant pour l'hémolyse RTX semblent liés à ceux codant les fimbriae P (Hight 1987).

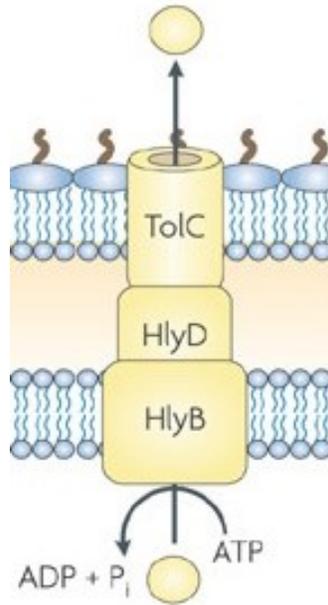


Figure 1.12 : Sécrétion de type 1 de HlyA (Fronzes, Christie et al. 2009).

L'hémolysine est produite par environ 50 % des UPECs (Smith, Weingarten et al. 2015).

Cytotoxic necrotizing factor type 1 (cnf1)

Chez *E. coli* il existe aussi trois différents facteurs cytotoxiques nécrosants (CNF) : de type 1 (Cnf1), de type 2 (Cnf2) et de type 3 (Cnf3).

CNF1, CNF2 et CNF3 sont des protéines faisant entre 110 et 115 kDA et ayant un domaine catalytique composé d'histidine, de cystéine et de valine. Les gènes codant pour CNF1 se trouvent sur le chromosome (Boquet 2001).

La toxine CNF est capable de déréguler plusieurs processus cellulaires tels que la forme des cellules, la motilité, la formation des adhésions, l'endocytose, le cycle cellulaire, le trafic vésiculaire et l'apoptose. Elle y parvient en enlevant (en désaminant) un résidu glutamine de RhoA. RhoA fait partie de la famille des GTPases Rho impliqués dans la transduction de signal via le cytosquelette (Smith, Weingarten et al. 2015). CNF1 entre dans les cellules hôtes via des vésicules de la membrane externe (Smith, Weingarten et al. 2015).

CNF1 est produit par environ 40% des UPECs. 90% des UPECs ayant CNF1 produisent aussi Hly, particulièrement lors d'infections urinaires hémorragiques. CNF1 cause l'inflammation de la vessie.

1.2.5 Sidérophores

Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire (500 à 1500 Daltons) ayant une forte affinité pour le fer ferrique (fer oxydé). Les sidérophores sont des chélateurs de fer et permettent l'obtention de fer par la bactérie, ce qui est requis pour ses besoins physiologiques. Le fer étant essentiel à plusieurs processus cellulaires, l'action des sidérophores peut entraîner la mort cellulaire. Les sidérophores sont des facteurs de virulence essentiels dans la plupart des bactéries pathogènes à Gram négatif (Garenaux, Caza et al. 2011, Holden and Bachman 2015).

Le fer est nécessaire à la bactérie, cependant il est difficile d'accès. Le fer ferreux (Fe^{2+}) étant toxique et le fer ferrique (Fe^{3+}) insoluble, il n'y a que très peu de fer libre disponible chez l'hôte infecté. Les bactéries sont donc en compétition entre elles pour le capturer, mais aussi en compétition avec les systèmes de défense de l'hôte tels que la transferrine et la lactoferrine (Holden and Bachman 2015).

Plus de 500 sidérophores ont été identifiés à ce jour. Les pathogènes peuvent posséder plusieurs sidérophores grâce au transfert horizontal. La présence de sidérophores augmente la virulence d'une souche. La diversité structurelle des sidérophores permet également d'évader les facteurs immunitaires de l'hôte. Cette diversité permet aussi une spécialisation des fonctions de séquestration de fer et autres métaux. Cette spécialisation de rôles pourrait avoir un impact sur la virulence et la pathogenèse des infections bactériennes (Holden and Bachman 2015).

Il existe trois familles majeures de sidérophores : les catécholates, les hydroxamates et les carboxylates. Si on classe ces sidérophores par rapport à leur affinité pour le fer ferrique, on aura, par affinité décroissante : les catécholates puis les hydroxamates et enfin les carboxylates. Dans un environnement à pH acide, les capacités de chélation de Fe^{3+} des sidérophores carboxylates augmentent tandis que celles des hydroxamates et des catécholates restent protonés. Il existe aussi des sidérophores de « type mixte », c'est-à-dire possédant des éléments de deux des familles de sidérophores (Holden and Bachman 2015).

Malgré leurs différences, tous les systèmes de sidérophores sont constitués de composants permettant les étapes spécifiques, nécessaires, à l'absorption du fer.

Ces étapes sont aux nombres de cinq :

- 1) Synthèse
- 2) Export
- 3) réception des complexes fer-sidérophores sur la membrane extérieure
- 4) internalisation
- 5) libération du fer dans le cytoplasme de la bactérie (Garenaux, Caza et al. 2011).

L'expression des gènes codant pour des sidérophores peut être inhibée par le régulateur Fur. Celui-ci se lie empêche la transcription des gènes en se liant à l'ADN lorsqu'il se trouve dans un environnement contenant une forte présence de fer (Lorenzo 2014).

Salmochélines

Les salmochélines (Sal) sont des sidérophores catécholates. Salmochéline est un dérivatif glycosylé du sidérophore entérobactine (Ent) (voir figure 1.13) (Garenaux, Caza et al. 2011, Holden and Bachman 2015).

L'ajout d'un à trois groupes de glucose à l'entérobactine, créant des salmochélines, permet de contrecarrer la défense de l'hôte par la lipocaline 2 (Lcn2), aussi appelé siderocalin ou neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) (Caza, Lepine et al. 2008). Lcn2 est une protéine, sécrétée par les cellules épithéliales et les neutrophiles de l'hôte, qui est capable de se lier à Ent et de le séquestrer, l'empêchant ainsi de se lier à la bactérie (Holden and Bachman 2015).

La production de Sal, en plus d'Ent, a une autre utilité. En effet la forte affinité d'Ent pour les membranes lui permet de les partitionner et donc de piéger le fer intracellulaire de manière effective. En revanche, cela le rend peu efficace pour piéger le fer extracellulaire par rapport à Sal dont la conformation diminue son l'affinité aux membranes et lui permet donc de piéger le fer extracellulaire (Holden and Bachman 2015).

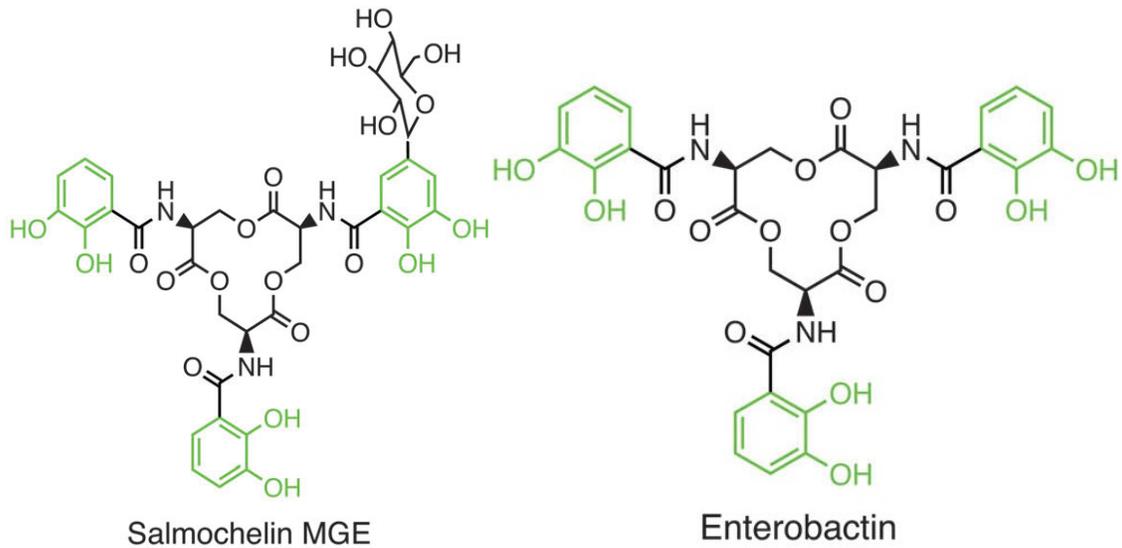


Figure 1.13 : Structures chimiques des sidérophores Salmochéline et Entérobactine. (Holden and Bachman 2015)

Les gènes codants pour Sal se trouvent sur des plasmides, en particulier le plasmide CoIV, ainsi que sur des îlots de pathogénicité. Sal ne peut être exprimé que si les gènes codant pour la synthèse de l'Ent, codés sur le chromosome, sont fonctionnels (Lorenzo 2014).

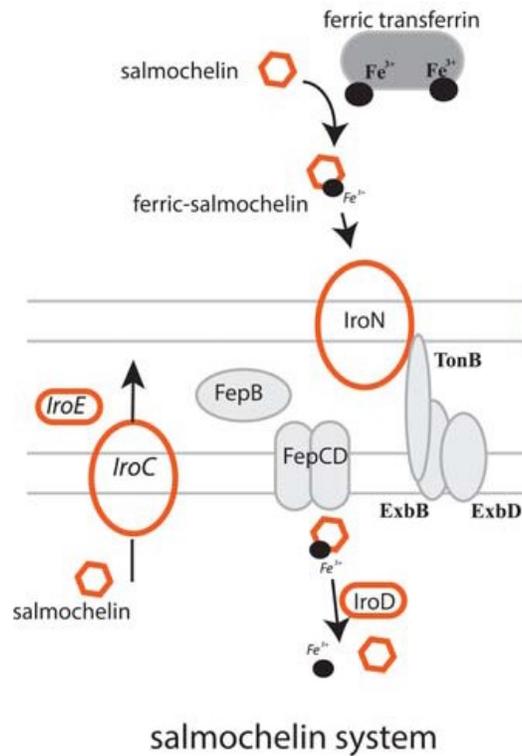


Figure 1.14 : Schéma représentant l'export des Salmochélines et l'import du complexe Salmochéline-Fe³⁺. (Lorenzo 2014)

La transformation de Ent en Sal, puis l'import, l'export et l'activité de Sal sont encodés dans le groupe de gènes *iroA* et plus précisément par le gène *iroB* (Garenaux, Caza et al. 2011, Holden and Bachman 2015). Le locus *iroA* code pour cinq gènes : *iroB*, *iroC*, *iroD*, *iroE* et *iroN*.

IroN est un récepteur présent sur la membrane externe et permet l'absorption du complexe Sal-Fe³⁺. Il peut aussi reconnaître d'autres sidérophores.

IroC est une pompe à efflux de la membrane interne permettant l'export de sidérophores sans fer.

IroB est une glycosyltransférase. Elle est responsable de la transformation d'Ent en Sal par glycosylation.

IroD et IroE permettent la libération du fer du complexe Sal-Fe³⁺ par hydrolyse. IroD se trouve dans le cytoplasme tandis qu'IroE se trouve dans le périplasme. IroE est une estérase permettant la linéarisation de molécules cycliques (Lin, Fischbach et al. 2005, Caza, Lepine et al. 2008, Caza, Garenaux et al. 2015).

Le processus d'export des salmochélines est schématisé sur la figure 1.14.

La dégradation des complexes sidérophore-fer est nécessaire pour libérer le fer dans la cellule (Caza, Garenaux et al. 2015). Il existe une autre estérase, Fes, capable de dégrader Ent et Sal et libérer le fer.

Yersiniabactine

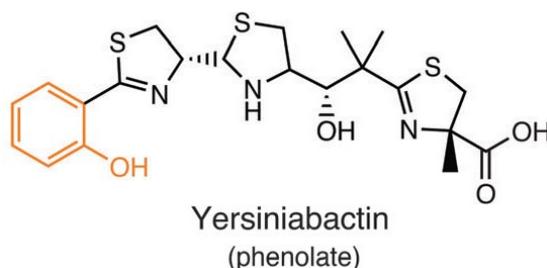


Figure 1.15 : Structures chimiques du sidérophore Yersiniabactine. (Holden and Bachman 2015)

Le yersiniabactine (Ybt) est un sidérophore de « type mixte » ayant une affinité modérée pour le fer ferrique. Ybt n'est pas une cible de Lcn2. Ybt est capable de se lier aux ions Cu²⁺, cette liaison permet une augmentation de la résistance des *E. coli* uropathogéniques au cuivre, et diminue donc la toxicité de celui-ci. On trouve dans l'urine de personnes infectées par des

UPECs une plus grande proportion de complexes Ybt-Cu²⁺ que de complexe Ybt-Fe. Le complexe Ybt-Cu²⁺ permet aussi de transformer les radicaux d'oxygène en une forme plus stable, cette capacité permet la survie de certaines bactéries extracellulaires telle que les UPECs dans un environnement intracellulaire (Holden and Bachman 2015).

Ybt est aussi capable d'inhiber la production de dérivés réactifs de l'oxygène dans les cellules immunitaires telles que les neutrophiles et les macrophages (Holden and Bachman 2015).

Enfin, Ybt est important pour la colonisation de la vessie et des reins lors d'une UTI causée par une souche d'*E. coli* uropathogène (Holden and Bachman 2015).

Aérobactine

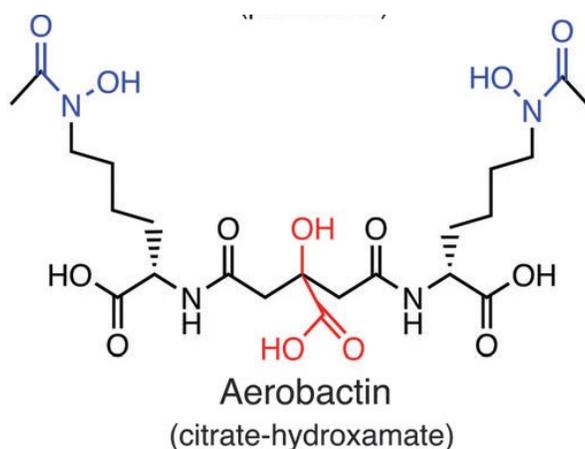


Figure 1.16 : Structures chimiques du sidérophore Aérobactine. (Holden and Bachman 2015)

Tout comme Ybt, l'aérobactine (Aer) est un sidérophore de « type mixte » et n'est pas une cible de Lcn2 (Caza, Lepine et al. 2008, Holden and Bachman 2015). On peut trouver Aer sur des plasmides, en particulier les plasmides colV, ainsi que sur des îlots de pathogénicité (Lorenzo 2014).

Le système Aer est composé de cinq gènes : *iucA*, *iucB*, *iucC*, *iucD* et *iutA*. Les gènes *iucABCD* permettent la biosynthèse de l'Aer à partir de lysine et citrate. *iutA* code pour le récepteur de la membrane externe qui est requis pour l'importation de l'aérobactine dans le périplasme (Caza, Lepine et al. 2008, Garenaux, Caza et al. 2011, Lorenzo 2014).

La figure 1.17 schématise l'import du complexe Aérobactine-Fe³⁺.

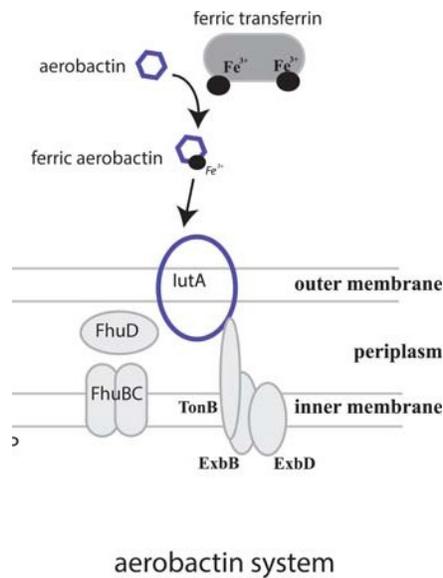


Figure 1.17 : Schéma représentant l'import du complexe Aéro bactéine-Fe³⁺. (Lorenzo 2014)

Aer est efficace pour délivrer le fer à la bactérie. Au contraire de Ent, Aer a une affinité pour capter le fer provenant des cellules de l'hôte plutôt qu'auprès des féroprotéines de l'hôte comme la transferrine. Cette capacité de Aer peut expliquer pourquoi les souches invasives de bactéries sont plus susceptibles de sécréter Aer que Ent bien que ce dernier ait une affinité au fer supérieure (Brock 1991).

Aer est lui aussi capable d'inhiber la production de dérivés réactifs de l'oxygène dans les neutrophiles et les macrophages, mais de façon moins efficace que Ybt (Holden and Bachman 2015).

Enfin, Aer est important pour la colonisation de la vessie et des reins lors d'une UTI causée par une souche d'*E. coli* uropathogène (Holden and Bachman 2015). On retrouve le système d'aéro bactéine chez la plupart des souches APECs (Caza, Lepine et al. 2008).

2 PROBLÉMATIQUE

Les infections du tractus urinaire (UTI) sont une des maladies infectieuses les plus fréquentes dans le monde, environ 60 % des femmes auront au moins une infection urinaire au cours de leur vie et 80 % des infections du tractus urinaire sont causées par des *E. coli* uropathogènes.

Les UTI peuvent causer des infections localisées dans :

- La vessie (cystite)
- Les reins (pyélonéphrite)
- Le sang (bactériémie)

La spécificité et la virulence d'une souche UPEC sont définies par les facteurs de virulence présents dans le génome de la souche. Différents facteurs de virulence auront différents rôles dans la colonisation et l'infection proprement dite. Certains facteurs de virulence sont spécifiques aux UPEC, mais on peut aussi retrouver, dans le cas d'infections urinaires, des souches possédant des facteurs de virulence spécifiques aux APEC notamment en raison de transfert de gènes.

Le génotype d'une souche dépend des transferts de gènes ayant eu lieu. Ces transferts dépendent de l'environnement microbiologique où se trouve la souche et donc de sa localisation géographique. Les facteurs de virulence présents dans les souches dépendent donc de la région géographique où elles se trouvent.

Une région de virulence unique a été identifiée sur un plasmide ColV dans notre laboratoire lors du séquençage d'une souche APEC isolée d'un cas de colibacillose chez la dinde. Cette région code pour trois différents facteurs de virulence étudiés dans notre laboratoire :

- Un nouveau fimbria
- Un nouveau autotransporteur
- Une nouvelle toxine RTX

Deux nouveaux autotransporteurs (A et B) ont été, eux aussi, trouvés sur le chromosome de cette même souche.

Le premier but de ce projet est de caractériser de façon génotypique et phylogénétique 697 souches provenant de personnes atteintes d'infection urinaire en Guadeloupe.

Le second but est d'étudier les relations entre les groupes phylogénétiques des souches, leurs facteurs de virulence, les spécificités de l'infection et les particularités des personnes infectées.

Pour cela nous allons :

- 1) Caractériser le groupe phylogénétique de chacune des souches grâce à des PCR (Polymerase Chain Reaction : Réaction en chaîne par Polymérase) multiplexes.
- 2) Vérifier l'activité hémolytique de ces souches par croissance sur gélose de sang.
- 3) Cribler des gènes de virulences connus ainsi que les nouveaux facteurs de virulence étudiés dans notre laboratoire grâce à des PCR multiplexes .
- 4) Étudier les relations entre groupes phylogénétiques des souches, facteurs de virulence, spécificités de l'infection et spécificité des personnes infectées à l'aide de tests statistiques (khi2, Fisher, ...).

3 MATÉRIELS ET MÉTHODES

3.1 *Souches étudiées*

Notre étude porte sur 697 souches *d'Escherichia coli* uropathogènes provenant de Guadeloupe. Les souches ont été prélevées par des laboratoires ou des hôpitaux sur une période de dix-sept mois. Elles sont toutes responsables d'infections urinaires communautaires ou hospitalières.

Les souches UPEC sont étalées sur des géloses de milieu LB (Lysogeny Broth) et mises à pousser pendant la nuit à 37 °C.

On prépare ensuite des bouillons de culture dans des tubes de 13 mL. On met 3 mL de milieu LB liquide, auquel on ajoute 3 colonies provenant des cultures sur gélose de milieu LB. Les bouillons de culture sont ensuite mis à pousser pendant la nuit à 37 °C sans agitation.

On prépare ensuite des lysats. Pour cela :

- On prélève 125 µL de bouillon de culture que l'on met dans un tube eppendorf.
- On centrifuge le tube 2 minutes à une vitesse de 14.8 min⁻¹ (rpm).
- On enlève le surnageant.
- On ajoute 25 µL de NaOH (à 0.5 M) au culot.
- On attend 10 minutes.
- On ajoute 25 µL de Tris avec une concentration de 1 M et un pH de 7.5.
- On ajoute 450 µL d'eau milliQ stérile (eau purifiée).

Les lysats sont ensuite préservés à -30 °C.

3.2 *Caractérisation des groupes phylogénétiques*

Les groupes phylogénétiques de chacune des souches sont déterminés grâce à la méthode de Clermont (Clermont, Christenson et al. 2013). Des PCR multiplexes sont effectuées sur chacune des souches afin de détecter les gènes *chuA*, *yjaA* et *arpA* ainsi que le fragment d'ADN TSPE4.C2.

Tableau 3.1 : Séquences des amorces utilisées et tailles des produits PCRs. (Clermont, Christenson et al. 2013)

Gène criblé	Noms des amorces	Séquences des amorces	Tailles des produits PCR (pb)
<i>chuA</i>	chuA.1b	5'-ATGGTACCGGACGAACCAAC-3'	288
	chuA.2	5'-TGCCGCCAGTACCAAAGACA-3'	
<i>yjaA</i>	yjaA.1b	5'-CAAACGTGAAGTGTCAGGAG-3'	211
	yjaA.2b	5'-AATGCGTTCCTCAACCTGTG-3'	
<i>arpA</i>	AceJ.f	5'-AACGCTATTCGCCAGCTTGC-3'	400
	ArpA1.r	5'-TCTCCCCATACCGTACGCTA-3'	
TSPE4.C2	TspE4C2.1b	5'-CACTATTCGTAAGGTCATCC-3'	152
	TspE4C2.2b	5'-AGTTTATCGCTGCGGGTCGC-3'	

La présence ou l'absence de ces gènes, ou fragments d'ADN, permet de déterminer le groupe phylogénétique auquel appartiennent les souches tel que présenté sur la figure ci-dessous.

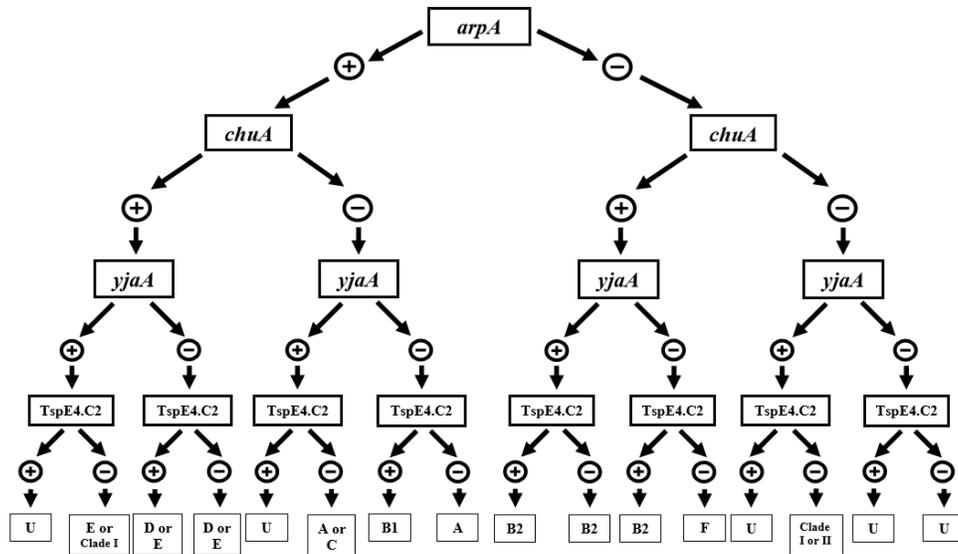


Figure 3.1 : Arbre permettant de trouver le groupe phylogénétique des souches selon le résultat des PCRs. (Clermont, Christenson et al. 2013)

Dans le cas où il existe une possibilité entre deux groupes phylogénétiques ou un groupe phylogénétique et un clade, il est nécessaire d'effectuer une seconde PCR :

- En criblant pour le gène TrpA pour détecter les souches appartenant au groupe phylogénétique C.
- En criblant pour le gène ArpA pour détecter les souches appartenant au groupe phylogénétique E.

Pour chacune de ces PCR, des amorces, codant elles aussi pour ArpA, sont utilisées comme contrôle interne.

Tableau 3.2 : Séquences des amorces utilisées et tailles des produits PCRs. (Clermont, Christenson et al. 2013)

Gène criblé	Noms des amorces	Séquences des amorces	Tailles des produits PCR (pb)
<i>trpA</i>	trpAgpC.1	5'-AGTTTTATGCCAGTGCGAG-3'	219
	trpAgpC.2	5'-TCTGCGCCGGTCACGCC-3'	
<i>arpA</i>	ArpAgpE.f	5'-GATTCCATCTTGTCAAATATGCC-3'	301
	ArpAgpE.r	5'-GAAAAGAAAAAGAATTCCCAAGAG-3'	
<i>arpA</i> (contrôle interne)	trBA.f	5'-CGGCGATAAAGACATCTTCAC-3'	489
	trBA.r	5'-GCAACGCGGCCTGGCGGAAG-3'	

Les souches pour lesquelles le résultat est inconnu (U) ou offre la possibilité entre Clade I et Clade II devront être identifiées par MLST.

Pour une réaction, le mix PCR est le suivant (pour un volume de 25 µL):

- 4.25 µL d'eau milliQ
- 2.5 µL (1X) de taq reaction buffer
- 2.5 µL (2 mM) de MgSO₄
- 0.5 µL (0.2 mM) de dNTPs
- 1.25 µL (0,5 µM) pour les amorces chuA.1b, chuA.2, yjaA.1b, yja.2b, TspE4C2.1b, TspE4C2.2b, ArpAgpE.f, ArpAgpE.r, trpAgpC.1, trAgpC.2.
- 2.5 µL (1 µM) pour les amorces AceK.f et ArpA1.r.
- 0.7 (0,3) µM pour les amorces trpBA.f et trpBA.r
- 2.5 µL de lysat
- 0.25 µL (1,25 U) pour la taq DNA polymerase.

Les concentrations initiales sont les suivantes :

- Primer : 10 mM
- dNTPs : 10 mM
- taq reaction buffer : 10X
- MgSO₄a : 20 mM
- taq DNA polymérase : 125 U

Les réactions PCR sont effectuées selon le programme suivant :

1. 2 minutes à 94 °C pour la dénaturation initiale,
2. 30 cycles de :
 - a. 30 secondes à 95 °C pour la dénaturation,
 - b. 40 secondes à 59 °C pour le quadruplex et le groupe C (57°C pour le groupe E) pour l'hybridation,
 - c. 30 secondes à 72 °C pour l'élongation.
3. 7 minutes à 72°C pour l'élongation finale.

Les produits de la PCR sont analysés sur gel d'agarose à 1,5 %.

3.3 ***Test d'hémolyse***

Pour tester l'hémolyse des souches, 15 µl de chacun de leur lysat sont déposés sur une gélose de sang de mouton. Les géloses sont ensuite mises à incuber à 37 °C pendant 24 heures. On observe ensuite s'il y a ou non formation d'un halo transparent autour du dépôt de lysat, la présence d'un halo démontrant l'hémolyse.

Les souches sont ensuite incorporées en groupes de dix selon leurs groupes phylogénétiques et si oui ou non elles font de l'hémolyse.

3.4 Virotypage

Des PCR multiplex sont effectuées sur les groupes. Les facteurs de virulence testés sont les suivants :

- Multiplexe 1: cytotoxic necrotizing factor type 1 (*cnf1*), secreted autotransporter toxin (*sat*) et thermo-sensitive hemagglutinin (*tsh*). Témoin positif: UTI89 + χ 7122 + CFT073, témoin négatif : MG1655.
- Multiplexe 2 : adhesin P-fimbria (*papG* II et III), aerobactin biosynthesis receptor (*iucD*) et nouvel autotransporteur (*AT_screening*). Témoin positif : CFT073 + BEN1731, témoin négatif : MG1655.
- Multiplexe 3 : yersiniabactin outer membrane receptor (*fyuA*), F1C fimbrial adhesin (*focG*) et nouveau RTX (*RTX_screening*). Témoin positif : CFT073 + BEN1731, témoin négatif : MG1655.
- Multiplexe 4 : P fimbria subunit (*papA*), salmochelin glycosyltransferase (*iroB*), yersiniabactin biosynthesis protein (*irp*) et nouveau fimbria 2 (*Adhesin_screening*). Témoin positif : CFT073 + BEN1731, témoin négatif : MG1655.
- Multiplexe 5 : S-fimbria adhesin (*sfaS*), vacuolating autotransporter (*vat*) et nouveau fimbria 1 (*Majorsubunit_screening*). Témoin positif : UTI89 + BEN1731, témoin négatif : MG1655.
- Multiplexe 6 : salmochelin outer membrane receptor (*iroN*) et aerobactin outer membrane receptor (*iutA*). Témoin positif : Nissle1917, témoin négatif : MG1655.
- Multiplexe 7 : hemolysin RTX (*hlyA*). Témoin positif : CFT073, témoin négatif : MG1655.
- Multiplexe 8 : autotransporteur A (AT A) et autotransporteur B (AT B). Témoin positif : BEN1731, témoin négatif : MG1655.

Tableau 3.3 : Séquences des amorces utilisées et tailles des produits PCR

Gène criblé	Noms des amorces	Séquences des amorces	Tailles des produits PCR (pb)
<i>cnf1</i>	Cnf1	5'-aagatggagtttctatgcaggag-3'	498
	Cnf2	5'-cattcagagtctgcctcattatt-3'	
<i>sat</i>	SAT F	5'-ggattgatatctccggtgaac-3'	779
	SAT R	5'-atagccgcctgacatcagtaat-3'	
<i>tsh</i>	anti-tsh ORF2 S	5'-ggatgccctgcagcgt-3'	304
	anti-tsh ORF2 AS	5'-ccgtacacaaatacgacgg-3'	

<i>papG II/III</i>	pF f	5'-ctgtaattacggaagtgatttctg-3'	1070
	pG r	5'-actatccggctccggataaacat-3'	
<i>iucD</i>	iucD f	5'-aaaactgacatcggatggc-3'	253
	iucD r	5'-gtattgtggcaacgcagaa-3'	
<i>AT_screening</i>	AT_screening_F	5'-gcctgaacatcggctcaaga-3'	692
	AT_screening_R	5'-tcagaactcatatcgaataccgac-3'	
<i>fyuA</i>	FyuA f'	5'-tgattaaccccgcgacgggaa-3'	880
	FyuA r'	5'-cgcagtaggcacgatgttgta-3'	
<i>focG</i>	FocG f	5'-cagcacaggcagtgatacga-3'	360
	FocG r	5'-gaatgtcgcctgccattgct-3'	
<i>RTX_screening</i>	RTX_Screening_Fv2	5'-gcaaaagatgctatcgccgtg-3'	288
	RTX_Screening_Rv2	5'-cgttcactggctacgttcag-3'	
<i>papA</i>	PapA f	5'-atggcagtggtgtctttggtg-3'	720
	PapA r	5'-cgtcccaccatacgtgytcttc-3'	
<i>iroB</i>	iroB f	5'-ggtctggattccgaagctgg-3'	359
	iroB r	5'-agaatgctcatactcggcgg-3'	
<i>irp</i>	IRP2_S	5'-cgctgttaccggacaaccg-3'	275
	IRP2_AS	5'-gggcagcgttcttctccg-3'	
<i>Adhesin_screening</i>	Adhesin_screening_F	5'-tgtggccgtggtattctgtg-3'	457
	Adhesin_screening_R	5'-ccaaagtcaaggagggggtg -3'	
<i>sfaS</i>	SfaS f	5'-gtggatacgcgattactgtg-3'	240

	SfaS r	5'-ccgccagcattccctgtattc-3'	
<i>vat</i>	VAT F	5'-aacggttggtggcaacaatcc-3'	420
	VAT R	5'-agccctgtagaatgscgagta-3'	
<i>Majorsubunit_screening</i>	Majorsubunit_screening_F	5'-atgatgaaatcggttcttggcgt-3'	485
	Majorsubunit_screening_R	5'-tcacctcttcaaagtacctccc-3'	
<i>iron</i>	IRON1	5'-tattcgtggtatggggccgga-3'	547
	IRON2	5'-gcccgcatagatattccctg-3'	
<i>iutA</i>	AerJ f	5'-ggctggacatcatgggaactgg-3'	300
	AerJ r	5'-cgtcgggaacgggtagaatcg-3'	
<i>hlyA</i>	Hly f	5'-aacaasgataagcactgttctggct-3'	1177
	Hly r	5'-accatataagcggtcattccrca-3'	
<i>wAT A</i>	ATc59Adeg_F	5'-tcgwtgwggrcgggrackc-3'	333
	ATc59Adeg_R	5'-ggtgyatckrcatctwggtt-3'	
<i>AT B</i>	ATc59Bdeg_F	6'-gacagcggttccggrttt-3'	580
	ATc59Bdeg_R	5'-grccactggcaacatagata-3'	

Pour une réaction, le mix PCR est le suivant (pour un volume de 25 µL):

- 4.25 µL d'eau milliQ
- 2.5 µL (1X) de taq reaction buffer
- 2.5 µL (2 mM) de MgSO₄
- 0.5 µL (0.2 mM) de dNTPs
- 1 µL (0.4 µM) pour les amorces sauf :
 - o PGf et PGr, 1.5 µL (0.6 mM)
 - o iucD f, iucD r, At_screening_F et AT_screening_R, 0.75 µL (0.3 mM)
- 2.5 µL de lysat
- 0.25 µL (1,25 U) pour la taq DNA polymerase.

Les concentrations initiales sont les suivantes :

- Primer : 10 mM
- dNTPs : 10 mM
- taq reaction buffer : 10X
- MgSO₄a : 20 mM
- taq DNA polymérase : 125 U

Les réactions PCR pour les multiplexes 1, 3 et 8 sont effectuées selon le programme suivant :

1. 2 minutes à 95 °C pour la dénaturation initiale,
2. 30 cycles de :
 - a. 30 secondes à 95 °C pour la dénaturation,
 - b. 40 secondes à 58 °C pour l'hybridation,
 - c. 30 secondes à 72 °C pour l'élongation.
3. 5 minutes à 72 °C pour l'élongation finale.

Les réactions PCR pour le multiplexe 2 sont effectuées selon le programme suivant :

1. 2 minutes à 95 °C pour la dénaturation initiale,
2. 35 cycles de :
 - a. 30 secondes à 95 °C pour la dénaturation,
 - b. 40 secondes à 56 °C pour l'hybridation,
 - c. 1 minute à 72 °C pour l'élongation.
3. 5 minutes à 72 °C pour l'élongation finale.

Les réactions PCR pour le multiplexe 4 sont effectuées selon le programme suivant :

1. 2 minutes à 95 °C pour la dénaturation initiale,
2. 35 cycles de :
 - a. 30 secondes à 95 °C pour la dénaturation,
 - b. 40 secondes à 58 °C pour l'hybridation,
 - c. 30 secondes à 72 °C pour l'élongation.
3. 5 minutes à 72 °C pour l'élongation finale.

Les réactions PCR pour le multiplexe 5 sont effectuées selon le programme suivant :

1. 2 minutes à 95 °C pour la dénaturation initiale,
2. 30 cycles de :
 - a. 30 secondes à 95 °C pour la dénaturation,
 - b. 40 secondes à 60 °C pour l'hybridation,
 - c. 30 secondes à 72 °C pour l'élongation.
3. 5 minutes à 72 °C pour l'élongation finale.

Les réactions PCR pour le multiplexe 6 sont effectuées selon le programme suivant :

1. 2 minutes à 95 °C pour la dénaturation initiale,
2. 30 cycles de :
 - a. 30 secondes à 95 °C pour la dénaturation,
 - b. 40 secondes à 62 °C pour l'hybridation,
 - c. 30 secondes à 72 °C pour l'élongation.
3. 5 minutes à 72 °C pour l'élongation finale.

Les réactions PCR pour le multiplexe 7 sont effectuées selon le programme suivant :

1. 2 minutes à 95 °C pour la dénaturation initiale,
2. 30 cycles de :
 - a. 30 secondes à 95 °C pour la dénaturation,
 - b. 40 secondes à 57 °C pour l'hybridation,
 - c. 1 minute à 72 °C pour l'élongation.
3. 5 minutes à 72 °C pour l'élongation finale.

Les réactions PCR pour le multiplexe 8, lorsque les amorces sont dégénérées, sont effectuées selon le programme suivant :

1. 2 minutes à 95 °C pour la dénaturation initiale,
2. 30 cycles de :
 - a. 30 secondes à 95 °C pour la dénaturation,
 - b. 40 secondes à 54 °C pour l'hybridation,
 - c. 30 secondes à 72 °C pour l'élongation.
3. 5 minutes à 72 °C pour l'élongation finale.

Les produits des PCR sont analysés sur gel d'agarose à 1,5 %.

Les souches appartenant à des groupes testés positifs sont ensuite re-testées de façon individuelle.

3.5 **Tests statistiques**

Plusieurs tests et analyses statistiques sont utilisés :

- Khi2
- Fisher
- Student
- Pearson

Pour chaque test, une valeur P sera calculée, celle-ci permettra de définir si le résultat obtenu peut être considéré comme statistiquement significatif. On considère comme statistiquement significatif tout résultat ayant une valeur P inférieure à 0.05. Plus la valeur P est petite, plus le résultat est significatif. Dans les graphiques on utilisera :

- « * » pour signifier une valeur P inférieure à 0.05.
- « ** » pour signifier une valeur P inférieure à 0.01.
- « *** » pour signifier une valeur P inférieure à 0.001
- « **** » pour signifier une p-value inférieurs à 0.0001.

3.5.1 **Khi 2 ou test de Fisher**

Le test du khi2 est utilisé pour déterminer si deux variables sont indépendantes l'une de l'autre. Le test de Fisher répond à la même question, mais est utilisé dans le cas de petits effectifs. Ces deux tests sont réalisés grâce au logiciel « GraphPad Prisme ».

Afin de réaliser ces tests, des tableaux de contingences sont utilisés tels que celui ci-dessous : la variable 2 est l'inverse de la variable 1 et la variable B est l'inverse de la variable A.

Tableau 3.4 : Exemple d'un tableau de contingence.

	Variable 1	Variable 2
Variable A	Sujets ayant variables A et 1.	Sujets ayant variables A et 2.
Variable B	Sujets ayant variables B et 1.	Sujets ayant variables B et 2.

3.5.2 Test de Student (ou test t)

Le test de Student, ou test t, est utilisé afin de comparer de façon statistique si deux variables sont égales lorsque l'on ne connaît pas leurs variances. On se sert de ce test afin de déterminer si deux moyennes, dont on connaît les données ayant servies à les calculer, sont statistiquement différentes.

3.5.3 Test de corrélation de Pearson

Le test de corrélation de Pearson permet de quantifier à quel degré deux variables sont liées. Une fois le test réalisé, on obtient un coefficient de corrélation « r » ainsi qu'une valeur P. Le coefficient de corrélation est compris entre -1 et 1. Un coefficient de 1 correspond à une corrélation positive parfaite, un coefficient de -1 correspond à une corrélation négative parfaite (ou corrélation inverse). Un coefficient de 0 correspond à une absence totale de corrélation. Un coefficient compris entre 0 et 1 correspond à des variables qui augmentent ou diminuent ensemble. Et un coefficient compris entre -1 et 0 correspond à des variables où l'une augmente lorsque l'autre diminue.

4 RÉSULTATS

4.1 *Distribution des infections urinaires*

Les souches d'*E. coli* uropathogéniques ont été récoltées sur 697 patients (on connaît l'âge et le sexe pour 628 d'entre eux).

Lorsque l'on étudie la provenance des souches, on s'aperçoit que 79% des personnes infectées (soit 496 personnes) sont des femmes contre 21% qui sont des hommes (soit 132 personnes).

Lorsque l'on étudie la moyenne d'âge des personnes infectées, on se rend compte qu'il existe une différence entre la moyenne d'âge des hommes et des femmes. Les hommes ont en moyenne 64.5 ans tandis que les femmes ont en moyenne 53.6 ans. Ce qui fait une différence de moyenne d'âge de plus de 10 ans. Cette différence est statistiquement significative, la p-value étant inférieure à 0.0001.

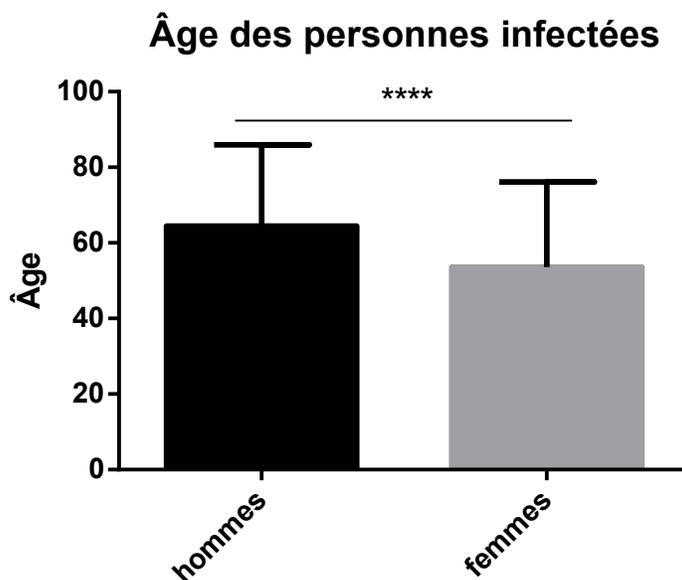


Figure 4.1 : Moyennes d'âge des personnes infectées

La moyenne d'âge générale est de 55.9 ans.

Sur les 181 personnes infectées pour qui on sait si elles présentent ou non des signes d'infections 74% présentaient des signes d'infection urinaire (soit 134 personnes).

Lorsque l'on observe le pourcentage de personnes présentant des signes d'infection urinaire selon que les personnes infectées soient des hommes ou des femmes, on ne relève pas de différence significative (la p-value est égale à 0.8299).

On observe aussi que 7% des personnes infectées souffrent d'une infection urinaire récurrente (soit 49 personnes). 13 d'entre elles sont des hommes, 36 sont des femmes.

Lorsque l'on compare de façon statistique (test de Fisher) la proportion de souches impliquées dans des infections récurrentes selon le sexe des personnes infectées, on n'observe aucune différence statistique (la p-value est égale à 0.3605).

28 des personnes infectées étudiées ont développé une infection urinaire dans les 12 mois suivant un séjour à l'hôpital.

Lorsque l'on observe les proportions de personnes infectées ayant séjournées à l'hôpital dans les 12 mois précédents l'infection, on remarque une différence, statistiquement significative, selon le sexe des personnes. Une plus grande proportion des infections ayant lieu chez les hommes (9.1%) que chez les femmes (3.2%) serait due à des infections ayant eu lieu durant un séjour à l'hôpital.

Tableau 4.1 : Tableau de contingence représentant les personnes infectées ayant séjournées ou non à l'hôpital dans les 12 mois précédant l'infection selon leur sexe.

	Hommes infectés	Femmes infectées
Personnes ayant séjournée à l'hôpital	12 (9.1 %)	16 (3.2 %)
Autres	120 (90.9 %)	480 (96.8 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0075.

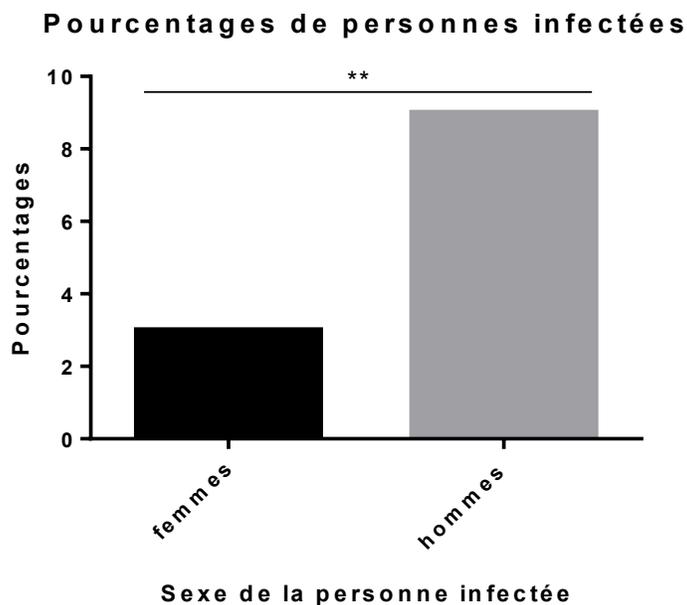


Figure 4.2 : Pourcentages des personnes infectées de chaque sexe ayant effectuées un séjour à l'hôpital au cours des 12 mois précédant l'infection.

Parmi les femmes infectées, 14 d'entre elles sont enceintes, soit 2.8 %

Lorsque l'on compare le pourcentage de femmes enceintes infectées présentant des signes d'infections urinaires avec celui de femmes non enceintes, on n'observe pas de différence statistiquement significative.

Tableau 4.2 : Tableau de contingence représentant les femmes montrant ou non des signes d'infection selon qu'elles soient enceintes ou non.

	Femmes infectées enceintes	Femmes infectées non enceintes
Signes d'infection urinaire	8 (57.1 %)	100 (70.9 %)
Aucuns signes d'infection urinaire	6 (42.9 %)	41 (29.1 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0037.

Sur les 697 infections urinaires étudiées, 39 d'entre elles résultent d'une infection hospitalière.

La comparaison du pourcentage des personnes infectées de chaque sexe, selon que ces infections soient communautaires ou hospitalières (test de Fisher), montre qu'il n'existe pas de différence significative (la p-value est égale à 0.0660).

4.2 *Distribution des groupes phylogénétiques*

Parmi les 697 souches étudiées on observe que :

- 72 sont de groupe phylogénétique A (10.3%)
- 53 sont de groupe phylogénétique B1 (7.6%)
- 386 sont de groupe phylogénétique B2 (55.4%)
- 18 sont de groupe phylogénétique C (2.6%)
- 96 sont de groupe phylogénétique D (13.8%)
- 14 sont de groupe phylogénétique E (2%)
- 48 sont de groupe phylogénétique F (6.9%)
- 2 appartiennent aux clades I ou II (0.3%)
- 8 n'ont pu être identifiées (1.1%).

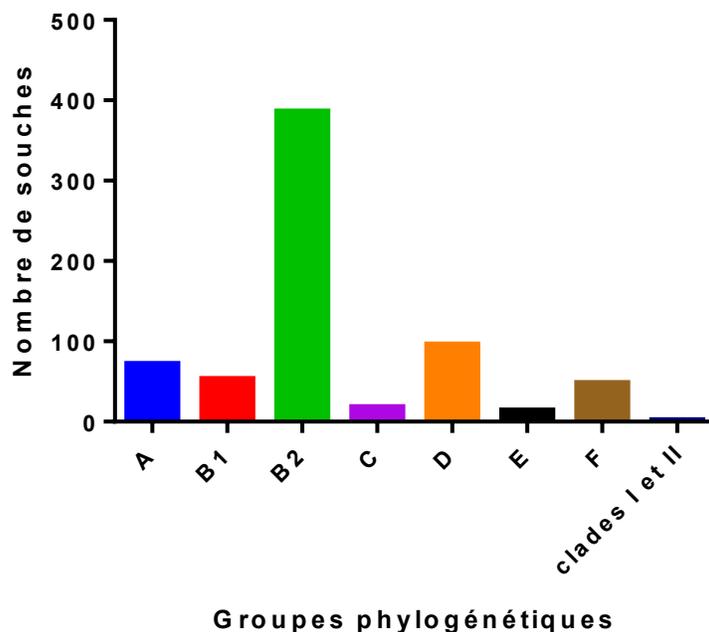


Figure 4.3 : Nombre de souches selon les groupes phylogénétiques

La majorité des souches appartiennent aux groupes phylogénétiques B2, D et A.

Lorsque l'on observe le groupe phylogénétique des souches selon leurs origine (communautaire ou hospitalière) on n'observe pas de différence significative (p-value de 0.613), la provenance d'une souche n'influe pas sur son groupe phylogénétique.

L'observation du groupe phylogénétique des souches en fonction de l'âge des personnes infectées, montre que celui-ci n'influence pas le groupe phylogénétique de la souche (p-value de 0.1763).

En revanche, lorsque l'on observe le groupe phylogénétique des souches selon le sexe des personnes infectées, on remarque une différence, statistiquement significative, dans le cas des groupes phylogénétiques A, B2 et D. Les souches infectant les hommes appartiennent, dans une plus grande proportion au groupe phylogénétique B2 (62.9%) que celles infectant les femmes (53%) tandis que les souches infectant les femmes appartiennent, dans une plus grande proportion aux groupes phylogénétiques A et D que celles infectant les hommes. Les groupes phylogénétiques A et D se retrouvent dans, respectivement, dans 11.5% et 15.1% des souches infectant les femmes contre, 5.3% et 8.3% dans les souches infectant les hommes.

Ci-dessous les tableaux de contingence pour les groupes phylogénétiques.

Tableau 4.3 : Tableau de contingence représentant les souches de groupe phylogénétique A selon le sexe des personnes infectées

	Souches infectant des femmes	Souches infectant des hommes
Souches de groupes phylogénétique A	57 (11.5 %)	7 (5.3 %)
Souches de groupes phylogénétiques autres	439 (88.5 %)	125 (94.7 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0358.

Tableau 4.4 : Tableau de contingence représentant les souches de groupe phylogénétique B2 selon le sexe des personnes infectées

	Souches infectant des femmes	Souches infectant des hommes
Souches de groupes phylogénétique B2	263 (53 %)	83 (62.9 %)
Souches de groupes phylogénétiques autres	233 (47 %)	49 (37.1 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0489.

Tableau 4.5 : Tableau de contingence représentant les souches de groupe phylogénétique D selon le sexe des personnes infectés

	Souches infectant des femmes	Souches infectant des hommes
Souches de groupes phylogénétique D	75 (15.1 %)	11 (8.3 %)
Souches de groupes phylogénétiques autres	421 (84.9 %)	121 (91.7 %)

Test de Fisher : p-value = de 0.0462.

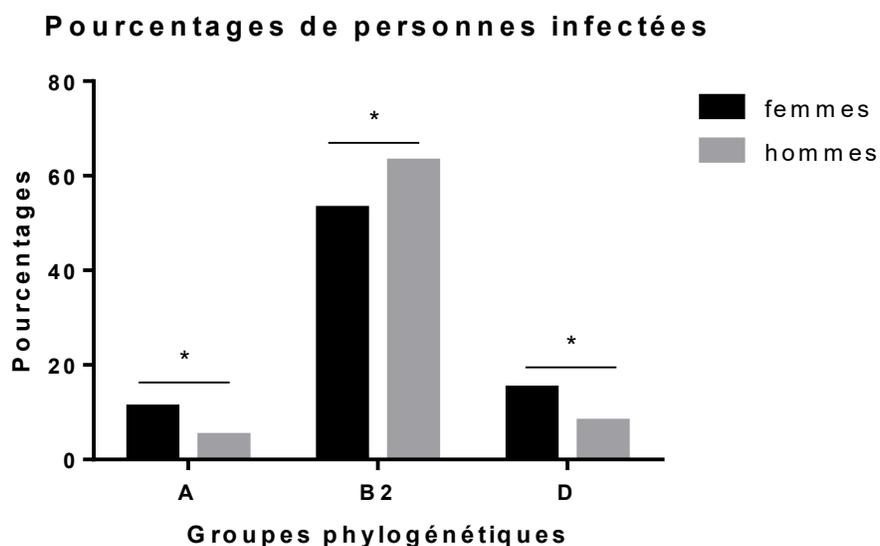


Figure 4.4 : Pourcentages de femmes et d'hommes infectés selon le groupe phylogénétique auquel appartient les souches responsable des infections.

4.3 *Hémolyse*

La production d'une zone de lyse sur gélose de sang nous révèle la capacité de 147 souches (21 %) à faire de l'hémolyse.

Lorsque l'on compare la capacité des souches à faire ou non de l'hémolyse selon les groupes phylogénétiques auxquels elles appartiennent (test de khi²), on observe une différence significative (p-value inférieure à 0.0001).

À l'exception du groupe phylogénétique B2 dont 35.5% des souches font de l'hémolyse (137 souches), les autres groupes ont, dans l'ensemble, moins de 6% de leurs souches faisant de l'hémolyse. L'activité hémolytique est donc surtout présente chez un sous-groupe de souches appartenant au groupe phylogénétique B2.

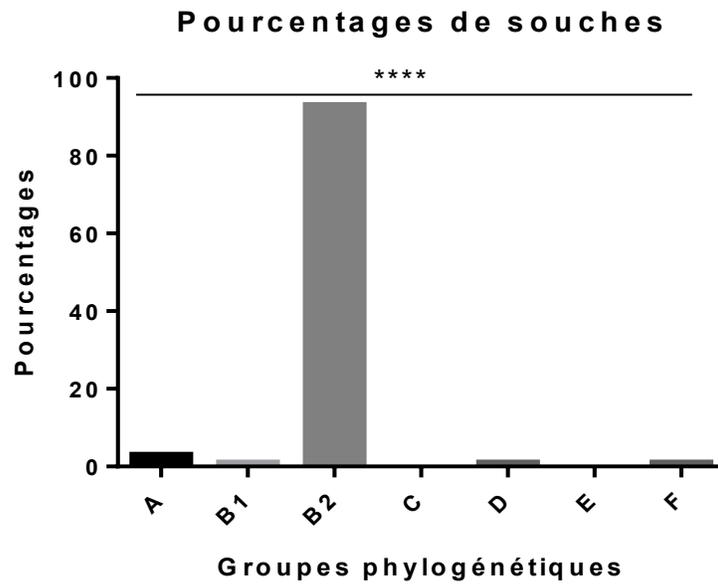


Figure 4.5 : Pourcentages de souches faisant de l'hémolyse selon le groupe phylogénétique auquel appartient la souche.

Les souches faisant de l'hémolyse sont distribuées ainsi :

- 2.7 % font partie du groupe phylogénétique A (4 souches).
- 0.7 % font partie du groupe phylogénétique B1 (1 souches).
- 93.2 % font partie du groupe phylogénétique B2 (137 souches).
- 0 % font partie du groupe phylogénétique C (0 souches).
- 0.7 % font partie du groupe phylogénétique D (1 souches).
- 0 % font partie du groupe phylogénétique E (0 souches).
- 0.7 % font partie du groupe phylogénétique F (1 souches).

La production d'hémolysine par une souche se traduit par la présence dans son génome du gène *hlyA* responsable de la production de la protéine.

4.4 *Virotypage*

Après le criblage des souches pour les 21 facteurs étudiés on obtient les résultats suivants :

Tableau 4.6 : Résultats obtenus après criblage de l'ensemble des gènes.

Facteurs de virulence	Gènes	Nombre de souches	Pourcentages (%)
Yersiniabactine	<i>irp</i>	555	79.6
	<i>fyuA</i>	554	79.5
Aérobactine	<i>iutA</i>	349	50.1
	<i>iucD</i>	343	49.2
Vacuolating autotransporter	<i>vat</i>	333	47.8
Salmochelins	<i>iroN</i>	286	41.0
	<i>iroB</i>	281	40.3
Secreted autotransporter toxin	<i>sat</i>	218	31.3
Fimbria P	<i>papA</i>	216	31.0
	<i>papG II et III</i>	198	28.4
Hémolysine RTX	<i>hlyA</i>	167	24.0
Cytotoxic necrotizing factor type 1	<i>cnf1</i>	131	18.8
Fimbria F1C	<i>focG</i>	95	13.6
Autotransporteur B	<i>ATB</i>	80	11.5
Autotransporteur A	<i>ATA</i>	70	10.0

Fimbria S	<i>sfaS</i>	55	7.9
Temperature-sensible hemagglutinin	<i>tsh</i>	41	5.9
Nouvel autotransporteur	<i>AT_screening</i>	6	0.9
Nouvelle toxine RTX	<i>RTX_screening</i>	6	0.9
Nouveau fimbria 1	<i>majorsubunit_screening</i>	2	0.3
Nouveau fimbria 2	<i>adhesin_screening</i>	2	0.3

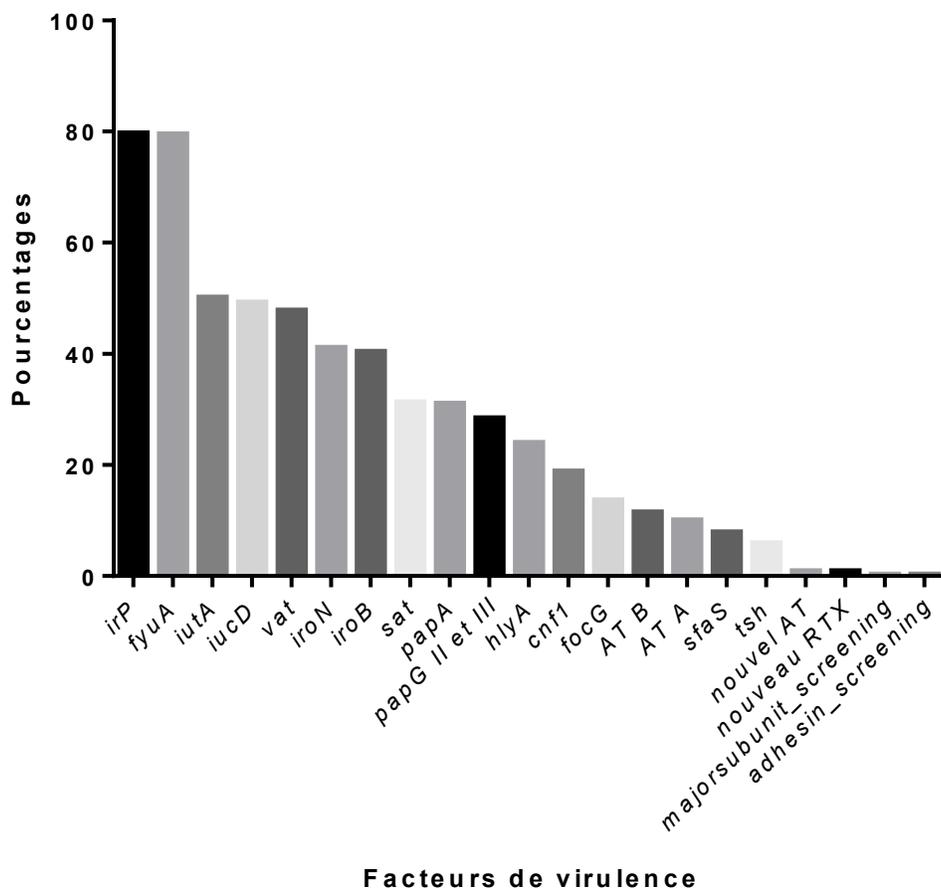


Figure 4.6 : Pourcentages de présence des facteurs de virulence dans l'ensemble des souches.

Les gènes que l'on retrouve le plus souvent dans les souches codent pour des sidérophores :

- 555 souches (79.6%) possèdent *irp* et 554 souches (79.5%) possèdent *fyuA*. Tous deux sont des facteurs de virulence codant pour des protéines du système du sidérophore yersiniabactine.
- 349 souches (50.1%) possèdent *iutA* et 343 souches (49.2%) possèdent *iucD*. Tous deux codent pour des protéines du système du sidérophore aérobactine.
- 286 souches (41%) possèdent *iroN* et 281 souches (40.3%) possèdent *iroB*. Tous deux codent pour des protéines du système du sidérophore salmochéline.

47.8 % des souches possèdent aussi le gène *vat*. On retrouve aussi les gènes suivants dans un assez grand nombre de souches : *sat* (31.3%) codant pour la « secreted autotransporter toxin », *papA* (31%) et *papG II/III* (28.4%) codant pour les fimbriae P, et *hlyA* (24%) codant pour l'hémolysine RTX.

Les autres facteurs de virulence sont présents en moindre quantité (moins de 20% des souches), on retrouve tout de même dans plus de 5% des souches les facteurs de virulence suivants : « cytotoxic necrotizing factor type 1 » (*cnf1*), le fimbria F1C (*focG*), les autotransporteurs A et B (*AT A* et *AT B*), le fimbria S (*sfaS*) et la « temperature-sensible hemagglutinin » (*tsh*).

Les autres facteurs de virulence (le nouvel autotransporteur, la nouvelle toxine RTX et les nouveaux fimbriae 1 et 2 codés sur un PAI du plasmide CoIV) sont très peu présents (moins de 1 %) parmi les souches.

4.4.1 Fimbriae

Pourcentage de souches codant pour des fimbriae

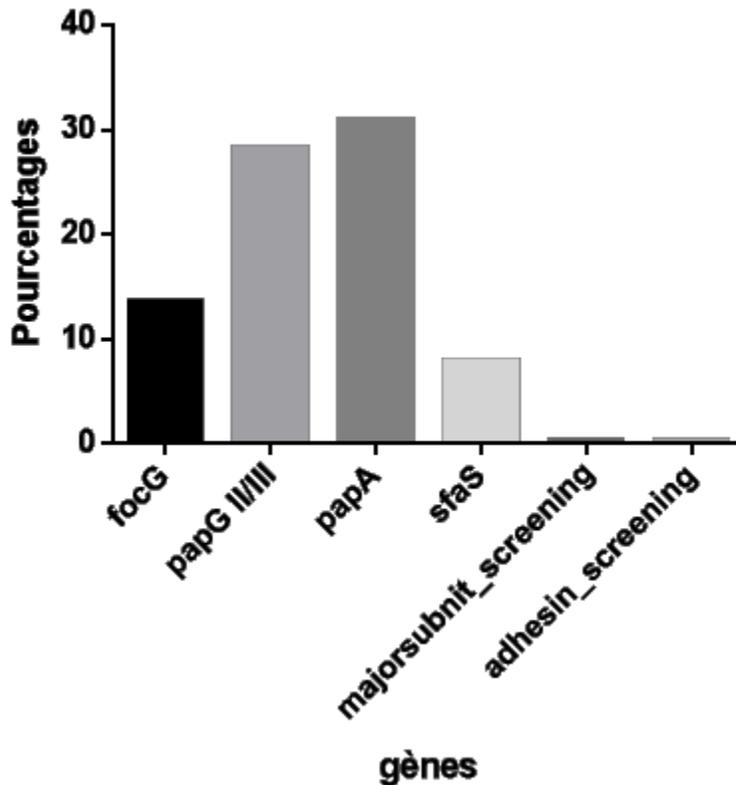


Figure 4.7 : Pourcentages de souches possédant des fimbriae.

On observe que les fimbriae les plus présents sont les fimbriae P. On trouve le gène *papG II/III* chez 28.3% des souches, soit 197 d'entre elles. Le gène *papA* se trouve dans 30.8% des souches soit 215 souches. On trouve ensuite les fimbriae F1C identifiés par le gène *focG* dans 13.6% des souches, ce qui correspond à 95 souches. On observe aussi la présence de fimbriae S, identifiés par le gène *sfaS*, dans 7.9% des souches soit 55 d'entre elles. Le fimbria S et le fimbria F1C sont donc peu présents dans les souches UPEC de Guadeloupe. Enfin on observe la présence de deux gènes codant pour un nouveau fimbria et cela en très faible quantité, 0.3 %, soit 2 souches.

Lorsque l'on observe plus particulièrement la présence ou non des gènes *papG II/III* et *papA* dans les souches, on s'aperçoit que 19.1% des souches possédant *papA* ne possèdent pas

papG, soit 41 souches, tandis que 11.7% des souches possédant *papG* ne possèdent pas *papA*, soit 23 souches. L'existence d'allèles *papA* et *papG* non criblés peut expliquer ces différences. Elles peuvent aussi être expliquées par la présence dans le génome de certaines souches de séquences partielles ou interrompues.

La présence de séquences codant pour certains des fimbriae est associée à certains groupes phylogénétiques : les probabilités d'avoir les différents fimbriae changent, de façon statistiquement significative (test de khi2 : p-value inférieure à 0.0001), selon le groupe phylogénétique auquel appartient la souche. Ceci n'est pas vrai pour les gènes codant pour le nouveau fimbria pour qui la probabilité de présence a une p-value de 0.980.

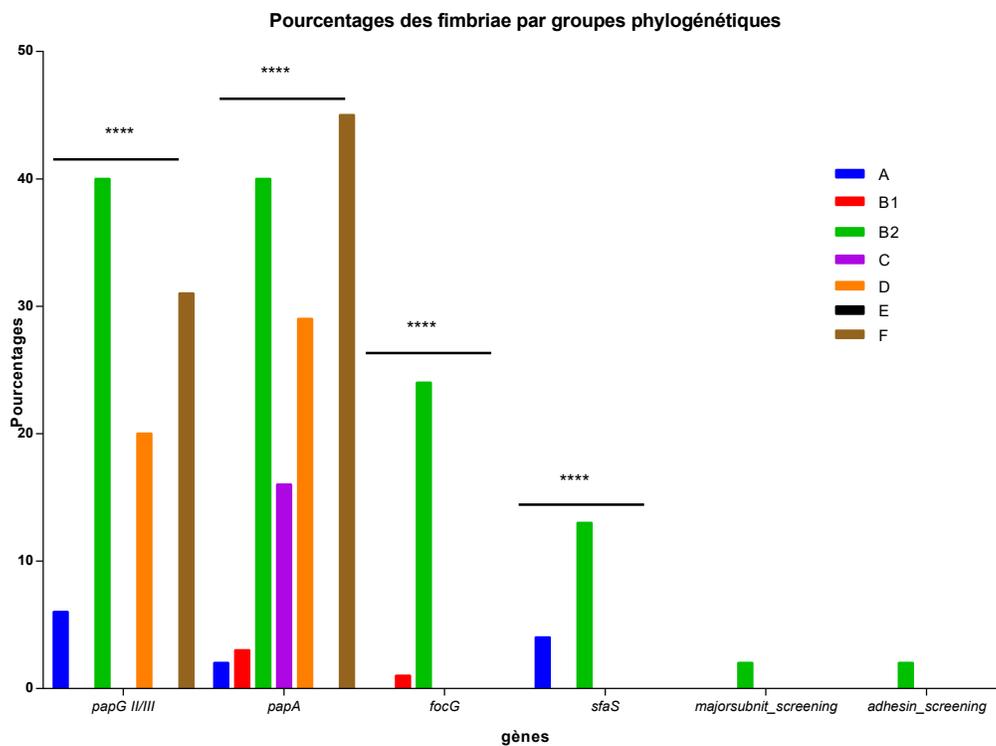


Figure 4.8 : Pourcentages de souches possédant des fimbriae et ce pour chaque groupe phylogénétique.

Lorsque l'on observe la distribution des fimbriae selon les groupes phylogénétiques, on s'aperçoit que :

- Les fimbriae P sont principalement présents dans les groupes phylogénétiques B2, D et F.
- Un certain nombre de gènes *PapA* sont présent dans les souches de groupe phylogénétique C.
- On retrouve les fimbriae FIC et S principalement dans le groupe phylogénétique B2 mais en quantité moindre que pour le fimbria P.
- Les gènes codant pour le nouveau fimbria ne sont présents que dans le groupe phylogénétique B2.

La comparaison de façon statistique (test de Fisher) des gènes codant pour les fimbriae selon que les souches sont d'origine communautaire ou hospitalière, ne montre aucune différence significative pour les gènes *focG* (p-value égale 0.6354), *sfaS* (p-value égale 0.5385) et *papA* (p-value égale à 0.0879) ainsi que pour les gènes codant pour le nouveau fimbria (p-value égale 1). Cependant, on note une différence significative pour *papG* (p-value égale à 0.0232) : le pourcentage de souches codant pour *papG* est supérieur pour les souches d'origine communautaire (29.2% soit 192 souches) par rapport aux souches d'origine hospitalière (15.4% soit 6 souches).

Pourcentages de souches possédant *papG*

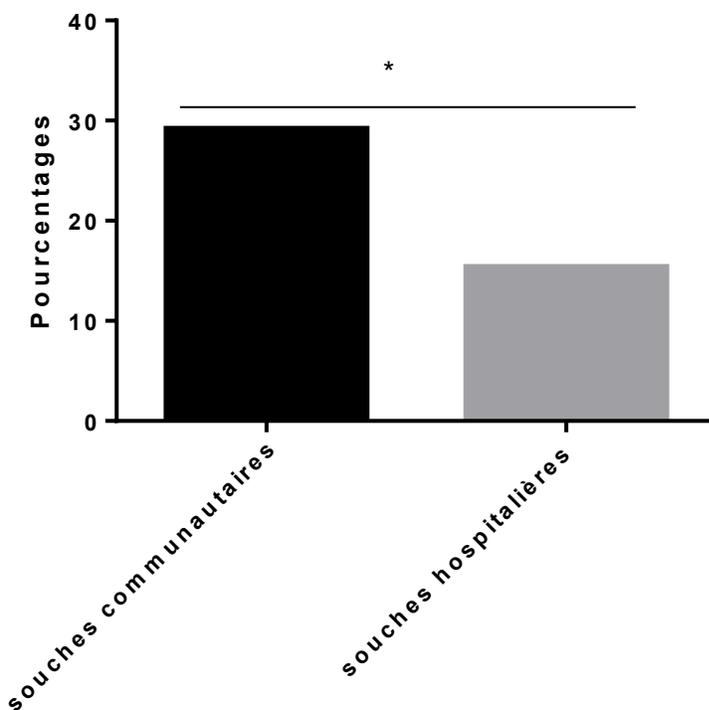


Figure 4.9 : Pourcentages de souches codant pour *papG* selon l'origine des souches.

Lorsque l'on compare les fimbriae selon le sexe de la personne infectée (test de Fisher) on s'aperçoit qu'il n'y a pas de différence de répartition en ce qui concerne la présence des gènes *papG* (p-value égale à 0.0506), *papA* (p-value égale à 0.5485) et *sfaS* (p-value égale à 0.4566) ainsi que pour les gènes codant pour le nouveau fimbria (p-value égale à 1). En revanche, il existe une différence significative dans le cas de *focG* (p-value égale à 0.0036) : le pourcentage

de souches codant pour *focG* est significativement supérieur chez les hommes (21.2% soit 28 souches) par rapport à celui trouvé chez les femmes (11.1% soit 55 souches).

Pourcentages de souches possédant *focG*

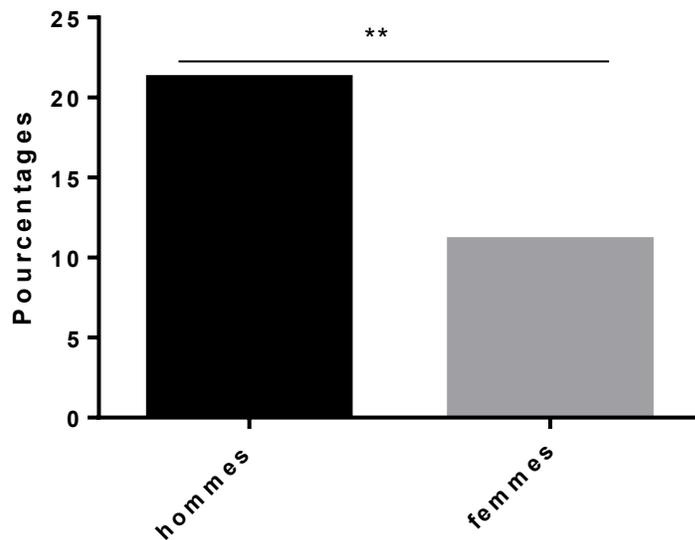


Figure 4.10 : Pourcentages de souches possédant le gène *focG* selon le sexe de la personne infectée.

4.4.2 Autotransporteurs

Pourcentages des souches codant pour des autotransporteurs

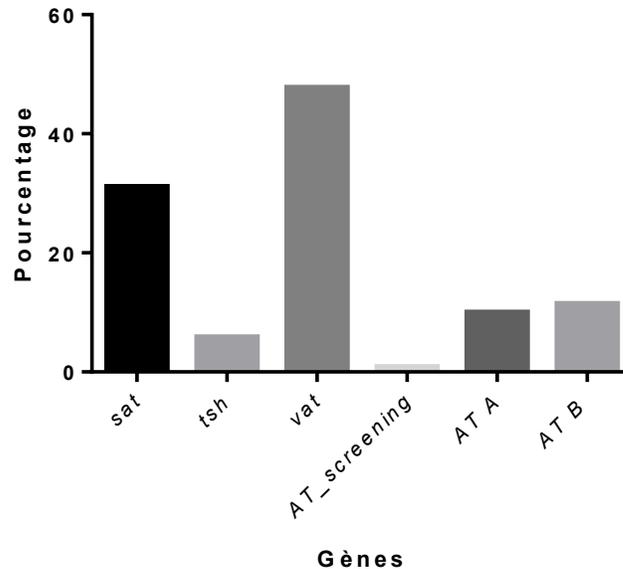


Figure 4.11 : Pourcentages de souches possédant les autotransporteurs.

On observe que le gène *vat* est l'autotransporteur le plus présent, il est présent chez 47.8% des souches, soit 333 souches. On retrouve ensuite le gène *sat* qui est présent chez 31.1% des souches, soit 217 souches. On trouve ensuite, les deux nouveaux autotransporteurs chromosomiques A et B. Le premier est présent chez 10% des souches soit 70 souches, le second est présent chez 11.5% des souches soit 80 souches. On trouve ensuite le gène *tsh* chez 5.9% des souches, soit 41 souches. Enfin, on a le nouvel autotransporteur plasmidique que l'on retrouve chez 0.9% des souches, soit 6 souches.

Lorsque l'on compare les probabilités de présence d'un autotransporteur dans une souche selon le groupe phylogénétique auquel appartient la souche (grâce à un test χ^2) on s'aperçoit que les probabilités d'avoir les autotransporteurs *vat*, *sat*, *tsh* et les autotransporteurs *AT A* et *AT B* changent de façon statistiquement significative : p-value inférieure à 0.0001 (p-value égale à 0.0047 pour *tsh*). En revanche on n'observe pas de différence statistique, suivant le groupe phylogénétique de la souche, pour le nouvel autotransporteur (p-value égale à 0.5802).

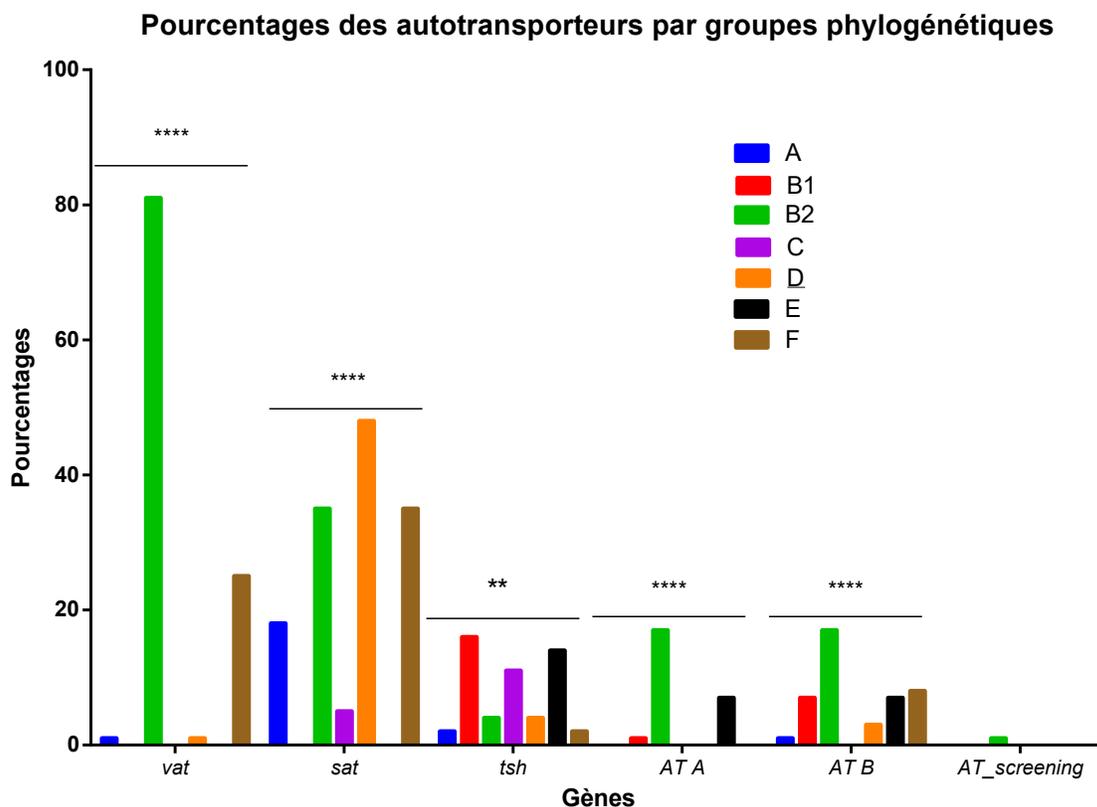


Figure 4.12 : Pourcentages de souches possédant les autotransporteurs et ce pour chaque groupe phylogénétique.

Lorsque l'on compare le pourcentage de souches codant pour le facteur de virulence « vacuolating autotransporter » on observe que celui-ci est fortement présent dans le groupe phylogénétique B2 (81% des souches possèdent le gène *vat*, soit 314 souches) et, à un pourcentage moindre, dans le groupe phylogénétique F (25% des souches possèdent le gène *vat*, soit 12 souches).

On observe la même chose pour la « secreted autotransporter toxin » (*sat*), que l'on retrouve dans 35.8% des souches de groupe phylogénétique B2, soit 138 souches, et dans 35.4% des souches de groupe phylogénétique F, soit 17 souches. On retrouve aussi *sat* dans près de la moitié des souches de groupe phylogénétique D avec 49% des souches le codant, soit 47 souches.

L'autotransporteur A est principalement présent dans le groupe phylogénétique B2 : 17.4 % des souches, soit 67 souches.

L'autotransporteur B est aussi principalement présent dans le groupe B2, 17.1% des souches, soit 66 souches. Il est aussi trouvé dans d'autres groupes phylogénétiques notamment B1, E et F. Il est ainsi présent dans 7.5% des souches de groupe phylogénétique B1 (soit 4 souches), 7.1% des souches de groupe phylogénétique E (soit 1 souche) et 8.3% des souches de groupe phylogénétique F (soit 4 souches).

Lorsque l'on compare le pourcentage de souches codant pour le gène *tsh* dans les différents groupes, on observe qu'il est surtout présent dans les groupes B1, C et E, où il est présent dans les pourcentages respectifs suivants : 17%, 11.1% et 14.3%, soit 9, 4 et 2 souches.

Enfin on observe le nouvel autotransporteur uniquement dans des souches de groupe phylogénétique B2 où il est présent dans 1.6% des souches soit 6 souches.

Lorsque l'on compare de façon statistique (test de khi2) la présence des autotransporteurs selon l'âge des personnes, on s'aperçoit que les répartitions de *sat* (p-value égale à 0.5325), *tsh* (p-value égale à 0.3195), le nouvel autotransporteur (p-value égale à 0.6482), l'AT A (p-value égale à 0.1361) et l'AT B (p-value égale à 0.4393) ne changent pas de façon statistiquement significative. En revanche la répartition de *vat* (p-value égale à 0.0341) change de façon significative : la probabilité de trouver *vat* dans une souche est plus importante lorsque la personne infectée a entre 20 et 50 ans.

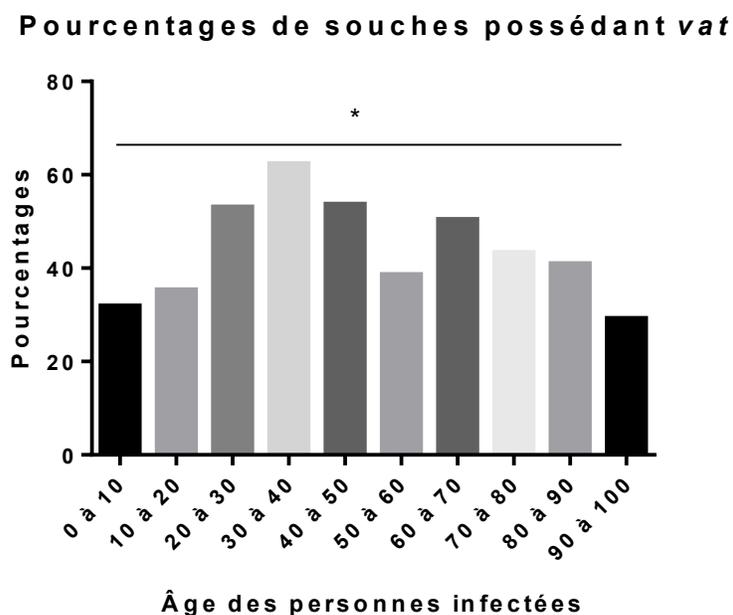


Figure 4.13 : Pourcentages de souches possédant *vat* selon l'âge des personnes infectées.

Lorsque l'on compare maintenant les autotransporteurs de façon statistique (test de Fisher) selon le sexe de la personne infectée, on s'aperçoit que les répartitions de *sat* (p-value égale à 0.4260), *tsh* (p-value égale à 0.5153), du nouvel autotransporteur (p-value égale à 1), de l'AT A (p-value égale à 0.5186) et de l'AT B (p-value égale à 0.5431) ne changent pas de façon statistiquement significative. En revanche la probabilité de trouver le gène *vat* change elle de façon significative (p-value égale 0.0498). Il existe une probabilité plus importante de trouver le gène *vat* dans une souche ayant infecté un homme que dans une souche ayant infecté une femme : 54.5% des souches infectant des hommes possèdent *vat*, soit 72 souches, contre 44.8% des souches infectant des femmes, soit 222 souches.

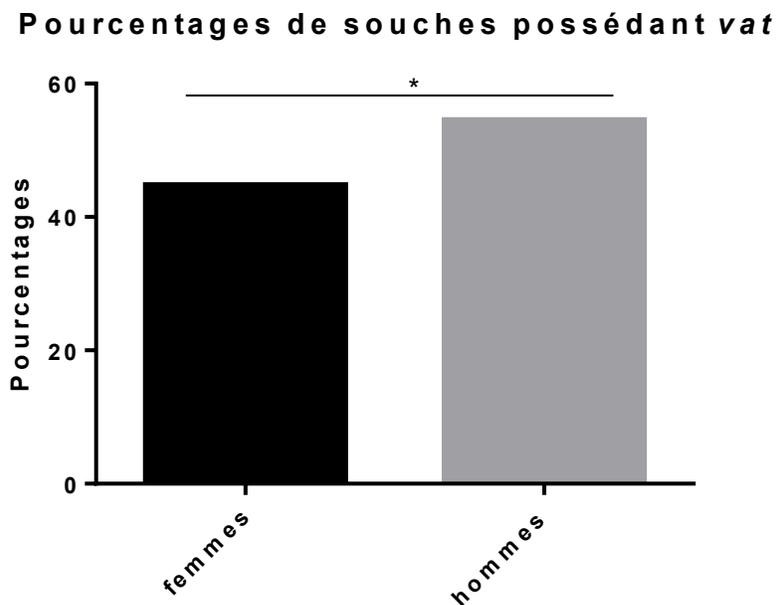


Figure 4.14 : Pourcentages de souches possédant le gène *vat* selon le sexe de la personne infectée.

4.4.3 Toxines

Pourcentages des souches codant pour des toxines

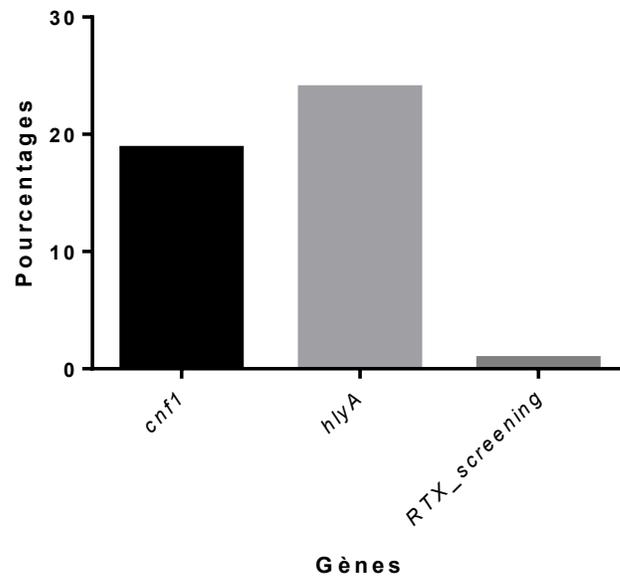


Figure 4.15 : Pourcentages de souches possédant les toxines CNF1 et RTX.

Lorsque l'on observe les pourcentages de présence des gènes codant pour les toxines CNF1 et RTX, on s'aperçoit que l'hémolysine α est la toxine la plus présente dans nos souches étudiées : on la retrouve chez 24% des souches, soit 167 souches. La seconde toxine la plus présente est le « cytotoxic necrotizing factor type 1 », on la retrouve dans 18.8% des souches, soit 131 souches. Enfin on observe aussi la nouvelle toxine RTX qui est présente chez 0.9 % des souches, soit 6 souches.

La comparaison des probabilités de présence de ces toxines dans une souche selon le groupe phylogénétique auquel appartient la souche (test de khi2) montre que les toxines hémolysine α et « cytotoxic necrotizing factor type 1 » sont associées avec le groupe phylogénétique B2 d'une façon statistiquement significative : p-values inférieures à 0.0001. Ceci n'est pas le cas pour la nouvelle toxine RTX dont la p-value entre groupes phylogénétiques est égale à 0.5802.

Pourcentages des toxines par groupes phylogénétiques

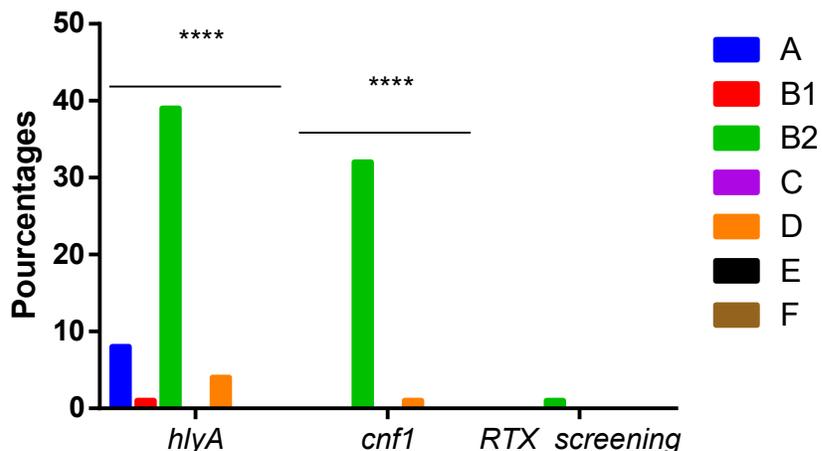


Figure 4.16 : Pourcentages de souches possédant les toxines et ce pour chaque groupe phylogénétique.

Lorsque l'on observe la distribution des toxines parmi les groupes phylogénétiques, on s'aperçoit que l'hémolysine α et le « cytotoxic necrotizing factor type 1 » sont fortement présent dans les souches appartenant au groupe phylogénétique B2. 39.4% des souches de groupe phylogénétique B2 possèdent le gène *hlyA*, soit 152 souches, tandis que 32.6% possèdent le gène *cnf1*, soit 126 souches. On retrouve aussi le gène *hlyA* dans les souches de groupe phylogénétique A mais avec un faible pourcentage, 8.3%, soit 6 souches. La nouvelle toxine RTX, quant à elle, n'est retrouvée que dans le groupe phylogénétique B2 et ceci à très faible pourcentage : 1.6 % (6 souches). Aucune des souches possédant la nouvelle toxine RTX ne possèdent *hlyA*.

Lorsque l'on compare la répartition des toxines de façon statistique (test de Fisher) selon le sexe de la personne infectée, on s'aperçoit qu'il n'y a pas de différence de répartition en ce qui concerne la présence de la nouvelle toxine RTX (p-value égale à 1). En revanche, il existe une différence significative dans le cas de *hlyA* et de *cnf1* (p-values inférieures à 0.0001). Le pourcentage de souches codant pour ces deux gènes est significativement supérieur chez les hommes par rapport à celui trouvé chez les femmes : 39.4% contre 19.8 % pour *hlyA* et 34.1 % contre 14.7 % pour *cnf1*.

4.4.4 Sidérophores

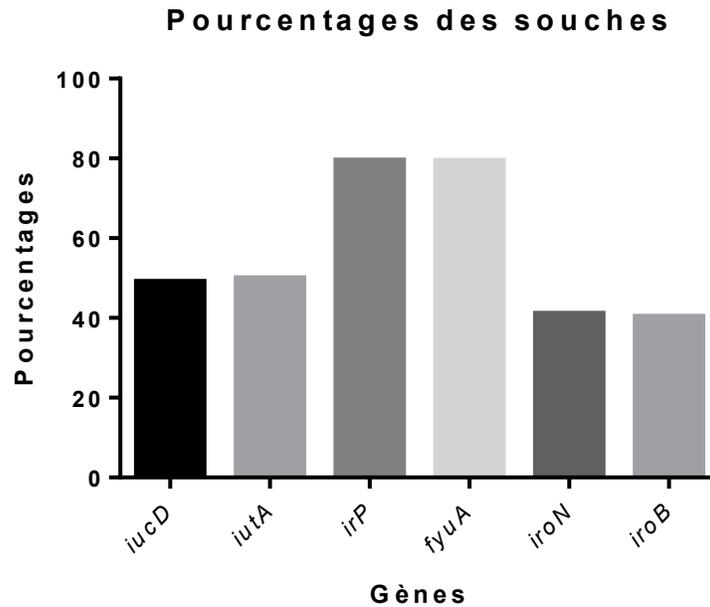


Figure 4.17 : Pourcentages de souches possédant les sidérophores.

Lorsque l'on observe les pourcentages de présences des gènes codant pour les sidérophores, on observe que les gènes les plus présents sont ceux codant pour yersiniabactine : on les trouve dans 79.5% des souches pour *irp*, soit 554 souches et dans 79.3% des souches pour *fyuA*, soit 553 souches.

On trouve ensuite les gènes codant pour aérobactine : dans 49.9% des souches pour *iutA*, soit 348 souches et dans 49.1% des souches pour *iucD*, soit 342 souches.

Enfin, on trouve les gènes codant pour les salmochélines : dans 41% des souches pour *iroN*, soit 286 souches et dans 40.3% des souches pour *iroB*, soit 281 souches.

Lorsque l'on compare la probabilité de présence d'un sidérophore dans une souche selon le groupe phylogénétique auquel appartient la souche (test de khi²), on s'aperçoit que les probabilités d'avoir les différents gènes, codant pour des sidérophores, changent de façon statistiquement significative (la p-value est toujours inférieure à 0.0001).

Pourcentages des sidérophores par groupes phylogénétiques

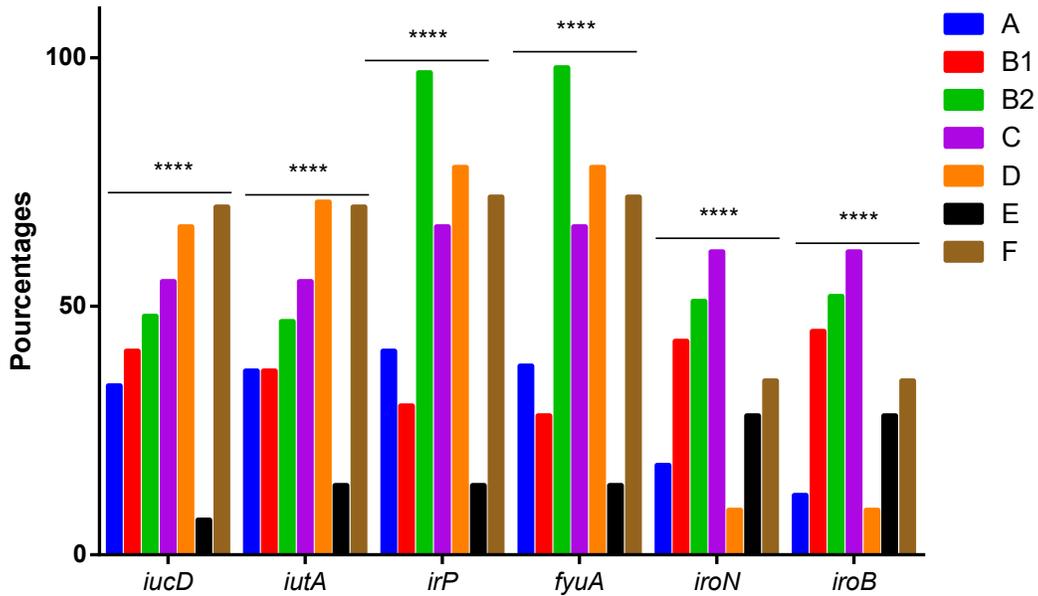


Figure 4.18 : Pourcentages de souches possédant les sidérophores et ce pour chaque groupe phylogénétique.

Tableau 4.7 : Pourcentages de présence des sidérophores selon le groupe phylogénétique des souches.

	<i>iucD</i>	<i>iutA</i>	<i>irp</i>	<i>fyuA</i>	<i>iroN</i>	<i>iroB</i>
A	34,72	37,5	41,67	38,89	18,06	12,5
B1	41,51	37,74	30,19	28,30	43,40	45,28
B2	48,70	47,15	97,67	98,19	51,81	52,07
C	55,56	55,56	66,67	66,67	61,11	61,11
D	66,67	71,88	78,13	78,13	9,38	9,38
E	7,14	14,29	14,29	14,29	28,57	28,57
F	70,83	70,83	72,92	72,92	35,42	35,42

Lorsque l'on observe la présence des gènes codant pour les sidérophores dans les souches, en fonction des différents groupes phylogénétiques, on s'aperçoit qu'ils sont présents dans tous les groupes phylogénétiques, mais avec des pourcentages de présence différents.

En ce qui concerne les gènes codant pour aérobactine (*iucD* et *iutA*), on les trouve à plus de 50% dans les groupes phylogénétiques C, D et F et entre 30% et 50% dans les groupes A, B1 et B2. La probabilité de retrouver ces gènes dans le groupe phylogénétique E est, par contre, très faible : 7.1% pour *iucD* et 14.3% pour *iucA*.

Les gènes codant pour yersiniabactine (*irp* et *fyuA*) sont principalement présents dans les groupes phylogénétiques B2, C, D et F, où on peut les retrouver dans plus de 50% des souches. On les retrouve aussi dans un certain nombre de souches des groupes phylogénétiques A et B1 (entre 28% et 42%). En revanche, on les retrouve très peu dans les souches du groupe phylogénétique E (14.8%).

Les gènes codant pour les salmochélines (*iroB* et *iroN*) sont présents dans plus de 50% des souches appartenant aux groupes phylogénétiques B2 et C. On les retrouve aussi, avec une grande probabilité dans les groupes phylogénétiques B1, E et F, avec des probabilités comprises entre 28% et 46%. En revanche on les retrouve peu dans les groupes phylogénétiques A et D.

Lorsque l'on compare la présence des sidérophores de façon statistique (test de Fisher) selon le sexe de la personne infectée, on s'aperçoit que les proportions de gènes codant pour aérobactine et yersiniabactine ne changent pas de façon significative, la p-value est égale à : 0.6426 pour *iucD*, 0.3274 pour *iutA*, 0.2128 pour *irp* et 0.1799 pour *fyuA*. En revanche, on remarque qu'il existe une différence significative quant au pourcentage de souches ayant les gènes codant pour salmochéline. La p-value est égale à 0.0058 pour *iroB* et à 0.0009 pour *iroN*. Ces deux gènes ont des pourcentages de présence plus importants lorsque la personne infectée est un homme :

- *iroB* est présent chez 50.8% des hommes infectés (soit 67 souches) contre 37.5% des femmes infectées (soit 186 souches).
- *iroN* est présent chez 53% des hommes infectés (soit 70 souches) contre 37.1% des femmes infectées (soit 184 souches).

Pourcentages de souches possédant *iroB* et *iroN*

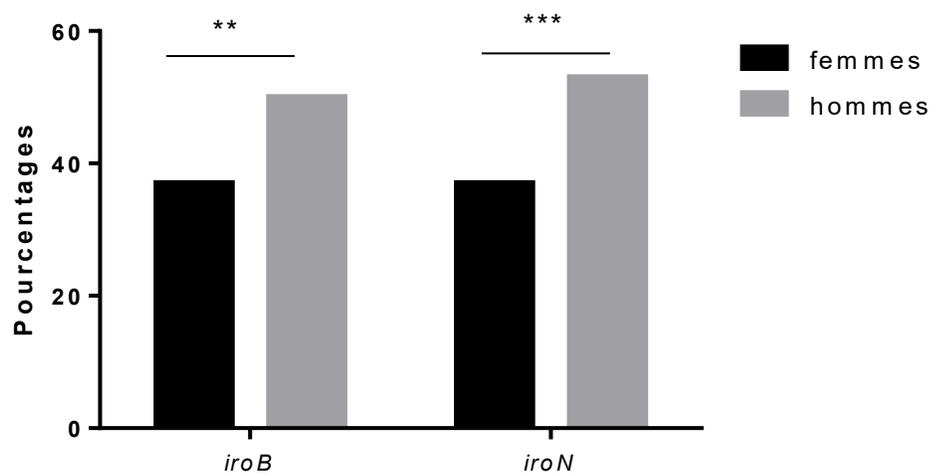


Figure 4.19 : Pourcentages des souches possédant les gènes *iroB* et *iroN* selon le sexe de la personne infectée.

4.4.5 Profils de virotypages

Les facteurs de virulence sont présents dans les souches selon différents profils, 173 en tout (en prenant en compte le phénotype de l'hémolyse).

Certains profils n'ont été retrouvés que dans une seule souche (0.14 %) tandis que d'autres ont été retrouvés jusque dans 76 souches (10.9 %). Certains profils ont été retrouvés dans des souches de plusieurs groupes phylogénétiques tandis que d'autres ne sont retrouvés que dans un seul groupe phylogénétique.

Parmi les profils, possédant au moins un des facteurs de virulence étudiés, celui le plus fréquemment retrouvé contient les gènes suivants : *sat*, *AT A*, *AT B*, *irp*, *fyuA*, *iutA* et *iucD*. Ce profil est retrouvé dans 6 % des souches soit 42 souches.

Le second profil le plus fréquemment retrouvé est aussi celui que l'on retrouve le plus souvent dans les souches faisant de l'hémolyse. Ce profil contient les gènes suivants : *hlyA*, *cnf1*, *vat*, *focG*, *iroB*, *iroN*, *irp* et *fyuA*. Il est retrouvé dans 5.7 % des souches soit 40 souches.

Le troisième profil le plus fréquemment retrouvé concerne des souches ne faisant pas d'hémolyse. Il est une copie exacte du premier profil à l'exception des gènes *AT A* et *AT B* qui sont remplacé par le gène *vat*. Il est retrouvé dans 5.2 % des souches soit 36 souches.

Toutes les souches de ces trois profils font partie du groupe phylogénétique B2.

Sur les 131 souches possédant le facteur de virulence « cytotoxic necrotizing factor type 1 », 127 d'entre elles possèdent aussi le facteur de virulence hémolysine α , soit 96.9 % d'entre elles.

Lorsque l'on compare la présence ou l'absence du gène *hlyA* dans les souches et selon que oui ou non celles-ci fassent de l'hémolyse on s'aperçoit que :

- Sur les 147 souches faisant de l'hémolyse, 5 ne possèdent pas le gène *hlyA* (3.4 %).
- Sur les 167 souches possédant le gène *hlyA*, 25 ne font pas d'hémolyse (15 %).

Lorsque l'on étudie l'ensemble des profils, et que l'on supprime les souches n'ayant aucun des facteurs de virulence (soit 76 souches), on observe que seulement 19 souches, soit 3.1 % d'entre elles ne possèdent aucun des trois systèmes de sidérophores criblés (aérobactine, yesriniabactine et salmochélines).

Lorsque l'on analyse les profils des six souches possédant un des facteurs de virulence plasmidique, on observe que toutes ont la nouvelle toxine RTX et le nouveau autotransporteur mais que seulement deux d'entre elles ont le nouveau fimbria.

Tableau 4.9 : Profils des souches possédant les nouveaux facteurs de virulence plasmidiques.

Nombre	groupe phylog.	hémolyse	sat	cnf1	tsh	At_screening/RTX_screening	focG	lucD	Adhesin_screening/majorsubunit_screening	papA	iroB	irP	papG II et III	vat	sfaS	fyuA	iroN	lutA	hlyA	ATB	ATA
3	B2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+
1	b2	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-
1	B2	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+
1	B2	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+

4.4.6 Nombre de systèmes de virulence par groupe phylogénétique

Lorsque l'on observe le nombre de systèmes de virulence par souche, selon le groupe phylogénétique auquel la souche appartient, et que l'on compare ces nombres (test one-way ANOVA), on observe une différence statistiquement significative entre les différents groupes phylogénétiques (p-value inférieure à 0.0001).

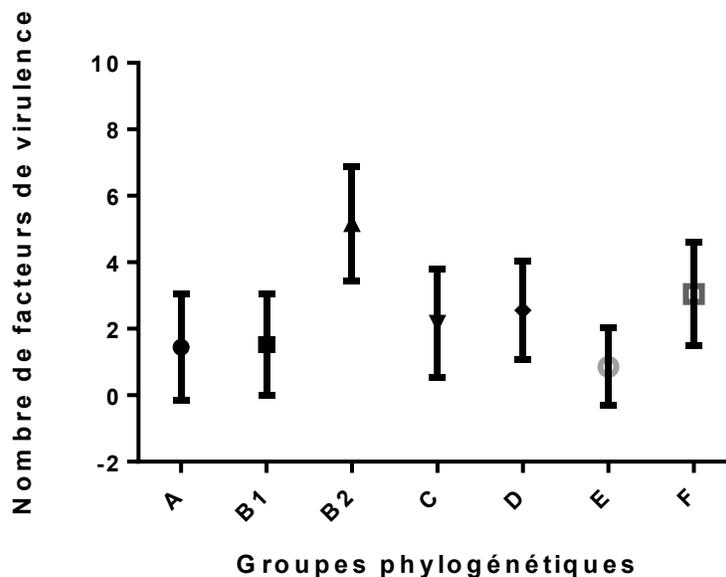


Figure 4.20 : Nombres de système de virulence par souches selon leur groupe phylogénétique.

Si on classe les groupes phylogénétiques suivant le nombre moyen de systèmes de virulence qu'ils possèdent, on observe que les groupes possédant le plus de systèmes de virulence sont les groupes B2 et F, avec respectivement, en moyenne, 5.2 et 3 systèmes de virulence. Ensuite

viennent les groupes phylogénétiques D et C avec respectivement 2.6 et 2.2 systèmes de virulence par souche. Finalement, on trouve les groupes B1, A et E, avec respectivement des moyennes de 1.5, 1.4 et 0.9 systèmes de virulence par souche.

4.4.7 Association de facteurs de virulence des souches associées aux infections chez les Hommes et chez les Femmes

a) Selon l'âge

Lorsque l'on s'intéresse à la présence ou non de facteurs de virulence dans les souches infectant les hommes en fonction de l'âge de ceux-ci, on observe des différences statistiquement significatives en ce concerne les facteurs de virulence "secreted autotransporter toxin" et « temperature-sensitive hemagglutinin ».

Tableau 4.10 : Tableau de contingence pour le gène *sat*.

	0-50 ans	50-100 ans
Souches ayant <i>sat</i>	11 (47.8 %)	27 (24.8 %)
Souches n'ayant pas <i>sat</i>	12 (52.2 %)	82 (75.2 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0408.

Tableau 4.11 : Tableau de contingence pour le gène *tsh*.

	0-50	50-100
Souches ayant <i>tsh</i>	3 (13 %)	2 (1.8 %)
Souches n'ayant pas <i>tsh</i>	20 (87 %)	107 (98.2 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0369.

On observe, que pour ces deux facteurs de virulence, le pourcentage de souches les possédant diminue avec l'âge.

La "secreted autotransporter toxin" est présente dans 47.8% des souches infectant les hommes de moins de 50 ans, en revanche, elle n'est présente que dans seulement 24.8% des souches infectant les hommes de plus de 50 ans.

La « temperature-sensitive hemagglutinin » est présente dans 13% des souches infectant les hommes de moins de 50 ans, en revanche, elle n'est présente que dans seulement 1.8% des souches infectant les hommes de plus de 50 ans.

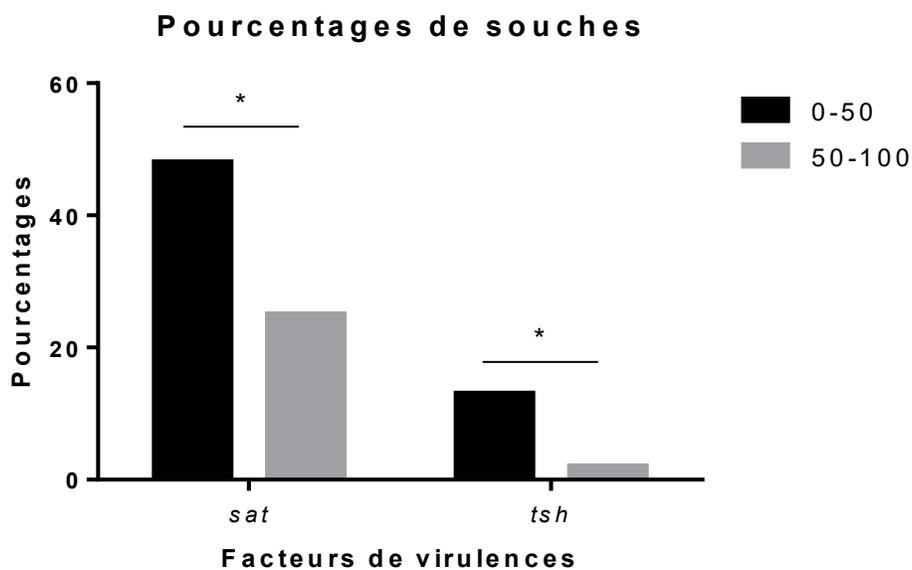


Figure 4.21 : Pourcentages de souches ayant les gènes *sat* et *tsh* selon l'âge des personnes infectées.

b) Comparaison homme-femme

Lorsque l'on compare le nombre de facteurs de virulence présents dans les souches infectant les hommes avec le nombre de facteurs de virulence présents dans les souches infectant les femmes, (test de student), on observe qu'il existe une différence statistiquement significative (p-value égale à 0.0005). Les souches infectant les hommes ont en moyenne 6.8 facteurs de virulence tandis que celles infectant les femmes ont en moyenne 5.7 facteurs de virulence.

Nombre de facteurs de virulence

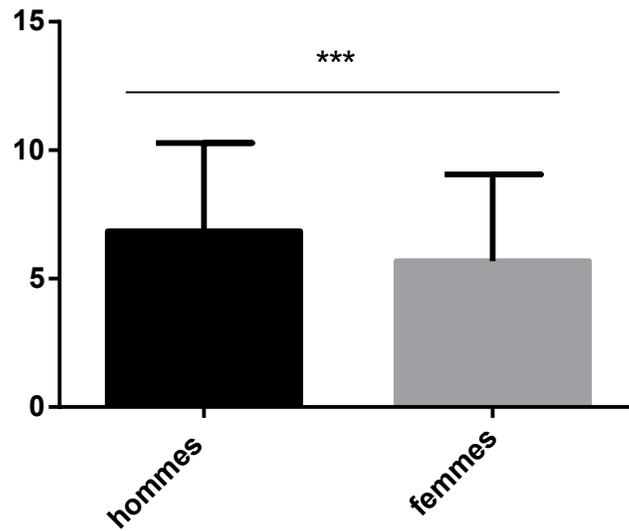


Figure 4.22 : Nombres de facteurs de virulence par souches selon le sexe de la personne infectée.

c) Selon maladie du tractus urinaire

Lorsque l'on observe la présence ou non des facteurs de virulence chez les hommes suivant qu'ils ont ou non une maladie affectant le tractus urinaire (adénome prostate, calcul, etc...), on observe une différence statistiquement significative pour certains des gènes : *cnf1*, *papG II/III*, *hlyA*, *ATA* et *ATB*.

Tableau 4.12 : Tableau de contingence pour le gène *cnf1*.

	Hommes ayant une maladie touchant le tractus urinaire	Hommes n'ayant pas de maladie touchant le tractus urinaire
Souches ayant <i>cnf1</i>	0 (0 %)	45 (36.6 %)
Souches n'ayant pas <i>cnf1</i>	9 (100 %)	78 (63.4 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0277.

Le gène *cnf1* est souvent présent dans les souches infectant les hommes n'ayant pas de maladie touchant le tractus urinaire (36.6%). On n'a pas retrouvé ce gène dans les souches infectant les hommes souffrant d'une telle maladie (0%)

Tableau 4.13 : Tableau de contingence pour le gène *papG II/III*.

	Hommes ayant une maladie touchant le tractus urinaire	Hommes n'ayant pas de maladie touchant le tractus urinaire
Souches ayant <i>papG II/III</i>	0 (0 %)	47 (38.2 %)
Souches n'ayant pas <i>papG II/III</i>	9 (100 %)	76 (61.8 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0262.

Le gène *papG II/III* est souvent présent dans les souches infectant les hommes n'ayant pas de maladie touchant le tractus urinaire (38.2%). On n'a pas retrouvé ce gène dans les souches infectant les hommes souffrant d'une telle maladie (0%)

Tableau 4.14 : Tableau de contingence pour le gène *hlyA*.

	Hommes ayant une maladie touchant le tractus urinaire	Hommes n'ayant pas de maladie touchant le tractus urinaire
Souches ayant <i>hlyA</i>	0 (0 %)	52 (42.3 %)
Souches n'ayant pas <i>hlyA</i>	9 (100 %)	71 (57.7 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0117.

Le gène *hlyA* est souvent présent dans les souches infectant les hommes n'ayant pas de maladie touchant le tractus urinaire (42.3%) On n'a pas retrouvé ce gène dans les souches infectant les hommes souffrant d'une telle maladie (0%)

Tableau 4.15 : Tableau de contingence pour le gène AT A.

	Hommes ayant une maladie touchant le tractus urinaire	Hommes n'ayant pas de maladie touchant le tractus urinaire
Souches ayant l'AT A	3 (33.3 %)	8 (6.5 %)
Souches n'ayant pas l'AT A	6 (66.7 %)	115 (93.5 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0277.

L'AT A est plus souvent présent dans les souches infectant les hommes ayant une maladie touchant le tractus urinaire (33.3%) que dans celles infectant les hommes n'ayant pas ce genre de maladie (6.5%).

Tableau 4.16 : Tableau de contingence pour le gène AT B.

	Hommes ayant une maladie touchant le tractus urinaire	Hommes n'ayant pas de maladie touchant le tractus urinaire
Souches ayant l'AT B	3 (33.3 %)	10 (8.1 %)
Souches n'ayant pas l'AT B	6 (66.7 %)	113 (91.9 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0447.

L'AT B est plus souvent présent dans les souches infectant les hommes ayant une maladie touchant le tractus urinaire (33.3%) que dans celles infectant les hommes n'ayant pas ce genre de maladie (8.1%).

Lorsque l'on étudie la population des femmes infectées, selon qu'elles sont enceintes ou non, on observe une différence, statistiquement significative, par rapport au facteur de virulence

fimbria P. On n'a pas détecté de souches possédant les gènes *papA* et *papG II/III* chez les femmes enceintes infectées alors que chez les femmes, non enceintes, infectées le gène *papA* est présent dans 30.7% des souches et le gène *papG II/III* dans 27.4% des souches.

Tableau 4.17 : Tableau de contingence pour le gène *papA*.

	Femmes infectées enceintes	Femmes infectées non enceintes
Souches possédant <i>papA</i>	0 (0 %)	148 (30.7 %)
Souches ne possédant pas <i>papA</i>	14 (100 %)	334 (69.3 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0.0137.

Tableau 4.18 : Tableau de contingence pour le gène *papG II/III*.

	Femmes infectées enceintes	Femmes infectées non enceintes
Souches possédant <i>papG II/III</i>	0 (0 %)	132 (27.4 %)
Souches ne possédant pas <i>papG II/III</i>	14 (100 %)	350 (72.6 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0263.

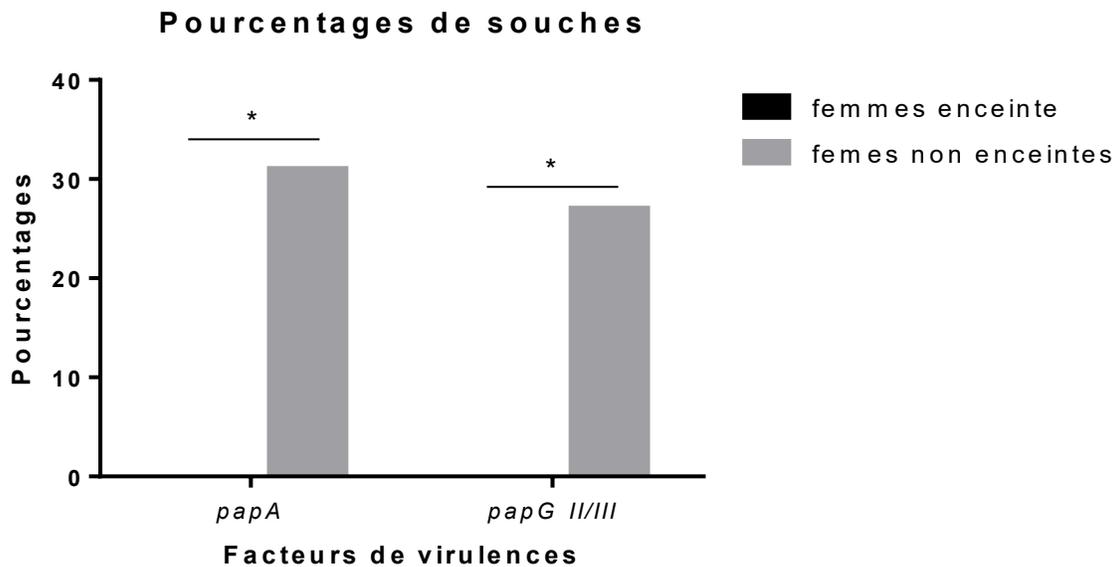


Figure 4.23 : Pourcentages de souches possédant les facteurs de virulence *papA* et *papG II/III* selon que les femmes infectées soient enceintes ou non

Lorsque l'on compare les pourcentages des groupes phylogénétiques des souches infectant les femmes enceintes avec ceux des souches infectant les femmes non enceintes, on constate qu'il n'existe aucune différence statistiquement significative (p-value toujours supérieure à 0.5) lorsque l'on effectue des tests de Fisher.

Lorsque l'on compare la présence de facteurs de virulence entre les souches impliquées dans une infection urinaire récurrente et les autres on n'observe aucune différence statistiquement significative.

Lorsque l'on compare les groupes phylogénétiques auxquels appartiennent les souches infectant les personnes montrant des signes d'infections urinaires avec ceux des souches infectant des personnes qui ne montrent pas de tels signes (tests de Fisher), on ne constate pas de différence.

Lorsque l'on observe la présence ou non des facteurs de virulence selon que la souche infecte une personne présentant ou non des signes d'infection urinaire, on constate une différence statistiquement significative pour le facteur de virulence fimbria P. Le pourcentage de souches possédant *papA* augmente lorsque la personne infectée présente des signes d'infection urinaire, il passe de 21.3% à 38%. De même pour le pourcentage de souches possédant *papG II/III* qui passe de 14.9% à 36.6%.

Tableau 4.19 : Tableau de contingence pour les souches possédant *papA*.

	Personnes infectées présentant des signes d'infection urinaire	Personnes infectées ne présentant pas de signes d'infection urinaire
Souches possédant <i>papA</i>	51 (38.1 %)	10 (21.3 %)
Souches ne possédant pas <i>papA</i>	83 (61.9 %)	37 (78.7%)

Test de Fisher : p-value = 0.0479.

Tableau 4.20 : Tableau de contingence pour les souches possédant *papG II/III*.

	Personnes infectées présentant des signes d'infection urinaire	Personnes infectées ne présentant pas de signes d'infection urinaire
Souches possédant <i>papG</i> <i>II/III</i>	49 (36.6 %)	7 (14.9 %)
Souches ne possédant pas <i>papG II/III</i>	85 (63.4 %)	40 (85.1 %)

Test de Fisher : p-value = 0.0058.

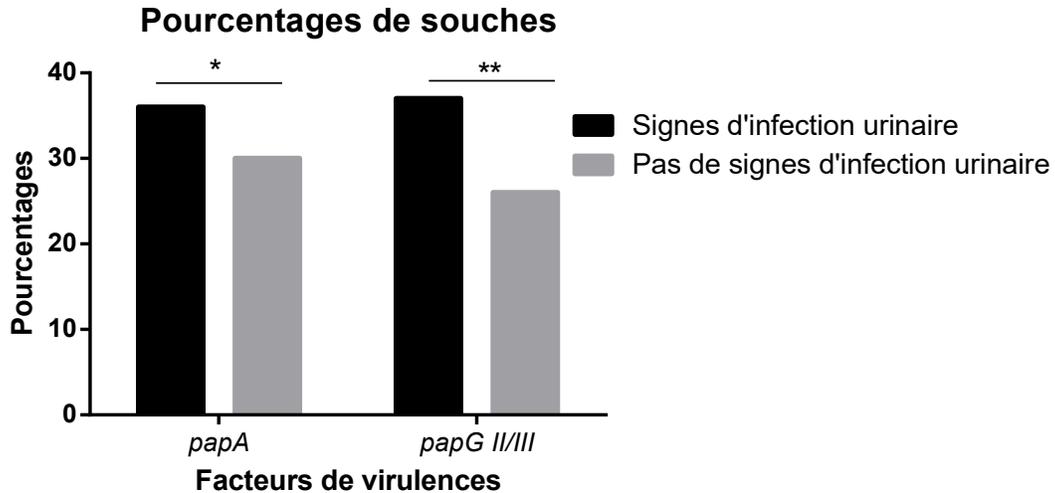


Figure 4.24 : Pourcentages de souches possédant les facteurs de virulence *papA* et *papG II/III* selon que les personnes infectées présentes ou non des signes d'infection urinaire.

4.4.8 Corrélation entre gènes

Le test de Pearson réalisé sur la répartition des différents gènes dans les souches afin de voir si certains d'entre eux sont liés montre plusieurs corrélations positives, toutes statistiquement significatives.

On observe tout d'abord des corrélations positives entre la présence des gènes codant pour un même facteur de virulence.

- Pour le facteur de virulence yersiniabactine, on a un coefficient de corrélation égal à 0.9339 (avec une p-value inférieure à 0.0001), entre les souches possédant le gène *fyuA* et celles possédant le gène *irp*.
- Pour le facteur de virulence aérobactine, on a un coefficient de corrélation égal à 0.9255 (avec une p-value inférieure à 0.0001), entre les souches possédant le gène *iucD* et celles possédant le gène *iutA*.
- Pour le facteur de virulence salmochéline, on a un coefficient de corrélation égal à 0.8782 (avec une p-value inférieure à 0.0001), entre les souches possédant le gène *iroN* et celles possédant le gène *iroB*.
- Pour le facteur de virulence fimbria P, on a un coefficient de corrélation égal à 0.7818 (avec une p-value inférieure à 0.0001), entre les souches possédant le gène *papA* et celles possédant le gène *papG II/III*.

On observe aussi que les répétitions de certains gènes ont une corrélation, statistiquement significative, positive parfaite (ils sont toujours présents ensemble) :

- Le nouvel autotransporteur et la nouvelle toxine.
- Les deux gènes codant pour le nouveau fimbria.

Dans ces deux cas, on observe un coefficient de corrélation égal à 1 et ceci avec une valeur P inférieure à 0.0001.

Enfin, on observe aussi des corrélations entre les répartitions de différents gènes :

- On a une corrélation positive de 0.8226, statistiquement significative (p-value inférieure à 0.0001), entre les souches possédant *hlyA* et celles possédant *cnf1*.
- On a une corrélation positive de 0.9130, statistiquement significative (p-value inférieure à 0.0001), entre les souches possédant AT A et celles possédant AT B.

4.4.9 Groupe phylogénétique F

Lorsque l'on compare la présence des facteurs de virulence dans le groupe phylogénétique F, qui est encore peu connu, avec l'ensembles des autres groupes (test de Fisher), on observe une différence statistiquement significative pour les gènes : *cnf1*, *focG*, *iucD*, *papA*, *vat*, *sfaS*, *iutA*, *hlyA* et l'AT A.

Tableau 4.21 : Tableau de contingence comparant la présence de facteurs de virulence dans les souches selon qu'elles fassent partie du groupe phylogénétique F ou d'un autre groupe phylogénétique.

	Groupe phylogénétique F	Autres groupes phylogénétiques
Présence de <i>cnf1</i>	0 (0 %)	131 (20.2 %)
Absence de <i>cnf1</i>	48 (100 %)	518 (79.8 %)
Présence de <i>focG</i>	0 (0 %)	95 (14.6 %)
Absence de <i>focG</i>	48 (100 %)	554 (85.3 %)

Présence de <i>iucD</i>	34 (70.8 %)	308 (47.5 %)
Absence de <i>iucD</i>	14 (29.2 %)	341 (52.5 %)
Présence de <i>papA</i>	22 (45.8 %)	193 (29.7 %)
Absence de <i>papA</i>	26 (54.2 %)	456 (70.3 %)
Présence de <i>vat</i>	12 (25 %)	321 (49.5 %)
Absence de <i>vat</i>	36 (75 %)	38 (50.5 %)
Présence de <i>sfaS</i>	0 (0 %)	55 (8.5 %)
Absence de <i>sfaS</i>	48 (100 %)	594 (91.5 %)
Présence de <i>iutA</i>	34 (70.8 %)	314 (48.4 %)
Absence de <i>iutA</i>	14 (29.2 %)	335 (51.6 %)
Présence de <i>hlyA</i>	0 (0 %)	167 (25.7 %)
Absence de <i>hlyA</i>	48 (100 %)	482 (74.3 %)
Présence de l'AT A	0 (0 %)	70 (10.8 %)
Absence de l'AT A	48 (100 %)	579 (89.2 %)

Lorsque l'on calcule les p-value on obtient les valeurs suivantes :

- *cnf1* : p-value <0.0001
- *focG* : p-value = 0.0015
- *iucD* : p-value = 0.0024
- *papA* : p-value = 0.0235
- *vat* : p-value = 0.0014
- *sfaS* : p-value = 0.0258
- *iutA* : p-value = 0.0027
- *hlyA* : p-value < 0.0001
- *ATA* : p-value = 0.0103

Les pourcentages de présence des différents facteurs de virulence sont représentés dans le graphique ci-dessous.

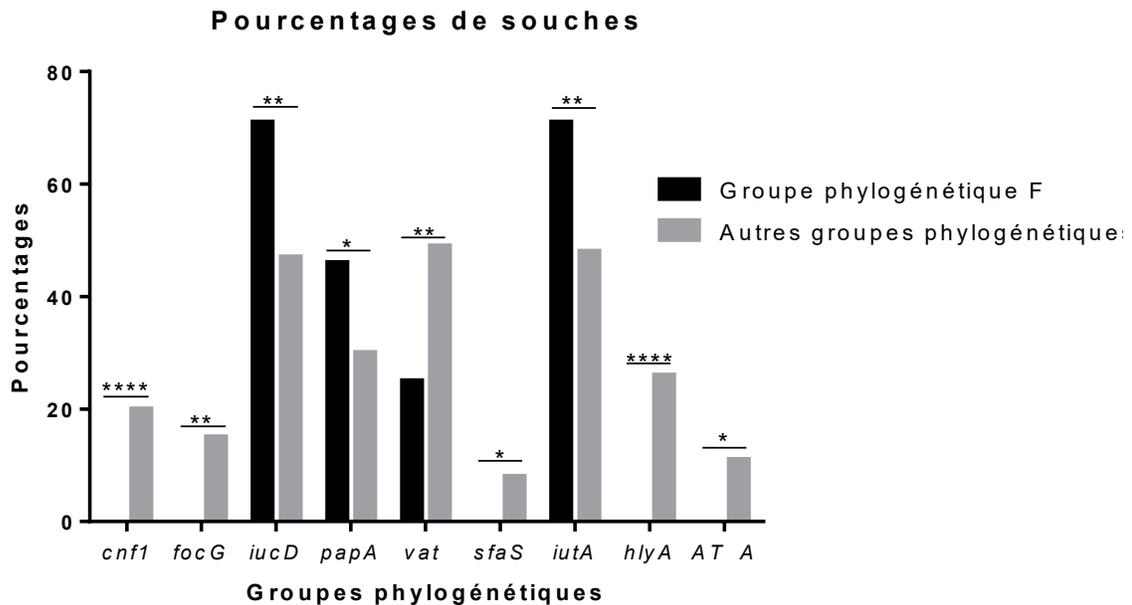


Figure 4.25 : Pourcentage de souches possédant les facteurs de virulence selon qu'elles appartiennent au groupe phylogénétique F ou à un autre groupe phylogénétique.

De la même façon que l'on a comparé la présence des facteurs de virulence, on compare le nombre de souches faisant de l'hémolyse selon que les souches fassent partie du groupe phylogénétique F ou d'un autre groupe phylogénétique. On observe une différence statistiquement significative ((test de Fisher : p-value de 0.0002).

Tableau 4.22 : Tableau de contingence comparant le nombre de souches faisant de l'hémolyse selon qu'elles fassent partie du groupe phylogénétique F ou d'un autre groupe phylogénétique.

	Groupe phylogénétique F	Autres groupes phylogénétiques
Souches faisant de l'hémolyse	1 (2.1 %)	146 (22.5 %)
Souches ne faisant pas d'hémolyse	47 (97.9 %)	503 (77.5 %)

Les pourcentages des souches faisant de l'hémolyse selon qu'elles fassent partie du groupe phylogénétique F ou d'un autre groupe phylogénétique sont représentés ci-dessous.

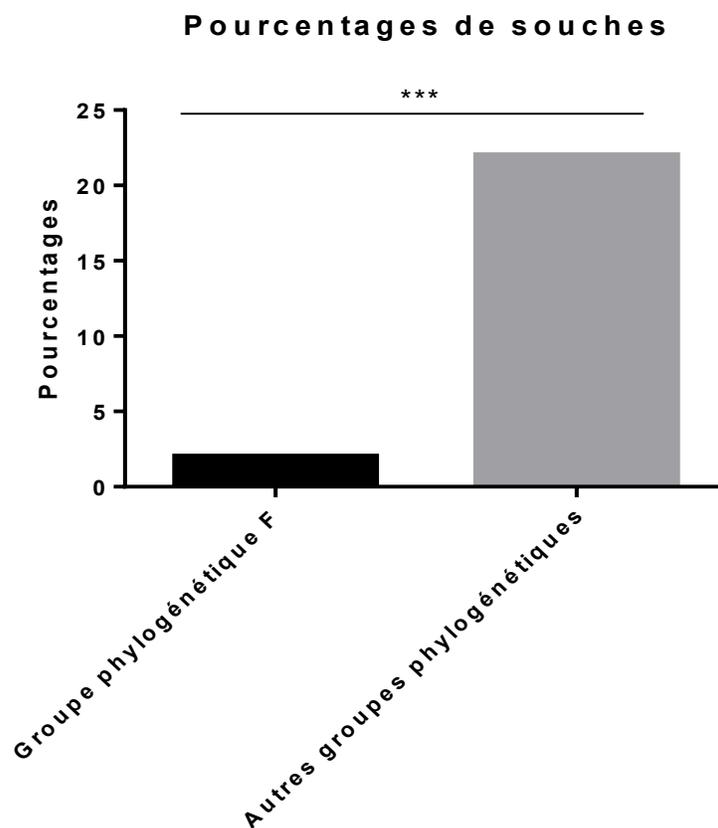


Figure 4.26 : Pourcentages de souches faisant de l'hémolyse selon que les souches appartiennent au groupe phylogénétique F ou à un autre groupe phylogénétique.

5 DISCUSSION

5.1 *Distribution des infections*

La distribution des infections urinaires entre les hommes et les femmes montre que celles-ci touchent plus particulièrement les femmes, ceci est en accord avec ce que l'on sait puisqu'il existe un plus grand risque de contamination fécale chez les femmes que chez les hommes. Les femmes doivent donc avoir une probabilité d'infection par ces bactéries supérieure à celle des hommes, tous les autres critères étant identiques (âge, origine, ...).

On constate que la moyenne d'âge des personnes infectées dépend de leur sexe : la moyenne d'âge des hommes infectés est ainsi supérieure de 10 ans à celle des femmes. Le fait que le vieillissement, chez les hommes, entraîne une augmentation des infections urinaires s'explique facilement par le mécanisme d'infection. En effet, les hommes âgés ont des problèmes de santé qui leur sont propres : incontinence, prostatite, adénome de la prostate... Ces problèmes facilitent les infections bactériennes.

Les hôpitaux sont des lieux où l'on trouve, par la nature même des interventions médicales et la présence de personnes souffrant de maladies infectieuses, des risques d'infections nosocomiales. Il est donc normal que les personnes les ayant fréquentés aient plus de risques de développer des infections urinaires.

Sur les 28 personnes ayant développé une infection urinaire dans les 12 mois suivant un séjour à l'hôpital, 12 sont des hommes et 16 sont des femmes (On ne dispose pas des nombre sd'hommes et de femmes hospitalisés, mais il est raisonnable, en première approximation, de les considérer comme identiques). On peut donc en conclure que : les causes des infections urinaires dans les hôpitaux touchent de la même façon les hommes et les femmes.

Le pourcentage des hommes pour qui l'infection pourrait être due à un séjour à l'hôpital est de 9.1 %, si on le compare à celui des femmes qui est de 3.2 %, on observe que les infections se produisant lors d'un séjour à l'hôpital pourrait jouer un plus grand rôle dans les infections chez les hommes que chez les femmes. Toutefois il est aussi possible que ces infections urinaires soient dues à la pathologie ayant entraîné l'hospitalisation, telle qu'une pathologie du tractus urinaire, et non à l'hospitalisation elle-même.

Sachant que les infections urinaires hospitalières touchent autant les hommes que les femmes, mais aussi que les hommes sont moins touchés que les femmes hors des hôpitaux, les hommes hospitalisés ont donc une probabilité plus importante de développer une infection urinaire que les hommes non hospitalisés, mais, en l'absence d'informations supplémentaires sur les causes de l'hospitalisation, on ne peut conclure sur l'origine de l'augmentation de cette probabilité.

Concernant les signes d'infection urinaire, il a été constaté qu'ils apparaissaient chez 74% des personnes infectées, et ce, quel que soit le sexe de la personne.

Concernant les facteurs de virulence, on constate un pourcentage plus grand de souches possédant les gènes *papA* et *papG II/III* chez les souches provoquant des signes d'infection urinaire que chez celles ne provoquant pas de tels signes. Ceci laisserait supposer que le fimbria P aurait un rôle à jouer sur l'apparition de signes d'infection urinaire.

Le faible taux d'infections urinaires récurrentes (7 %), indépendamment du sexe ou de l'âge des personnes infectées, nous permet de supposer que les gènes permettant à la bactérie de persister chez l'hôte sont peu présents chez les souches étudiées. L'absence de différence de répartition par rapport à la présence ou non des différents facteurs de virulence entre les souches impliquées dans les infections urinaires récurrentes et celles non impliquées dans des infections urinaires récurrentes, suggère que le ou les facteurs impliqués dans cette récurrence ne font pas partie des facteurs de virulence criblés dans cette étude. Il est aussi possible que la récurrence soit due à une récurrence, causé par une souche différente, et non par une rechute. La récurrence pourrait alors être due à un facteur favorisant chez le patient.

Lorsque l'on étudie les groupes phylogénétiques auxquels appartiennent les souches, on observe que, conformément à ce que l'on peut lire dans la littérature sur les souches UPEC, la majorité de ces souches appartiennent aux groupes phylogénétiques B2 et D.

La proportion de souches de groupe phylogénétique A sort, elle, de l'ordinaire. Ce groupe phylogénétique représente, le plus souvent, les souches commensales, mais aussi les souches APEC. La présence d'un grand nombre de souches de groupe phylogénétique A pourrait être expliquée par un groupe distinct de souches, associé aux UTIs en Guadeloupe. Il est également possible que ces souches soient d'origine zoonotique avec une provenance alimentaire ou liées

à des produits avicoles. Des études plus approfondies seraient nécessaires afin de confirmer ou non une telle hypothèse.

5.2 **Virulence**

Les sidérophores sont les facteurs de virulence que l'on trouve le plus souvent parmi les souches provenant de Guadeloupe. En particulier, yersiniabactine que l'on trouve dans plus de 79 % des souches, mais aussi aérobactine que l'on trouve dans plus de 49 % des souches et salmochéline que l'on trouve dans plus de 40 % des souches.

La probabilité de trouver ces différents sidérophores dans les souches diffère selon le groupe phylogénétique de la souche :

- Yersiniabactine est principalement présente chez les souches de groupes phylogénétiques B2, D, F et C avec des pourcentages de présence supérieurs à 50 %.
- Aérobactine est lui présent chez plus de 50 % des souches de groupes phylogénétiques C, D et F.
- Salmochéline est présent chez plus de la moitié des souches de groupes phylogénétiques B2 et C.

À l'exception des souches appartenant au groupe phylogénétique C, les sidérophores sont principalement trouvés parmi les souches appartenant à des groupes phylogénétiques caractéristiques des UPEC. Ces groupes sont aussi ceux considérés comme les plus virulents.

La présence d'au moins un sidérophore semble importante pour qu'une infection urinaire ait lieu. Sur les 621 souches possédant des facteurs de virulence, seulement 19 des souches (3.1 %) ne possèdent aucun des sidérophores. Yersiniabactine et aérobactine sont aussi présents dans le profil du virotype le plus commun (42 souches) identifié dans cette étude.

Les autotransporteurs sont également présents de façon importante dans les souches. Le « vacuolating autotransporter » est celui que l'on trouve le plus souvent, il est présent dans presque la moitié des souches (47.8 %). En revanche, bien que présent dans la plupart des souches appartenant au groupe phylogénétique B2 (80 %), conformément à ce que l'on trouve dans la littérature, le « vacuolating autotransporter » est quasiment absent des souches appartenant aux autres groupes phylogénétiques.

Après les sidérophores et le « vacuolating autotransporter », la « secreted autotransporter toxin » est le facteur de virulence que l'on trouve le plus souvent dans les souches provenant de Guadeloupe (31.3 %). Contrairement au gène *vat*, *sat* est présent dans plusieurs groupes phylogénétiques (A, B2, C, D et F). On le trouve dans presque la moitié des souches appartenant au groupe phylogénétique B2.

On trouve ensuite le fimbria P dans 28 % des souches, ce qui est peu. Le fimbria P étant nécessaire pour qu'une souche infecte les reins et provoque une pyélonéphrite, on peut en déduire que les infections urinaires en Guadeloupe provoquent peu de pyélonéphrite.

L'hémolysine α et le « cytotoxic necrotizing factor type 1 » sont les deux toxines les plus présentes chez les souches, avec des pourcentages de présence respectifs de 24 % et 18.8 %. Si on compare ces chiffres à ceux trouvés dans la littérature, on peut conclure qu'elles sont peu présentes. En revanche, comme décrit dans la littérature, il existe une forte corrélation positive entre la présence de l'hémolysine α et celle du « cytotoxic necrotizing factor type 1 » (coefficient de corrélation de 0.8226) : 96.9 % des souches ayant *cnf1* ont aussi *hlyA*.

L'observation des groupes phylogénétiques auxquels appartiennent les souches montre que la présence de toxines dans une souche est caractéristique d'une souche de groupe phylogénétique B2.

La comparaison de la présence ou non des gènes *hlyA* et de l'hémolyse effectuée ou non dans chaque souche, nous montre que certaines souches (5 souches trouvées) peuvent faire de l'hémolyse tout en ne possédant pas le gène *hlyA*. Ces 5 souches posséderaient donc une toxine autre que l'hémolysine α capable de faire de l'hémolyse ou un allèle variant, non reconnu par les amorces de criblage.

D'autres souches (25 trouvées) possèdent, elles, le gène *hlyA* mais ne font pas d'hémolyse. Dans ce cas, il est possible qu'il existe une mutation ou une délétion dans l'opéron *hly* ou ailleurs chez ces souches qui inactiverait l'expression dans les conditions de culture utilisées, ou empêcherait la sécrétion ou l'activité de l'hémolysine. Il est aussi possible que l'opéron *hly* soit régulé de façon négative.

Le second fimbria que l'on trouve le plus souvent dans les souches étudiées est le fimbria F1C. Il est présent dans 13.6 % des souches, ce qui correspond à ce que l'on peut lire dans la littérature consacrée au sujet.

Le fimbriae S est lui présent dans 7.9 % des souches, ce qui est très inférieur à ce que l'on peut lire dans la littérature consacrée au sujet.

Le dernier facteur de virulence connu que l'on trouve dans les souches est la « temperature-sensitive hemagglutinin ». Il est présent chez 5.9 % des souches, ce qui est assez élevé en sachant que c'est un facteur de virulence caractéristique des APEC. D'autre part, le gène *tsh* est principalement trouvé dans les souches appartenant aux groupes phylogénétiques B1, C et E qui ne sont pas caractéristiques des UPEC, mais des APEC. Ces deux faits donnent à penser que l'on pourrait se trouver en présence d'infections causées par des souches d'*E. coli* qui avaient possiblement une origine aviaire.

L'analyse des nouveaux facteurs de virulence montre que les autotransporteurs chromosomiques A et B sont fortement présents parmi les souches de Guadeloupe. Ils sont non seulement présents dans 10 % et 11.5 % des souches, mais aussi présents chez les souches présentant le profil de facteurs de virulence le plus retrouvé. Ce profil est constitué des gènes : *sat*, *irp*, *fyuA*, *iutA* et *iucD* ainsi que de l'*AT A* et l'*AT B*. Il est retrouvé chez 42 des souches.

Ces souches pourraient faire partie d'un même groupe clonal, ce qui pourrait être vérifié par MLS. La forte corrélation entre la présence des facteurs de virulence autotransporteur A et la présence des facteurs de virulence autotransporteur B laisse à penser que ces deux autotransporteurs font partie du même îlot de pathogénicité.

En ce qui concerne les autres profils que l'on retrouve chez plus d'une personne infectée, ils pourraient correspondre à une même souches. Certaines des personnes infectées ont pu être infectées par la même souche.

En ce qui concerne les nouveaux gènes plasmidiques, on observe une corrélation positive parfaite entre la nouvelle toxine RTX et le nouvel autotransporteur, ainsi qu'entre les deux gènes codant pour le nouveau fimbria. Lorsque l'on additionne cela avec le fait que la nouvelle

toxine et le nouvel autotransporteur sont toujours présents dans une souche lorsque celle-ci possède le nouveau fimbria, on peut supposer que ces gènes ont été introduits dans la souche par un transfert de plasmide, soit complet soit incomplet.

5.3 **Hommes**

Les souches infectant les hommes font plus souvent partie du groupe phylogénétique B2 : 62.9 % (53 % pour les femmes). À l'inverse, les souches infectant les femmes font plus souvent partie des groupes phylogénétiques A et D. Cette observation, ajoutée au fait que l'on constate un nombre de systèmes de virulence plus important dans le groupe phylogénétique B2 (5.2 en moyenne) que dans n'importe quel autre groupe phylogénétique, explique le fait que l'on trouve, en moyenne, un nombre de facteurs de virulence plus important chez les souches infectant les hommes que chez les souches infectant les femmes. Un nombre de facteurs de virulence plus important se traduit par une plus grande virulence de la souche.

Cette plus grande virulence retrouvée chez les souches infectant les hommes est aussi démontrée par une présence, plus fréquente chez les hommes que chez les femmes, des facteurs de virulence suivants :

- Salmochéline
- « Vacuolating autotransporter »
- Fimbria F1C
- Hémolysine α
- « Cytotoxic necrotizing factor type 1 »

Tandis qu'aucun des facteurs de virulence criblés n'est présent en plus grande quantité chez les souches infectant les femmes par rapport aux souches infectant les hommes. En revanche, dans le cas de souches infectant les hommes atteints de la maladie du tractus urinaire, la fréquence de la présence de certains facteurs de virulence est moins importante que dans les souches infectant les hommes non atteints. Ces facteurs de virulence :

- « Cytotoxic necrotizing factor type 1 »
- Fimbria P
- Hémolysine α

Pourraient alors ne plus être nécessaires lors d'une infection facilitée par la maladie.

Selon le même raisonnement, on peut expliquer la présence, moins fréquente, des facteurs de virulence « secreted autotransporter toxin » et « temperature-sensitive hemagglutinin » chez les souches infectant les hommes de plus de 50 ans : les problèmes liés à l'âge facilitant l'infection.

5.4 **Groupe phylogénétique F**

Le groupe phylogénétique F est un groupe récemment identifié et encore peu caractérisé. On observe dans notre étude qu'il possède un fort taux de virulence (en moyenne 3 systèmes de virulence par souche) arrivant seulement second en termes de nombre de systèmes de virulence après le groupe phylogénétique B2.

Le groupe phylogénétique F est caractérisé par une absence des facteurs de virulence suivants :

- Fimbria F1C
- Fimbria S
- « Cytotoxic necrotizing factor type 1 »
- Hémolysine α
- Autotransporteur A

Il est aussi caractérisé par une faible présence du facteur de virulence « Vacuolating autotransporter et une forte présence des facteurs de virulence suivants :

- Aéro bactéine
- Fimbria P

6 CONCLUSION

La caractérisation de souches d'*E. coli* uropathogènes prélevées sur des personnes infectées en Guadeloupe montre la présence d'une majorité de souches appartenant aux groupes phylogénétiques caractéristiques des UPEC : B2 et D, mais aussi d'un certain nombre de souches appartenant à d'autres groupes phylogénétiques notamment un groupe phylogénétique encore peu étudié : le groupe phylogénétique F qui semble présenter une forte virulence.

Le criblage révèle la présence d'au moins 21 facteurs de virulence répartis de façons différentes sur chacune des souches, et notamment des sidérophores, que l'on trouve en quantités importantes dans les souches étudiées.

Le criblage a aussi permis de mettre en évidence un facteur de virulence caractéristique des APEC, la « temperature-sensitive hemagglutinin » mais aussi de nouveaux facteurs de virulence découverts par notre laboratoire dans une souche APEC : nouvelle toxine RTX, nouveau autotransporteur, nouveau fimbria et les autotransporteurs A et B ». La présence de ces facteurs de virulence démontre dans certains cas la présence de gènes de virulence conservés entre les souches APEC et les souches UPEC. Il existe donc une possibilité d'infection urinaire humaine causée par le transfert d'un réservoir de souches APEC et par là même, un risque d'infection causé par de la volaille infectée. Par contre, les souches possédant *tsh* représentent une minorité des profils observés.

Le criblage des facteurs de virulence et les tests d'hémolyses démontrent aussi la présence d'une toxine, autre que l'hémolyse α , permettant aux bactéries d'effectuer de l'hémolyse dans les souches provenant de Guadeloupe.

Les infections touchant les hommes, bien qu'en nombre inférieur à celles touchant les femmes, sont tout de même en nombre non négligeable et augmentent avec l'âge. La probabilité pour un homme d'avoir une infection urinaire causée par une souche d'*Escherichia coli* uropathogènes augmente aussi lors de séjour dans des hôpitaux où les risques d'infections sont plus élevés notamment à cause des soins reçus (exemple : utilisation d'un cathéter).

Les souches impliquées dans les infections urinaires chez les hommes contiennent, en moyenne, plus de facteurs de virulence que celles infectant les femmes. Les souches infectant les hommes ont une plus grande probabilité de présenter les facteurs de virulence suivants comparée aux souches infectant les femmes :

- Salmochéline
- « Vacuolating autotransporter »
- Fimbria F1C
- Hémolysine α
- « Cytotoxic necrotizing factor type 1 »

On retrouve trois profils de facteurs de virulence dans plus de 5 % des souches chacun :

- Profil 1 : *sat*, *irp*, *fyuA*, *iutA* et *iucD* ainsi que de l'*ATA* et l'*ATB*. Il est présent dans 42 souches soit 6 % des souches.
- Profil 2 : : *hlyA*, *cnf1*, *vat*, *focG*, *iroB*, *iroN*, *irp* et *fyuA*. Les souches de ce profil font de l'hémolyse. Il est présent dans 40 souches, soit 5.7 % des souches.
- Profil 3 : : *sat*, *irp*, *fyuA*, *iutA*, *iucD* et *vat*. Il est présent dans 36 souches, soit 5.2 % des souches.

Chacun de ces profils pourrait correspondre à un groupe clonal. Il serait intéressant d'effectuer des MLST sur certaines de ces souches afin de pouvoir valider cette hypothèse.

7 REFERENCES

- Abraham, J. M. F., Cynthia S; Clements, Janice R. and Eisenstein Barry I. (1985). "An invertible element of DNA controls phase variation of type 1 fimbriae of *Escherichia coli*." biochemistry **82**: 5724-5727.
- Achtman, M. H., Michael; Kusecek, Barica; Ochman, Howard; Caugant, Dominique; Selander, Robert K; Vaisanen-Rhen, Vuokko; Korhonen, Timo K; Stuart, Simon; Orskov, Frits and Orskov, Ida . (1986). "Clonal analysis of *Escherichia coli* O2K1 isolated from diseased humans and animals." infection and Immunity **51**: 268-276.
- Agus, A., S. Massier, A. Darfeuille-Michaud, E. Billard and N. Barnich (2014). "Understanding host-adherent-invasive *Escherichia coli* interaction in Crohn's disease: opening up new therapeutic strategies." Biomed Res Int **2014**: 567929.
- Antao, E. M., L. H. Wieler and C. Ewers (2009). "Adhesive threads of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*." Gut Pathog **1**(1): 22.
- Aulipere; Leinonen, M. V.-R., Vuokko ; Hen, Mikael R. and Korhonen, Timok . (1984). "Occurrence of type-1C fimbriae on *Escherichia coli* strains isolated from human extraintestinal infections." journal of general biology.
- Bergsten, G., B. Wullt and C. Svanborg (2005). "*Escherichia coli*, fimbriae, bacterial persistence and host response induction in the human urinary tract." Int J Med Microbiol **295**(6-7): 487-502.
- Boquet, P. (2001). "The cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF1) from *Escherichia coli*." toxicon **39**: 1673-1681.
- Bradford, P. A. (2001). "Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat." Clin Microbiol Rev **14**(4): 933-951, table of contents.
- Brock, J. H. W., Peter H; Lictaga, Joan ; and Wooldridge Karl G.2 (1991). "Relative availability of transferrin-bound iron and cell-derived iron to aerobactin-producing and enterochelin-producing strains of *Escherichia coli* and to other microorganisms." Infection and Immunity **59**: 3185-3190.
- Caza, M., A. Garenaux, F. Lepine and C. M. Dozois (2015). "Catecholate siderophore esterases Fes, IroD and IroE are required for salmochelins secretion following utilization, but only IroD contributes to virulence of extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*." Mol Microbiol **97**(4): 717-732.
- Caza, M., F. Lepine, S. Milot and C. M. Dozois (2008). "Specific roles of the iroBCDEN genes in virulence of an avian pathogenic *Escherichia coli* O78 strain and in production of salmochelins." Infect Immun **76**(8): 3539-3549.
- Clermont, O., J. K. Christenson, E. Denamur and D. M. Gordon (2013). "The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups." Environ Microbiol Rep **5**(1): 58-65.

- Clermont, O., M. Olier, C. Hoede, L. Diancourt, S. Brisse, M. Keroudean, J. Glodt, B. Picard, E. Oswald and E. Denamur (2011). "Animal and human pathogenic Escherichia coli strains share common genetic backgrounds." Infect Genet Evol **11**(3): 654-662.
- Davis, N. F. a. F., Hugh D. (2011). "The Pathogenesis of Urinary Tract Infections." Clinical Management of Complicated Urinary Tract Infection, Dr. Ahmad Nikibakhsh.
- Dozois, C. M. D.-M., Maryvonne ; Bre'e, Annie ; Fairbrother, John M; Desautels, Clarisse and Curtiss Roy III (2000). "Relationship between the Tsh autotransporter and pathogenicity of avian Escherichia coli and localization and analysis of the Tsh genetic region." Infection and Immunity **68**: 4145-4154.
- Freitag, C. S. a. E., Barry I. (1983). "Genetic mapping and transcriptional orientation of the fimD gene." journal of bacteriology **156**: 1052-1058.
- Fronzes, R., P. J. Christie and G. Waksman (2009). "The structural biology of type IV secretion systems." Nat Rev Microbiol **7**(10): 703-714.
- Gal-Mor, O. and B. B. Finlay (2006). "Pathogenicity islands: a molecular toolbox for bacterial virulence." Cell Microbiol **8**(11): 1707-1719.
- Garcia, T. A. V., Christy L; Smith, Mark A; Merrell, D. Scott; O'Brien, Alison D.. (2012). "Cytotoxic Necrotizing Factor 1 and Hemolysin from Uropathogenic Escherichia coli Elicit Different Host Responses in the Murine Bladder." Infection and Immunity **81**.
- Garenaux, A., M. Caza and C. M. Dozois (2011). "The Ins and Outs of siderophore mediated iron uptake by extra-intestinal pathogenic Escherichia coli." Vet Microbiol **153**(1-2): 89-98.
- Guyer, D. M., S. Radulovic, F. E. Jones and H. L. T. Mobley (2002). "Sat, the Secreted Autotransporter Toxin of Uropathogenic Escherichia coli, Is a Vacuolating Cytotoxin for Bladder and Kidney Epithelial Cells." Infection and Immunity **70**(8): 4539-4546.
- Guyer, D. M. H., Ian R; and J. P. a. M. Nataro, Harry L. T. (2000). "Identification of sat, an autotransporter toxin produced by uropathogenic Escherichia coli." Molecular Microbiology **38**: 53-66.
- Hacker, J. a. K., James B. (2000). "Pathogenicity Islands and the Evolution of Microbes." annual reviews microbiology **54**: 641-679.
- Hacker, J. B.-O., G; Muhldorfer, I and and T. Tschape (1997). "Pathogenicity islands of virulent bacteria structure, function and impact on microbial evolution." molecular Microbiology **23**: 1089-1097.
- Hal Jones, C. P., Jerome S; Nicholes, Andy V; Slonim, Lynn N; Abraham, Soman N. and HultGren scott J. (1993). "FimC is a periplasmic PapD-like chaperone that directs assembly of type 1 pili in bacteria." biochemistry **90**: 8397-8401.
- Heimer, S. R., D. A. Rasko, C. V. Lockatell, D. E. Johnson and H. L. T. Mobley (2003). "Autotransporter Genes pic and tsh Are Associated with Escherichia coli Strains That Cause Acute Pyelonephritis and Are Expressed during Urinary Tract Infection." Infection and Immunity **72**(1): 593-597.
- Henderson, I. R. N.-G., Fernando and Nataro, James P. (1998). "The great escape structure and function of the autotransporter proteins." trends in Microbiology **6**.

- Hight, N. J. H., Barbara A; Jann, Klaus and Boulnois, Graham J. (1987). "A block of urovirulence genes encoding multiple fimbriae and hemolysin in *Escherichia coli* O4K12H-." Infection and immunity **56**: 513-517.
- Holden, V. I. and M. A. Bachman (2015). "Diverging roles of bacterial siderophores during infection." Metallomics **7**(6): 986-995.
- Jaureguy, F., L. Landraud, V. Passet, L. Diancourt, E. Frapy, G. Guigon, E. Carbonnelle, O. Lortholary, O. Clermont, E. Denamur, B. Picard, X. Nassif and S. Brisse (2008). "Phylogenetic and genomic diversity of human bacteremic *Escherichia coli* strains." BMC Genomics **9**: 560.
- Johnson, J. R. and T. A. Russo (2002). "Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* : "The other bad *E coli* ". " Journal of Laboratory and Clinical Medicine **139**(3): 155-162.
- Johnson, T. J., S. Kariyawasam, Y. Wannemuehler, P. Mangiamele, S. J. Johnson, C. Doetkott, J. A. Skyberg, A. M. Lynne, J. R. Johnson and L. K. Nolan (2007). "The genome sequence of avian pathogenic *Escherichia coli* strain O1:K1:H7 shares strong similarities with human extraintestinal pathogenic *E. coli* genomes." J Bacteriol **189**(8): 3228-3236.
- Kaper, J. B., J. P. Nataro and H. L. Mobley (2004). "Pathogenic *Escherichia coli*." Nat Rev Microbiol **2**(2): 123-140.
- Khan, A. S. K., Bernhard ; Oelschlaeger, Tobias A; Van Die, Irma ; Korhonen, Timo and Hacker, Jörgl (2000). "Receptor Structure for F1C Fimbriae of Uropathogenic *Escherichia coli*." Infection and Immunity **68**: 3541-3547.
- Klemm, P. (1984). "<The *fimA* gene encoding the type-1 fimbrial subunit of *Escherichia coli*.pdf>." eur j biochemistry **143**: 395-399.
- Klemm, P. and M. A. Schembri (2000). "Bacterial adhesins: function and structure." International Journal of Medical Microbiology **290**(1): 27-35.
- Kobayashi, R. K. T., L. C. J. Gaziri and M. C. Vidotto (2010). "Functional activities of the Tsh protein from avian pathogenic *Escherichia coli*(APEC) strains." Journal of Veterinary Science **11**(4): 315.
- Lasaro, M. A., N. Salinger, J. Zhang, Y. Wang, Z. Zhong, M. Goulian and J. Zhu (2009). "F1C fimbriae play an important role in biofilm formation and intestinal colonization by the *Escherichia coli* commensal strain Nissle 1917." Appl Environ Microbiol **75**(1): 246-251.
- Lavoie, R. (2013). Lavoie Rémi 2013 memoire.
- Lillington, J., S. Geibel and G. Waksman (2014). "Biogenesis and adhesion of type 1 and P pili." Biochim Biophys Acta **1840**(9): 2783-2793.
- Lin, H., M. A. Fischbach, D. R. Liu and C. T. Walsh (2005). "In vitro characterization of salmochelin and enterobactin trilactone hydrolases IroD, IroE, and Fes." J Am Chem Soc **127**(31): 11075-11084.
- Lorenzo, M. D. a. S., Michiel . (2014). "Plasmid-Encoded Iron Uptake Systems." microbiology spectrum.
- Mellata, M. (2013). "Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends." Foodborne Pathog Dis **10**(11): 916-932.

- Minion, F. C. A., Soman N; Beachey, Edwin H. and Gogueni, Jon D. (1985). "The genetic determinant of adhesive function in type 1 fimbriae of *Escherichia coli* is distinct from the gene encoding the fimbrial subunit." journal of bacteriology **165**: 1033-1036.
- Moulin-Schouleur, M., M. Reperant, S. Laurent, A. Bree, S. Mignon-Grasteau, P. Germon, D. Rasschaert and C. Schouler (2007). "Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence patterns." J Clin Microbiol **45**(10): 3366-3376.
- Mulvey, M. A. L.-B., Yolanda S; Wilson, Carole L; Roth, Robyn; Parks, William C; Heuser, John; Hultgren, Scott J. (1998). "Induction and Evasion of Host Defenses by Type 1-Piliated Uropathogenic *Escherichia coli*." Science **282**.
- Nishimura, K., Y. H. Yoon, A. Kurihara, S. Unzai, J. Luirink, S. Y. Park and J. R. Tame (2010). "Role of domains within the autotransporter Hbp/Tsh." Acta Crystallogr D Biol Crystallogr **66**(Pt 12): 1295-1300.
- Parreira, V. R. and C. L. Gyles (2003). "A Novel Pathogenicity Island Integrated Adjacent to the thrW tRNA Gene of Avian Pathogenic *Escherichia coli* Encodes a Vacuolating Autotransporter Toxin." Infection and Immunity **71**(9): 5087-5096.
- Rahdar, M., A. Rashki, H. R. Miri and M. Rashki Ghalehnoo (2015). "Detection of pap, sfa, afa, foc, and fim Adhesin-Encoding Operons in Uropathogenic *Escherichia coli* Isolates Collected From Patients With Urinary Tract Infection." Jundishapur J Microbiol **8**(8): e22647.
- Restieri, C., G. Garriss, M. C. Locas and C. M. Dozois (2007). "Autotransporter-encoding sequences are phylogenetically distributed among *Escherichia coli* clinical isolates and reference strains." Appl Environ Microbiol **73**(5): 1553-1562.
- Sabtu, N., D. A. Enoch and N. M. Brown (2015). "Antibiotic resistance: what, why, where, when and how?" Br Med Bull.
- Schwan, W. R. (2011). "Regulation of genes in uropathogenic." World J Clin Infect Dis **1**(1): 17-25.
- Smith, M. A., R. A. Weingarten, L. M. Russo, C. L. Ventura and A. D. O'Brien (2015). "Antibodies against hemolysin and cytotoxic necrotizing factor type 1 (CNF1) reduce bladder inflammation in a mouse model of urinary tract infection with toxigenic uropathogenic *Escherichia coli*." Infect Immun **83**(4): 1661-1673.
- Stathopoulos, C. P., David L. and Curtiss Roy III (1999). "Characterization of the avian pathogenic *Escherichia coli* hemagglutinin Tsh, a member of the immunoglobulin A protease-type family of autotransporter." Infection and Immunity **67**: 772-781.
- Thanassi, D. G., S. P. Nuccio, S. Shu Kin So and A. J. Baumler (2007). "Fimbriae: Classification and Biochemistry." EcoSal Plus **2**(2).
- Thomas, S., I. B. Holland and L. Schmitt (2014). "The Type 1 secretion pathway - the hemolysin system and beyond." Biochim Biophys Acta **1843**(8): 1629-1641.
- Waksman, G. and S. J. Hultgren (2009). "Structural biology of the chaperone-usher pathway of pilus biogenesis." Nat Rev Microbiol **7**(11): 765-774.

Zhang, H., T. T. Susanto, Y. Wan and S. L. Chen (2016). "Comprehensive mutagenesis of the fimS promoter regulatory switch reveals novel regulation of type 1 pili in uropathogenic Escherichia coli." Proc Natl Acad Sci U S A.