



République Algérienne Démocratique et Populaire



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 20 أوت 1955 سكيكدة

Université du 20 Août 1955 Skikda

Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

**THESE**

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de

**Doctorat (LMD)**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

**Etude de la résistance aux  $\beta$ -lactamines des Entérobactéries  
responsables des maladies infectieuses dans la wilaya de Skikda**

**Thème**

Présentée par M<sup>elle</sup> : Bougouizi Amina

**Devant le Jury**

Pr. Djerrou Zouhir	Professeur	Président	Université de Skikda
Pr. Chekroud Zohra	Professeur	Directrice de thèse	Université de Skikda
Pr. Agabou Amir	Professeur	Examineur	Université de Constantine
Dr. Bechecker Imène	Maître de Conférences A	Examinatrice	Université de Skikda
Dr. Rahab Hamza	Maitre chercheur	Co-directeur de thèse	Centre de Recherche en Biotechnologie-Constantine
Pr. Touati Abdelaziz	Professeur	Membre invité	Université de Béjaia

**Année universitaire : 2024-2025**

# Remerciements



En tout premier lieu, je remercie **Allah**, le tout puissant pour m'avoir donné le courage, la patience, la santé et la volonté nécessaires pour mener à terme ce travail.

J'exprime mes plus vifs remerciements à ma directrice de thèse, **Professeur Chekroud Zohra**, professeur en Microbiologie appliquée à l'université de Skikda, pour m'avoir encadrée et encouragée durant cette épreuve. Je suis profondément reconnaissante pour sa confiance en moi et en mes capacités. Sa bienveillance et ses conseils précieux ont été d'une aide inestimable et ont constamment alimenté ma motivation. Au-delà de notre relation académique, je tiens à souligner qu'elle a été pour moi une sœur qui prodigue des conseils avisés, empreints de sagesse, et qui ont été d'un grand bénéfice et source d'encouragement. Merci infiniment pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Aucune formulation adoptée ne serait suffisante pour exprimer ma gratitude à mon co-directeur de thèse **Docteur Rahab Hamza**, Maître chercheur au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine, qui m'a beaucoup apporté autant scientifiquement que professionnellement et humainement, Merci infiniment pour vos encouragements, votre disponibilité permanente et vos conseils constructifs. Sans votre soutien indéfectible, je n'aurais jamais pu atteindre ce niveau d'accomplissement.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance au **Professeur Touati Abdellaziz**, de l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, dont la vaste expérience dans le domaine scientifique, en particulier dans celui de l'antibiorésistance, a été d'une aide précieuse tout au long de ce travail. Votre collaboration et votre sens critique ont grandement enrichi cette recherche. Votre suivi attentif et votre rigueur m'ont permis de rester vigilante et de mener à bien ce projet dans les délais impartis. Je vous suis infiniment reconnaissante pour votre soutien.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers **Docteur Daniela Scribano** et **Professeur Cecilia Ambrosi**, chercheuses au laboratoire de Microbiologie du département de Santé Publique et Maladies Infectieuses de l'Université de Sapienza en Italie ainsi qu'à leur doctorante **Astri Dwyanti Tagueha**. Leur accueil chaleureux et leur grande modestie ont rendu mon séjour inoubliable et m'ont permis de m'adapter en peu de temps. Leurs conseils précieux ont été d'une aide inestimable tout au long de cette expérience. Leur générosité et

leur expertise ont considérablement enrichi mon expérience de recherche et ont contribué de manière significative à l'avancement de ma thèse. Au-delà de notre collaboration professionnelle, je tiens à souligner la précieuse amitié qu'elles m'ont offerte. Leurs qualités modestes ont été une source d'inspiration pour moi. « Siete davvero il miglior team che abbia mai incontrato in vita mia ».

### **J'exprime ma profonde gratitude aux membres du jury**

- ✓ **Professeur Djerrou Zouhir**, de l'Université de Skikda pour avoir honoré cette thèse en acceptant de présider le jury. Qu'il trouve ici le témoignage de ma très haute considération.
- ✓ **Professeur Agabou Amir**, de l'Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie, qui m'a fait l'honneur de participer à ce jury et d'examiner ce travail.
- ✓ **Docteur Becheker Imène**, Maitre de conférence A à l'université de Skikda, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de faire partie de mon jury de thèse.

### **Mes vifs remerciements vont également à :**

✓ A **Dr. Timekness** et **Dr. Maizi** pour m'avoir accordé l'accès au laboratoire de Microbiologie de l'EPH Abd Errezek Bouhara. L'agréable et l'inoubliable personnel de ce service qui m'a toujours très bien accueillie et m'a témoigné une grande sympathie et amitié. En particulier, je souhaite exprimer ma reconnaissance envers **Boussouf Manel**, dont la rencontre a été extrêmement précieuse et qui m'a apporté un soutien considérable sur la paillasse. Elle est aujourd'hui l'une des amies les plus chères à mon cœur. Et aussi à **Boucharbat Nawel**. Je voudrais également rendre hommage à **Djeghiour Nawel**, dont le décès à un âge relativement jeune a été une perte douloureuse pour nous tous. « Que Dieu la bénisse ».

✓ A **Dr. Benjamaa A**, le **Dr. Oudina F**, le **Dr. Boumoud S**, le **Dr. Bouzrara M**, le **Dr. Chaib**, le **Dr. Messaoudi** et le **Dr. Boughlita**, responsables des laboratoires cliniques privés, pour leur précieuse contribution à la collecte des souches bactériennes. Je tiens particulièrement à remercier le **Dr. Benjamaa** pour avoir facilité l'obtention du plus grand nombre de souches, ainsi que le **Dr. Oudina F**, qui m'a apporté un soutien matériel précieux. J'ouvre une parenthèse ici pour exprimer ma profonde gratitude envers mon collègue de master **Djaballah Hachem** qui est aujourd'hui membre du personnel du laboratoire El Faycal. Son dévouement sans faille et son soutien constant ont été d'une

valeur incommensurable pour moi. Je tiens à le remercier sincèrement pour son aide précieuse, que je n'oublierai jamais.

✓ Au personnel des laboratoires du Centre de recherche en biotechnologie à Constantine, notamment ceux du laboratoire de Microbiologie, représentés par **Ikhled Assia, Meguessi Asma** et **Bounneche Maewa Hibatu Allah**, ceux du laboratoire de Biologie moléculaire, comprenant **Boudchicha Rima Hind, Boumegoura Ali** et **Bellara Saloua**, ainsi que du laboratoire de Biotechnologies animales, à savoir **Aissous Radwane, Medjdoub Sara, Sedira Chams El dine** et **Laamamria Roumaissa**, et aussi à d'autres chercheurs et ingénieurs au centre, en tête **Mezded Meriem, Smadi Adnane, Aroui Dounia, Boutaleb Hinda**, et **Ahmed lalaoui Hamza**. Leur soutien, leurs encouragements, l'atmosphère familiale et l'ambiance chaleureuse qu'ils ont créés m'ont aidé à surmonter mes craintes et à me relever après chaque échec, afin de persévérer dans mes essais. Je vous remercie du plus profond de mon cœur. Vous resterez gravés dans ma mémoire jusqu'au dernier jour de ma vie.

✓ Je tiens à adresser une reconnaissance spéciale à **Mezdad Meriem**, qui a profondément marqué mes parents et moi par un geste de générosité qui restera gravé dans nos cœurs. Nous vous considérons désormais comme un membre de notre famille et vous souhaitons, du fond de nos cœurs, tout le bonheur que la vie peut offrir.

✓ Sans oublier **Dr Boudeffa Khaled**, Maître de Conférences A à l'Université de Skikda, Ses conseils précieux et ses encouragements ont été d'une aide considérable.

✓ Ma sincère gratitude va également à tous **les collègues et les enseignants du département des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Skikda**. Leur soutien, qu'il s'agisse d'un mot d'encouragement ou d'un précieux conseil, a été grandement apprécié.

Enfin, je remercie infiniment toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



# Dédicace



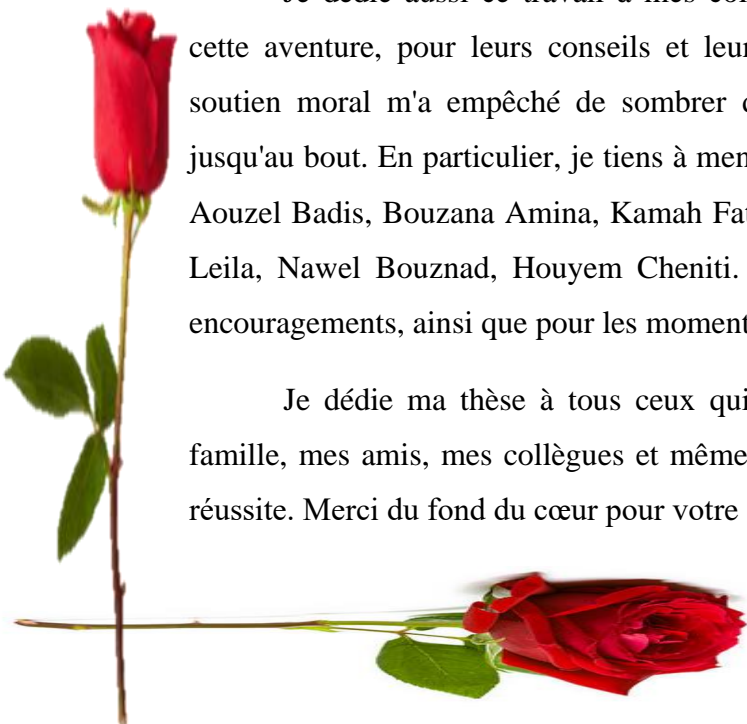
Je dédie ce travail avec tout mon cœur et ma reconnaissance éternelle à mes chers parents, dont le soutien indéfectible a été la lumière qui a guidé chaque étape de ce voyage difficile. Votre encouragement constant, votre soutien moral et matériel, ainsi que votre patience infinie ont été les piliers sur lesquels j'ai pu m'appuyer pour atteindre ce niveau. Les sacrifices que vous avez consentis et les épreuves que vous avez endurées à mes côtés tout au long de cette aventure sont gravés dans les pages même de cette thèse. Sans votre amour inconditionnel et votre confiance en mes capacités, cette réussite aurait été inconcevable. Cette thèse est autant la vôtre que la mienne, car elle témoigne de votre dévouement et de votre amour inégalé.

Je souhaite également dédier ce travail à mes frères Mohamed et Hamza, dont l'encouragement constant a été une source d'inspiration tout au long de ce parcours. Votre soutien et votre motivation ont été des éléments essentiels qui ont alimenté ma détermination à réussir.

Cette thèse est également dédiée, avec une gratitude infinie, à mon fiancé. Je te remercie pour l'amour inconditionnel et le soutien immense que tu m'as apportés cette dernière année. Ta présence à mes côtés a été une source constante de réconfort et de force, m'aidant à surmonter mes peurs et à relever les défis avec confiance.

Je dédie aussi ce travail à mes collègues doctorants que j'ai rencontrés au cours de cette aventure, pour leurs conseils et leur capacité à alléger les moments difficiles. Leur soutien moral m'a empêché de sombrer dans le désespoir et m'a encouragé à persévérer jusqu'au bout. En particulier, je tiens à mentionner Lamraoui Zohra El Imen, Halfaoui Zohor, Aouzel Badis, Bouzana Amina, Kamah Fatima, Kirat Hassina, Derdechi Roumaissa, Djerrab Leila, Nawel Bouznad, Houyem Cheniti. Merci pour votre amitié, votre solidarité et vos encouragements, ainsi que pour les moments agréables que nous avons partagés.

Je dédie ma thèse à tous ceux qui m'aiment et ont prié pour moi, que ce soit ma famille, mes amis, mes collègues et même ceux qui, de loin ou de près, ont contribué à ma réussite. Merci du fond du cœur pour votre amour et votre bienveillance.



## Table des matières

Résumés .....	XI
Liste des figures .....	XIV
Liste des tableaux .....	XVI
Liste des abréviations .....	XVII
Introduction générale .....	1

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

<b>1</b>	<b>Les infections bactériennes .....</b>	<b>5</b>
	1.1 Définition .....	5
	1.2 Types d'infections .....	5
<b>2</b>	<b>Les entérobactéries.....</b>	<b>6</b>
	2.1 <i>Escherichia coli</i> .....	7
	2.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	8
	2.3 <i>Enterobacter cloacae</i> .....	9
	2.4 <i>Serratia marcescens</i> .....	10
	2.5 <i>Proteus mirabilis</i> .....	10
	2.6 <i>Salmonella spp.</i> .....	11
	2.7 Traitement des infections à entérobactéries .....	11
<b>3</b>	<b>Les <math>\beta</math>-lactamines .....</b>	<b>12</b>
	3.1 Mécanisme d'action des $\beta$ -lactamines.....	13

3.2	Classification des $\beta$ -lactamines .....	13
3.2.1	Pénicillines .....	13
3.2.2	Céphalosporines .....	14
3.2.3	Carbapénèmes .....	17
3.2.4	Monobactames .....	17
3.2.5	Inhibiteurs de $\beta$ -lactamase.....	18
<b>4</b>	<b>La résistance aux <math>\beta</math>-lactamines .....</b>	<b>18</b>
4.1	Résistance non enzymatique .....	19
4.2	Résistance enzymatique par production de $\beta$ -lactamase .....	20
4.3	$\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE).....	21
4.3.1	BLSE de type TEM .....	22
4.3.2	BLSE de type SHV .....	22
4.3.3	BLSE de type CTX-M.....	23
4.4	Céphalosporinases ou Enzymes AmpC.....	24
4.5	Carbapénèmases .....	25
4.5.1	Carbapénèmases à Serine actif.....	26
4.5.2	Métallo $\beta$ -Lactamases (M $\beta$ L).....	29
4.5.3	Traitement des infections à entérobactéries productrices de carbapénèmases .....	32
4.5.4	Mesures prophylactiques et stratégies de lutte contre les infections à entérobactéries productrices de carbapénèmases .....	33

4.5.5 Situation en Algérie.....	33
---------------------------------	----

## **Chapitre II : Matériel et Méthodes**

<b>1</b>	<b>Collecte des souches bactériennes.....</b>	<b>36</b>
1.1	Choix des laboratoires.....	36
1.2	Recueil des souches.....	37
1.3	Conservation des souches.....	37
<b>2</b>	<b>Confirmation de l'identification et de la sensibilité aux antibiotiques.....</b>	<b>38</b>
2.1	Evaluation de la CMI de la Colistine .....	40
2.1.1	Méthode de diffusion des disques de colistine en bouillon.....	40
2.1.2	Méthode de micro-dilution en bouillon.....	42
<b>3</b>	<b>Etude phénotypique de la production de <math>\beta</math>-lactamases .....</b>	<b>44</b>
3.1	Recherche de la production de $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) .....	44
3.2	Test de synergie.....	44
3.2.1	Confirmation de la production de BLSE par la méthode des disques combinés.....	45
3.3	Recherche de la production de carbapénèmases .....	46
3.3.1	Test Carba NP modifié.....	47
3.3.2	Test à l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) .....	49
3.3.3	Test à l'acide boronique .....	50
<b>4</b>	<b>Etude moléculaire de la production de <math>\beta</math>-lactamase .....</b>	<b>51</b>
4.1	L'extraction de l'ADN bactérien.....	51

4.2	La réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) .....	52
4.3	Electrophorèse sur gel d'agarose (AGE).....	54
4.4	Purification des produits positifs de la PCR (Gènes de carbapénèmase).....	55
4.5	Séquençage des gènes codant la carbapénèmase .....	56
<b>5</b>	<b>Caractérisation moléculaire des souches d'<i>Escherichia coli</i> des patients hospitalisés et des patients externes .....</b>	<b>57</b>
5.1	Génotypage.....	57
5.2	Phylogroupage.....	58
5.3	Gènes de virulence .....	60
<b>6</b>	<b>Analyse statistique.....</b>	<b>64</b>

### **Chapitre III : Résultats**

<b>1</b>	<b>Caractéristiques des entérobactéries résistantes aux C3G.....</b>	<b>65</b>
1.1	Répartition des espèces d'E-RC3G selon l'origine des prélèvements.....	65
1.2	Répartition des isolats selon la nature de prélèvement .....	66
1.3	Répartition des isolats en fonction du sexe des patients .....	67
1.4	Répartition des isolats selon l'âge des patients .....	68
1.5	Répartition des souches des patients hospitalisés en fonction des services d'admission .....	68
<b>2</b>	<b>Evaluation de la résistance des E-RC3G aux antibiotiques .....</b>	<b>69</b>
2.1	Répartition de la résistance aux antibiotiques des espèces d' E-RC3G prédominantes .....	71

<b>3</b>	<b>Caractérisation de la résistance aux <math>\beta</math>-lactamines .....</b>	<b>72</b>
3.1	$\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) .....	72
3.1.1	Tests phénotypiques .....	72
3.1.2	Répartition des souches productrices de BLSE en fonction des types de prélèvements .....	73
3.1.3	Sensibilité aux antibiotiques des souches BLSE et des non BLSE.....	74
3.1.4	Analyse moléculaire .....	75
3.2	Cephalosporinases AmpC .....	77
3.2.1	Analyse moléculaire .....	77
3.3	Carbapénèmases .....	78
3.3.1	Sensibilité aux antibiotiques des isolats CRE .....	78
3.3.2	Tests phénotypiques .....	79
	<input type="checkbox"/> Test Carba NP modifié (CNPm).....	79
	<input type="checkbox"/> Test à l'éthylène-diamine-tétra-acétate (EDTA) .....	80
	<input type="checkbox"/> Test à l'acide boronique (Ab).....	80
3.3.3	Analyse moléculaire .....	81
3.3.4	Séquençage des gènes de carbapénémase .....	82
3.4	Co-production de $\beta$ -lactamase.....	84
<b>4</b>	<b>Etude de la résistance à la colistine.....</b>	<b>86</b>
4.1	Résultat de la CMI.....	86
4.2	Analyse moléculaire .....	86

<b>5</b>	<b>Caractérisation moléculaire des souches d'<i>Escherichia coli</i> des patients hospitalisés et des patients externes .....</b>	<b>87</b>
5.1	Génotypage.....	87
5.2	Phylogroupage.....	89
5.3	Virulence des <i>E. coli</i> .....	91
	<b>Chapitre IV : Discussion .....</b>	<b>98</b>
	<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>114</b>
	<b>Références bibliographiques</b>	
	<b>Annexes</b>	
	<b>Productions scientifiques</b>	

## Résumé

Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (E-RC3G) suscitent une préoccupation grandissante en raison de leur prévalence croissante, en particulier en pays en développement, notamment en Algérie. Cette étude vise à étudier les déterminants de la résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) et les facteurs de virulence qui leur sont associés, en milieu hospitalier et communautaire à la wilaya de Skikda. Des souches d'E-RC3G sont collectées au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Abderrezek Bouhara ainsi qu'à partir de différents laboratoires cliniques privés (LCP) situés à Skikda, durant une période allant d'octobre 2020 à juin 2022. L'identification et la sensibilité aux antibiotiques sont confirmées au moyen du Système VITEK 2. La recherche de la production de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) ainsi que la production de carbapénémase chez les souches résistantes au carbapénème ont été déterminées par un ensemble de tests phénotypiques (Antibiogramme) et génotypiques (PCR et séquençage). Les souches *Escherichia coli* étaient classées en phylogroupes, génotypées en utilisant la Eric PCR, et les gènes de virulence étaient recherchés par PCR. Au total, 82 E-RC3G sont collectées, 37 provenant de l'hôpital et 45 des LCP, principalement *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*. La majorité (67 %) des isolats provenaient d'infections urinaires. Un taux élevé des souches (69,5 %) étaient multirésistantes. Les souches des patients externes (PE) présentaient des profils de résistance aux antibiotiques comparables à ceux des souches des patients hospitalisés (PH). La plupart des E-RC3G (87 %) étaient productrices de BLSE, avec une prédominance du gène *blaCTX-M* (96 %). Les gènes codant l'AmpC sont détectés chez 7 souches, dont 5 portaient *blaCMY* et 2 *blaDHA*. Parmi les 15 entérobactéries productrices de carbapénémase (CPE), le type NDM (NDM-1 et NDM-5) était prédominant, présent chez 87 % des isolats. Les types OXA-48 et OXA-244 ont chacun été détectés chez un isolat de PE. Les isolats d'*E. coli* de PH appartenaient principalement au phylogroupe A, tandis que ceux des PE étaient majoritairement du phylogroupe B2. Les gènes de virulence étaient plus fréquents chez les souches des PE, à l'exception de *fyuA*, *traT*, *feoB* et *irp2*, plus prévalent chez les souches hospitalières, Cependant, seul *fyuA* y était associé de manière significative, tandis que *yadN* et *chuA* étaient spécifiquement liés aux PE. Le génotypage a révélé des liens clonaux à 60 % entre certaines *E. coli* de l'hôpital et des LCP. L'émergence des E-RC3G virulentes et co-résistantes aux carbapénèmes en milieu hospitalier et communautaire à Skikda représente un défi thérapeutique majeur. Cette étude est la première réalisée à Skikda pour caractériser ces isolats en explorant leurs mécanismes de résistance et leurs facteurs de virulence. Cette situation souligne l'urgence d'une surveillance continue dans ces deux milieux pour limiter leur propagation.

**Mots clés :** Entérobactérie résistante aux céphalosporines de troisième génération (E-RC3G) ; carbapénémase ; BLSE ; patient hospitalisé ; patient externe ; Virulence ; Skikda.

## ملخص

تسبب البكتيريا المعوية المقاومة للجبل الثالث من السيفالوسبورينات (E-RC3G) قلقاً متزايداً بسبب تزايد انتشارها، خاصة في البلدان النامية، بما في ذلك الجزائر. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد آليات مقاومة الجبل الثالث من السيفالوسبورينات (C3G) وعوامل الضراوة المرتبطة بها في المستشفيات والمجتمعات المحلية في ولاية سكيكدة. تم جمع E-RC3G من مختبر الأحياء الدقيقة في مستشفى عبد الرزاق بوحارة ومن مختلف المختبرات الطبية الخاصة (LCP) الموجودة في سكيكدة، على مدى فترة امتدت من أكتوبر 2020 إلى يونيو 2022. تم التأكد من هوية البكتيريا ومدى حساسيتها للمضادات الحيوية باستخدام نظام VITEK 2 وتم التحقق من إنتاج أنزيم بيتا لاكتاماز الممتد الطيف (BLSE) وكذلك إنتاج الكاربابينيماز في السلالات المقاومة للكاربابينيم من خلال مجموعة من اختبارات النمط الظاهري (تخطيط حساسية المضادات الحيوية) والنمط الجيني (تفاعل البوليميراز المتسلسل والتسلسل الجيني). صُنفت سلالات الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*) إلى مجموعات شُعبيية، وصُنفت إلى أنماط جينية باستخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل باستخدام تقنية إريك (Eric-PCR)، كما فُحصت جينات الضراوة بواسطة تفاعل البوليميراز المتسلسل. تم جمع 82 بكتيريا E-RC3G، 37 منها من المستشفى و45 من LCP، معظمها من البكتيريا الإشريكية القولونية (*E. coli*) والكليسيلا الرئوية (*Klebsiella pneumoniae*). معظم العزلات (67%) من عينات البول. نسبة عالية من السلالات (69.5%) كانت متعددة المقاومة للأدوية. أظهرت السلالات المأخوذة من مرضى العيادات الخارجية (PE) أن ملامح مقاومة المضادات الحيوية مشابهة لسلالات المرضى الداخليين (PH). أغلب سلالات E-RC3G (87%) كانت منتجة لل BLSE، مع طغيان جين (96%) *blaCTX-M*. تم الكشف عن جينات ترميز AmpC في 7 سلالات، 5 منها حاملة لل *blaCMY2* و *blaDHA2* جينين. من بين 15 بكتيريا معوية منتجة للكاربابينيميز (CPE)، كان النوع NDM-1 (NDM-5) هو السائد، حيث كان موجوداً في 87% من العزلات. تم الكشف عن كل من نوعي *OXA-48* و *OXA-244* في عزلة واحدة من بكتيريا من مرضى العيادات الخارجية. تنتمي معظم عزلات الإشريكية القولونية المأخوذة من المرضى الداخليين إلى المجموعة الوراثة A، بينما تنتمي معظم عزلات المرضى الخارجيين إلى المجموعة الوراثة B2. كانت جينات الضراوة أكثر شيوعاً في سلالات المرضى الخارجيين، باستثناء جينات *fyuA* و *traT* و *feoB* و *irp2* التي كانت أكثر انتشاراً في سلالات المستشفيات. إلا أن جينات *fyuA* فقط هي التي ارتبطت بشكل كبير إحصائياً بسلالات المستشفيات، بينما ارتبطت جينات *yadN* و *chuA* بالسلالات الخارجية. كشف التنميط الجيني عن وجود روابط سلالية بنسبة 60% بين بعض بكتيريا الإشريكية القولونية من المستشفى والمختبرات الخاصة. يشكّل ظهور بكتيريا E-RC3G الضارة والمقاومة للكاربابينيم في المستشفيات والأماكن المجتمعية في سكيكدة تحدياً علاجياً كبيراً. هذه الدراسة هي الأولى من نوعها التي تُجرى في سكيكدة لتوصيف هذه العزلات من خلال استكشاف آليات مقاومتها وعوامل الفوعة. ويسلط هذا الوضع الضوء على الحاجة الملحة للمراقبة المستمرة في هاتين البيئتين للحد من انتشارها.

**الكلمات المفتاحية:** الإشريكية القولونية المقاومة للسيفالوسبورينات من الجيل الثالث (E-RC3G)، كاربابينيميز، المرضى الداخليين، المرضى الخارجيون، الضراوة، سكيكدة.

## Abstract

Third-generation cephalosporin-resistant Enterobacterales (3GC-R) are a growing concern due to their increasing prevalence, particularly in developing countries, including Algeria. This study aims to investigate the determinants of resistance to third-generation cephalosporins (3GC) and the associated virulence factors in both hospital and private settings in the Skikda region. E-RC3G strains were collected from the microbiology laboratory at Abderrezek Bouhara hospital as well as from various private clinical laboratories (PL) in Skikda, over a period from October 2020 to June 2022. Identification and antibiotic susceptibility were confirmed using the VITEK 2 System. The production of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) and carbapenemases in carbapenem-resistant strains was determined through a series of phenotypic (Antibiogram) and genotypic (PCR and sequencing) tests. *E. coli* strains were classified into phylogroups, genotyped using Eric PCR, and virulence genes were detected by PCR. A total of 82 E-RC3G strains were collected, with 37 from the hospital and 45 from PL, predominantly *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae*. The majority (67%) of isolates came from urine infections. A high percentage of strains (69.5%) were multi-resistant. Strains from outpatients (OPs) had antibiotic resistance profiles comparable to those of inpatients (IPs). Most E-RC3G strains (87%) were ESBL producers, with a predominance of the *bla*CTX-M gene (96%). AmpC-coding genes were detected in 7 strains, with 5 harboring *bla*CMY and 2 *bla*DHA. Among the 15 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE), the NDM type (*NDM-1* and *NDM-5*) was predominant, present in 87% of isolates. The OXA-48 and OXA-244 types were each detected in one isolate from an OP. *E. coli* isolates from IPs predominantly belonged to phylogroup A, while those from OPs were mostly from phylogroup B2. Virulence genes were more frequent in strains from OPs, except for *fyuA*, *traT*, *feoB*, and *irp2*, which were more prevalent in hospital strains; only *fyuA* was significantly associated with IPs, while *yadN* and *chuA* were significantly linked to OPs. Genotyping revealed 60% clonal relatedness between some *E. coli* strains from the hospital and PLs. The emergence of E-RC3G virulent and co-resistant to carbapenems in hospital and community settings in Skikda represents a major therapeutic challenge. This study is the first carried out in Skikda to characterize these isolates by exploring their resistance mechanisms and virulence factors. This situation underlines the urgent need for continuous surveillance in these two environments to limit their spread.

**Key words:** Third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacterales* (E-RC3G), Carbapenemase, ESBL, Inpatient, Outpatient, Virulence, Skikda.

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

### Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Structure moléculaire des $\beta$ -lactamines .....	18
<b>Figure 2:</b> Mécanismes de résistance des entérobactéries aux $\beta$ -lactamines.....	19
<b>Figure 3 :</b> Classification d'Ambler des $\beta$ -lactamases les plus courant chez les entérobactéries.....	21
<b>Figure 4:</b> Mécanismes de résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries.....	26
<b>Figure 5:</b> Profil de dégradation des $\beta$ -lactamines par chaque type de $\beta$ -lactamase .....	32
<b>Figure 6:</b> Conception de l'étude (Study design).....	36
<b>Figure 7:</b> Méthode de diffusion des disques de colistine en CAMHB .....	41
<b>Figure 8:</b> Interprétation des résultats de la méthode de diffusion des disques de colistine en bouillon.....	42
<b>Figure 9:</b> Schéma représentant l'emplacement des disques d'antibiotiques dans le test de synergie .....	45
<b>Figure 10:</b> Schéma représentant la méthode des disques combinés pour la detection de la production de BLSE.....	46
<b>Figure 11:</b> Mise en évidence de la production d'une BLSE (Test des disques combinés positif) .....	46
<b>Figure 12:</b> Schéma représentatif du test Carba NP modifié.....	48
<b>Figure 13:</b> Mise en évidence de la production de M $\beta$ L (Test à EDTA positif).....	50
<b>Figure 14:</b> Mise en évidence de la production de KPC (Test à l'acide boronique positif)...	51
<b>Figure 15:</b> Schéma représentant le profil de la PCR standard .....	53
<b>Figure 16:</b> Schéma représentant le profil thermique de la Eric-PCR .....	58
<b>Figure 17:</b> Répartition des espèces d'E-RC3G en fonction des résultats de l'identification	65
<b>Figure 18:</b> Répartition des E-RC3G en fonction du site de collecte.....	66
<b>Figure 19:</b> Répartition des espèces en fonction de leur origine (Hôpital ou laboratoires privés).....	66
<b>Figure 20:</b> Répartition des principales espèces en fonction de la nature du prélèvement ....	67
<b>Figure 21:</b> Répartition des isolats en fonction du sexe des patients .....	67
<b>Figure 22:</b> Répartition des E-RC3G en fonction de l'âge des patients.....	68
<b>Figure 23:</b> Répartition des infections à E-RC3G dans les différents services de l'hôpital..	69
<b>Figure 24:</b> Profil de résistances aux antibiotiques des E-RC3G.....	70
<b>Figure 25:</b> Profil de résistance aux antibiotiques des espèces <i>E. coli</i> et <i>K. pneumoniae</i> .....	71

<b>Figure 26:</b> Résultats des tests phénotypiques de la production de BLSE.....	73
<b>Figure 27:</b> Test BLSE positif : A) Test de synergie ; B) Test des disques combinés.....	73
<b>Figure 28:</b> Répartition des souches BLSE+ en fonction des types de prélèvements.....	74
<b>Figure 29:</b> Profil de résistance aux antibiotiques des souches BLSE et des non BLSE.....	75
<b>Figure 30:</b> Fréquence des gènes BLSE chez les isolats E-RC3G.....	75
<b>Figure 31:</b> Profil électrophorétique de l'amplification du gène <i>blaCTX-M</i> .....	76
<b>Figure 32:</b> Profil électrophorétique de l'amplification du gène <i>blaTEM</i> .....	76
<b>Figure 33:</b> Profil électrophorétique de l'amplification du gène <i>blaSHV</i> .....	77
<b>Figure 34:</b> Gel d'électrophorèse obtenu après amplification des gène <i>blaDHA</i> .....	77
<b>Figure 35:</b> Gel d'électrophorèse obtenu après amplification des gène <i>blaCMY</i> .....	78
<b>Figure 36:</b> Taux de résistance aux antibiotiques des souches CRE.....	79
<b>Figure 37:</b> Test Carba NP modifié positif.....	80
<b>Figure 38:</b> Test à EDTA positif.....	80
<b>Figure 39:</b> Résultat négatif du test à l'acide boronique.....	81
<b>Figure 40:</b> Profil électrophorétique de l'amplification du gène <i>blaNDM</i> .....	82
<b>Figure 41:</b> Gel d'électrophorèse obtenu après amplification des gènes <i>blaNDM</i> et <i>blaOXA-48</i> .....	82
<b>Figure 42:</b> Résultat de l'évaluation de la CMI de la colistine.....	86
<b>Figure 43:</b> Profils ERIC-PCR des isolats sur gel d'agarose.....	88
<b>Figure 44:</b> Distribution des phylogroupes des isolats d' <i>E. coli</i> .....	89
<b>Figure 45:</b> Prévalence des gènes codant les systèmes d'acquisition de fer chez les souches d' <i>E. coli</i> des patients hospitalisés et des patients externes.....	92
<b>Figure 46:</b> Prévalence des gènes codant les toxines chez les <i>E. coli</i> des patients hospitalisés et des patients externes.....	93
<b>Figure 47:</b> Prévalence des gènes codant les adhésines chez les <i>E. coli</i> des patients hospitalisés et des patients externes.....	94
<b>Figure 48:</b> Prévalence des gènes codant les protectines chez les <i>E. coli</i> des patients hospitalisés et des patients externes.....	94

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Résistance naturelle chez les entérobactéries .....	12
<b>Tableau 2:</b> Entérobactéries cliniques productrices de carbapénèmase (CPE) en Algérie ....	35
<b>Tableau 3:</b> Laboratoires privés participants à l'étude .....	37
<b>Tableau 4:</b> Liste des antibiotiques testés par le Vitek 2 Compact 15 .....	39
<b>Tableau 5:</b> Préparation des séries de dilutions de la colistine à 1/2 .....	42
<b>Tableau 6:</b> Guide pour l'interprétation des résultats de la méthode de micro-dilution en bouillon.....	43
<b>Tableau 7:</b> Interprétation des résultats du test Carba NP modifié .....	49
<b>Tableau 8:</b> Composition du mélange réactionnel utilisé dans la PCR standard .....	53
<b>Tableau 9:</b> Amorces utilisées dans les réactions PCR.....	54
<b>Tableau 10:</b> Liste des amorces utilisées pour le groupement phylogénétique des souches .	59
<b>Tableau 11:</b> Génotypes quadruplex pour le classement des <i>E. coli</i> en phylogroupes .....	60
<b>Tableau 12:</b> Liste des amorces utilisés pour rechercher les gènes de virulences .....	62
<b>Tableau 13:</b> Résultats de l'analyse phénotypique et génotypique des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE) .....	83
<b>Tableau 14:</b> Gènes de $\beta$ -lactamases coexistants chez les entérobactéries résistantes aux C3G .....	85
<b>Tableau 15:</b> Distribution des phylogroupes parmi les souches d' <i>E. coli</i> des patients hospitalisés et des patients externes .....	89
<b>Tableau 16:</b> Prévalence et distribution phylogénétique de la résistance aux antibiotiques chez <i>E. coli</i> des patients hospitalisés et des patients externes.....	90
<b>Tableau 17:</b> Scores des facteurs de virulence des isolats d' <i>E. coli</i> des patients hospitalisés et des patients externes .....	91
<b>Tableau 18:</b> Distribution des gènes de virulence selon les phylogroupes .....	95
<b>Tableau 19:</b> Prévalence des gènes de virulence chez les <i>E. coli</i> du phylogroupe B2 .....	96
<b>Tableau 20:</b> Distribution des facteurs de virulence parmi les <i>E. coli</i> multirésistantes et non multirésistantes.....	97

## Liste des abréviations

<b>Ab</b>	Acide boronique
<b>ACC</b>	Ambler Class C
<b>AK</b>	Amikacine
<b>AMC</b>	Amoxicilline + acide clavulanique
<b>AMP</b>	Ampicilline
<b>AmpC</b>	Céphalosporinase
<b>ATM</b>	Aztreonam
<b>BES</b>	Belarus extended-spectrum $\beta$ -lactamase
<b>BGN</b>	Bacille à Gram Négatif
<b>BLSE</b>	$\beta$ -lactamase à spectre étendu
<b>C1G</b>	Céphalosporine de première génération
<b>C2G</b>	Céphalosporine de deuxième génération
<b>C3G</b>	Céphalosporine de troisième génération
<b>C4G</b>	Céphalosporine de quatrième génération
<b>C5G</b>	Céphalosporine de cinquième génération
<b>CAZ</b>	Céftazidime
<b>CHL</b>	Chloramphénicol
<b>CIT</b>	Céphalosporinases Induites ou Transférables
<b>CIP</b>	Ciprofloxacine
<b>chuA</b>	Récepteur à l'hémine
<b>CMI</b>	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>CMY</b>	Céphamycinase
<b>cnf1</b>	Facteur cytotoxique nécrosant
<b>CNPM</b>	Carbapénemase Nordmann-Poirel modifié
<b>COL</b>	Colistine
<b>CPE</b>	Entérobactérie productrice de carbapénèmase
<b>CRE</b>	Entérobactérie résistante au carbapénème
<b>CTX</b>	Céfotaxime
<b>CTX-M</b>	Cefotaximase-Munich
<b>DHA</b>	Dihydroxyphenylalanine

<b>EAEC</b>	<i>Escherichia coli</i> entéro-agrégant
<b>EBC</b>	Extended Broad-spectrum Cephalosporinase
<b>E-BLSE</b>	Entérobactérie productrice de $\beta$ -lactamase à spectre étendu
<b>EDS</b>	Eau distillée stérile
<b>EDTA</b>	Ethylene-diamine-tetraacetic acid
<b>EIEC</b>	<i>Escherichia coli</i> entéro-invasif
<b>EPEC</b>	<i>Escherichia coli</i> entéro-pathogène
<b>EPH</b>	Etablissement public hospitalier
<b>E-RC3G</b>	Entérobactérie résistante au céphalosporine de troisième génération
<b>ETEC</b>	<i>Escherichia coli</i> entérotoxinogène
<b>ERT</b>	Ertapénème
<b>ERV</b>	Entérocoques résistants à la vancomycine
<b>ExPEC</b>	Extra-intestinale
<b>FOS</b>	Fosfomycin
<b>FOX</b>	Céfoxitine (Antibiotique)
<b>FOX</b>	Cefoxitinase (Enzyme)
<b>fyuA</b>	Récepteur de la yersiniabactine ferrique
<b>feoB</b>	Protéine de transport du fer ferreux B
<b>GEN</b>	Gentamicine
<b>GES</b>	Guiana extended-spectrum $\beta$ -lactamase
<b>hlyA</b>	hémolysine A
<b>IMP</b>	Imipénème
<b>irp2</b>	Protéine répressive du fer 2
<b>IVU</b>	Infections des voies urinaires
<b>KPC</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapénèmease
<b>kpsMT II</b>	Protéine de membrane interne de l'exportation du polysaccharide capsulaire
<b>LCP</b>	Laboratoire clinique privé
<b>LCR</b>	Liquide céphalorachidien
<b>LPS</b>	Lipopolysaccharide
<b>malX</b>	régulateur MalX
<b>MER</b>	Meropenem

<b>MHB</b>	Bouillon de Mueller Hinton
<b>MOH</b>	Morganella Hydrolytic enzyme
<b>MR</b>	Multirésistant
<b>MβL</b>	Métallo-β-Lactamase
<b>NDM</b>	New Delhi métallo-β-lactamase
<b>NIT</b>	Nitrofurantoin
<b>OmpC</b>	Outer Membrane Porin C
<b>OmpD</b>	Outer Membrane Porin D
<b>OmpF</b>	Outer Membrane Porin F
<b>ompT</b>	Protéase de membrane externe T
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>OXA</b>	Oxacillinase
<b>PAIs</b>	Ilots de pathogénicité
<b>papAH</b>	Protéine d'assemblage des fimbriae P
<b>papC</b>	sous-unité majeure des fimbriae P
<b>papG</b>	Adhésine des fimbriae P
<b>PBP</b>	Pénicillin Binding Protein / Protéines de liaison à la pénicilline
<b>PE</b>	Patient externe
<b>PER</b>	Pseudomonas extended resistance
<b>PH</b>	Patient hospitalisé
<b>SARM</b>	Staphylococcus résistants à la méthicilline
<b>SFO</b>	Sulphydryl-dependent β-lactamase
<b>SHV</b>	Sulphydryl variable
<b>STEC</b>	<i>Escherichia coli</i> producteur de Shigatoxine
<b>SXT</b>	Triméthoprime-Sulfamethoxazole
<b>TAZ</b>	Piperacilline + Tazobactam
<b>traT</b>	Protéine de transfert T
<b>TEM</b>	Temoniera
<b>TLA</b>	Tla-1 β-lactamase
<b>VEB</b>	Vietnamese extended-spectrum β-lactamase
<b>yadN</b>	Protéine de la membrane externe

# *Introduction générale*

Les Entérobactéries constituent une grande famille de bactéries Gram négatives comprenant plusieurs genres d'importance médicale, tels que *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* et *Serratia*. Ces espèces sont fréquemment associées à des infections nosocomiales et communautaires, notamment des infections urinaires, respiratoires et sanguines (Armand-Lefèvre *et al.*, 2018; Salamanca-Rivera *et al.*, 2024). Parmi ces agents, *Escherichia coli* se distingue par son ubiquité et sa remarquable diversité pathogène. Cette bactérie anaérobie facultative, membre du microbiote intestinal des humains et des animaux, est un modèle d'adaptabilité. Elle est capable de coloniser divers environnements et de provoquer des pathologies variées, allant des infections extra-intestinales aux maladies intestinales causées par des souches pathogènes spécifiques (Salamanca-Rivera *et al.*, 2024; Sora *et al.*, 2021). Selon leur origine animale ou humaine et éventuellement leur potentiel de virulence, les souches d'*E. coli* peuvent être classées dans différents phylogroupes A, B1, B2, C, D, E ou F (Sora *et al.*, 2021). En effet, les souches pathogènes d'*E. coli* appartiennent principalement aux phylogroupes B2 et D, tandis que les souches commensales se trouvent principalement dans les phylogroupes A et B1 (Picard *et al.*, 1999). Toutefois, les phylogroupes commensaux présentent souvent des profils de résistance plus élevés tout en exprimant une gamme limitée de gènes de virulence par rapport aux phylogroupes pathogènes (Clermont *et al.*, 2013; Picard *et al.*, 1999).

Les souches d'*E. coli* extra-intestinales (ExPEC) sont responsables de diverses infections extra-intestinales, telles que les infections urinaires, la pneumonie, la méningite et la bactériémie (Ferry *et al.*, 2004; Russo et Johnson, 2003, 2000; Sora *et al.*, 2021). Elles possèdent une structure génétique complexe et une gamme étendue de facteurs de virulence, incluant les adhésines, les toxines, les facteurs d'acquisition du fer, les lipopolysaccharides, les capsules polysaccharidiques, et les invasines (Köhler et Dobrindt, 2011; Sarowska *et al.*, 2019). Les gènes codant ces facteurs sont souvent regroupés en îlots de pathogénicité (PAIs), plasmides ou phages, facilitant leur transfert et contribuant à la pathogénicité des souches (Sora *et al.*, 2021).

La résistance des Entérobactéries aux antibiotiques, en particulier aux  $\beta$ -lactamines, constitue une menace croissante pour la santé publique mondiale. L'usage excessif de ces antibiotiques, le manque de contrôle des infections, les prescriptions inappropriées, la sélection de souches résistantes en raison d'une administration prolongée, l'utilisation abusive des  $\beta$ -lactamines en médecine vétérinaire, ainsi que le transfert horizontal de gènes de résistance entre bactéries ont conduit à une augmentation des souches résistantes, réduisant

ainsi l'efficacité des traitements (Kushwaha *et al.*, 2024). Les céphalosporines de troisième génération (C3G) sont largement prescrites pour traiter diverses infections à Entérobactéries, contribuant à l'émergence et la propagation de résistances via la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) (Asogwa, 2018; Dramowski *et al.*, 2021). Parmi les gènes codant les BLSE, le gène *blaCTX-M* a surpassé les gènes traditionnels *blaTEM* et *blaSHV* en termes de diffusion et de distribution mondiale (Castanheira *et al.*, 2021). L'usage des carbapénèmes, initialement considérés comme le dernier recours pour traiter les infections à entérobactéries productrices de BLSE, a compliqué la situation en favorisant l'émergence et la diffusion de la résistance aux carbapénèmes, principalement médiée par la production de carbapénémases (Morrill *et al.*, 2015; Nordmann *et al.*, 2011a). Ces dernières sont associées souvent à une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques, limitant les options thérapeutiques à des agents tels que la colistine et la tigécycline (Jean *et al.*, 2015; Sah *et al.*, 2022).

Les carbapénémases sont classées en trois groupes selon la classification d'Ambler : classe A (ex. KPC), classe B des métallo-bêta-lactamases (VIM, IMP, NDM), et classe D (OXA-48) (Touati et Mairi, 2020). La New Delhi Metallo-bêta-lactamase (NDM) et l'OXA-48 sont particulièrement préoccupantes en raison de leur large spectre de résistance et de leur diffusion mondiale (Dortet *et al.*, 2014; Mairi *et al.*, 2019a). Depuis la détection initiale du gène *blaOXA-48* chez une souche de *K. pneumoniae* en Turquie, sa prévalence n'a cessé de croître, en particulier dans les pays méditerranéens (Mairi *et al.*, 2019a). Les OXA-48, dites également OXA-48-like, regroupent diverses variantes caractérisées par des variations de séquences d'acides aminés, mais ne sont pas aussi largement répandues que l'OXA-48 (Emeraud *et al.*, 2021). Quant à la NDM, parmi ses 25 variantes, NDM-1 et NDM-5 sont les plus fréquemment détectées chez les entérobactéries (Thapa *et al.*, 2022). Le gène *blaNDM* est fréquemment porté par des plasmides munis de divers types de réplicons, expliquant ainsi sa propagation fulgurante (Baraniak *et al.*, 2016). La prévalence des carbapénémases de type OXA-48 et NDM continue de croître, notamment dans les pays méditerranéens (Touati et Mairi, 2020).

L'émergence d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (E-RC3G) dans les milieux hospitaliers et communautaires est largement documentée à l'échelle mondiale. Toutefois, cette problématique est encore insuffisamment explorée en Algérie, notamment dans les petites villes. De plus, la co-résistance aux traitements de dernier recours constitue une préoccupation majeure, réduisant considérablement les options thérapeutiques disponibles (Kaye et Belley, 2022). La lutte contre les E-RC3G nécessite une

compréhension approfondie des mécanismes de résistance. De plus, plusieurs études menées dans différentes régions d'Algérie ont signalé des taux alarmants d'isolats d'*E. coli* multirésistants en particulier celles produisant de BLSE ou de carbapénémase en milieu hospitalier et communautaire (Abderrahim *et al.*, 2022; D. Y. Meziani *et al.*, 2023; Nabti *et al.*, 2019; Yahiaoui *et al.*, 2015). Cependant, peu est connu sur les différences des profils et des mécanismes de résistances et de virulence entre les souches communautaires et hospitalières.

L'objectif de cette étude est de caractériser les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) isolées chez des patients hospitalisés et non hospitalisés (externes) dans la wilaya de Skikda, Algérie. Notre démarche consiste à :

- Collecter les entérobactéries résistantes aux C3G à partir de l'hôpital et des laboratoires cliniques privés.
- Evaluer la sensibilité des souches issues des patients hospitalisés et non hospitalisés aux principales familles d'antibiotiques utilisées en clinique.
- Etudier les mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines à l'aide de tests phénotypiques et moléculaires.
- Evaluer la diversité génétique, analyser la phylogénie et le potentiel pathogène des souches d'*E. coli*.

Le manuscrit se compose de quatre chapitres principaux. Le premier chapitre est une synthèse bibliographique qui comprend trois sections principales : la première fournit un aperçu général des entérobactéries et des infections qu'elles peuvent causer, décrit les principales espèces incluses dans notre étude ainsi que les traitements couramment prescrits en pratique clinique pour traiter ces infections. La seconde section présente une description détaillée des principales familles de  $\beta$ -lactamines, portant sur leur structure, leur mode d'action et donnant des exemples de chaque famille, ainsi que les mécanismes de résistance à ces agents. Dans le troisième volet, le principal mécanisme de résistance, à savoir la production de  $\beta$ -lactamases, est analysé, avec une description des trois types de  $\beta$ -lactamases : BLSE, AmpC et carbapénémases ainsi qu'une analyse plus détaillée de cette dernière en décrivant les principaux gènes qui la codent, leur distribution géographique, ainsi que les traitements anti-carbapénémase et la situation en Algérie.

Les trois autres chapitres concernent la partie pratique de la thèse. Le chapitre Matériel et Méthodes présente les principales techniques utilisées pour identifier les souches

d'entérobactéries, tester leur sensibilité aux antibiotiques, analyser phénotypiquement et génotypiquement la production de  $\beta$ -lactamases, ainsi qu'évaluer le lien clonal, la phylogénie et la virulence des souches d'*E. coli* isolées chez des patients hospitalisés et des patients externes. Le chapitre suivant présente les résultats obtenus au cours de l'étude. Dans le dernier chapitre, une discussion est menée pour comparer nos résultats avec les données de la littérature existante et les résultats d'études antérieures, justifier nos résultats et faire un état des lieux sur la prévalence des E-RC3G.

*Chapitre 1 : Synthèse  
bibliographique*

### 1 Les infections bactériennes

#### 1.1 Définition

Une infection survient lorsque des micro-organismes envahissent un organisme vivant, entraînant des altérations anatomiques ou fonctionnelles ainsi que des manifestations cliniques et biologiques. Les infections peuvent être locales ou généralisées (septicémie) et résultent d'un déséquilibre entre la virulence de l'agent pathogène et les capacités de résistance et de défense de l'hôte (Carl, 2011). Bien que les infections bactériennes puissent affecter divers organes et tissus, elles sont souvent plus faciles à traiter que les infections virales, car l'arsenal des agents antimicrobiens à activité antibactérienne est plus étendu. Cependant, la résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème en constante augmentation, avec des conséquences potentiellement dévastatrices (Doron et Gorbach, 2008).

#### 1.2 Types d'infections

Les infections nosocomiales et communautaires se distinguent principalement par leur lieu de contraction. Les infections nosocomiales se développent pendant le séjour à l'hôpital, apparaissant au moins 48 heures après l'admission, tandis que les infections communautaires se manifestent dans les 48 heures suivant l'admission et sont contractées en dehors de l'hôpital (Greenwood *et al.*, 2012; van Duin et Paterson, 2020).

Les infections les plus fréquentes acquises à l'hôpital comprennent les infections urinaires, les infections contractées dans le bloc opératoire et les infections respiratoires basses. Ces infections sont plus courantes dans les services de chirurgie, les unités de soins intensifs, les services d'urgence et d'orthopédie (World Health Organization, 2002).

La propagation des infections dans les environnements hospitaliers peut se produire de différentes manières, telles que le contact avec du matériel contaminé, y compris les instruments médicaux, les surfaces, les cathéters, les seringues et les stéthoscopes, ainsi que la literie, les aérosols et le personnel de santé (Clair et Colatrella, 2013; Rosenthal *et al.*, 2008). D'autre part, les infections communautaires peuvent se propager par le contact direct avec une personne infectée, par des gouttelettes respiratoires (éternuements, toux), par contact avec des surfaces contaminées ou par l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés.

Les infections nosocomiales affectent plus de 1,4 million de patients dans le monde, dont environ 30 % des patients hospitalisés en Algérie. Elles entraînent souvent une

prolongation de l'hospitalisation, des complications graves et parfois la mortalité, ainsi que des répercussions sociales importantes, telles que la détresse et la stigmatisation des familles, et des conséquences économiques considérables, notamment l'augmentation des coûts des soins de santé et la perte de productivité (Boulahouat *et al.*, 2020; Chkhaidze *et al.*, 2024). Il a été rapporté que le taux de mortalité associé aux infections nosocomiales est souvent supérieur à celui des infections communautaires (19 % versus 11 %) (Cardoso *et al.*, 2012; Jung *et al.*, 2012).

## 2 Les entérobactéries

Les bactéries Gram-négatives (BGN), les *Staphylococcus* résistants à la méthicilline (SARM) et les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) comptent parmi les problèmes de santé publique les plus importants au monde en raison de leur haute résistance aux antibiotiques. Ces micro-organismes ont une importance clinique significative dans les hôpitaux, car ils exposent les patients en unité de soins intensifs à un risque élevé et entraînent une morbidité et une mortalité élevées. Deux grands groupes des bactéries Gram-négatives (BGN), les Entérobactéries et les bacilles non fermentants, sont responsables de la plupart des isolats cliniques. (Desalegn *et al.*, 2023).

La famille des Entérobactéries (Enterobacteriaceae) est un groupe hétérogène de bactéries largement dispersées dans la nature. Elle comprend de nombreuses espèces bactériennes répondant à la définition des bacilles, non sporulés, à motilité variable, capables de se développer en présence et en absence d'oxygène, fermentant le glucose avec ou sans production de gaz, cytochrome oxydase négatives et capables de réduire le nitrate en nitrite. (Bhonal Bhardwaj, 2022; Singh et Anand, 2022)

Ils font partie des résidents normaux de la flore intestinale humaine. De plus, ils représentent environ 80 % des isolats à Gram négatif et sont associés à une variété de maladies, notamment les infections des voies urinaires, la pneumonie, la diarrhée, la méningite, la septicémie, le choc endotoxique, et bien d'autres. Les espèces qui affectent fréquemment les humains appartiennent aux genres *Escherichia*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Yersinia*, *Shigella* et *Salmonella* (Bhonal Bhardwaj, 2022).

L'abondance, la mobilité et la multiplication rapide des entérobactéries dans l'intestin en font les bactéries les plus souvent impliquées dans les infections humaines. Elles se

propagent facilement entre les individus par contact manuel et par des aliments et de l'eau contaminé (Stokes et Gillings, 2011; Toleman et Walsh, 2011).

L'acquisition de mécanismes de résistance aux antibiotiques par certaines espèces a conduit l'Organisation mondiale de la santé (OMS) à les classer parmi les bactéries de priorité critique, nécessitant des efforts accrus pour le développement de nouveaux traitements. Leur capacité à se reproduire chez divers hôtes et à acquérir du matériel génétique par transfert horizontal en fait des vecteurs efficaces pour la propagation des gènes de résistance (Morice, 2003).

### 2.1 *Escherichia coli*

Chez l'homme, *Escherichia coli* (*E. coli*) fait naturellement partie de la flore intestinale commensale (normale), mais qui peut également agir en tant que pathogène polyvalent, entraînant des infections intestinales et extra-intestinales (Mueller et Tainter, 2023; Vila *et al.*, 2016).

Les maladies intestinales causées par *E. coli* sont attribuables à l'un des cinq sous-types suivants : *Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC), *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC) ou *Escherichia coli* producteur de shigatoxine (STEC), *Escherichia coli* entéro-invasif (EIEC), *Escherichia coli* entéropathogène (EPEC), et *Escherichia coli* entéro-agrégant (EAEC). La distinction entre ces différents pathovars repose principalement sur leur profil antigénique O, H et K. L'antigène O est constitué d'une chaîne polysaccharidique répétitive présente dans la membrane externe du lipopolysaccharide (LPS). L'antigène H est lié au flagelle, tandis que l'antigène K, de nature capsulaire, facilite l'évasion des défenses immunitaires de l'hôte (Nataro et Kaper, 1998). Cette distinction repose également sur leur arsenal spécifique de facteurs de virulence, qui contribuent à l'adaptation des souches d'*E. coli* aux différents environnements et à leur pathogénicité (Abdulateef *et al.*, 2023).

En dehors du tractus intestinal, *Escherichia coli* peut causer diverses infections graves, notamment des pneumonies, des bactériémies, des péritonites et des infections urinaires. Ces infections sont souvent dues à des pathovars extra-intestinaux regroupés sous le terme ExPEC (Extraintestinal Pathogenic *E. coli*) (Jain *et al.*, 2015). Ces souches utilisent une variété de facteurs de virulence qui facilitent leur colonisation des tissus hôtes et leur persistance dans divers sites extra-intestinaux, tels que les voies urinaires, la circulation sanguine et le système

nerveux central (Smith *et al.*, 2007). Parmi ces facteurs, les adhésines comme les fimbriae de type I (*fimH*) et les fimbriae de type P (*papG*) jouent un rôle clé dans l'attachement aux cellules uroépithéliales ou endothéliales (Legros *et al.*, 2019; Nasi *et al.*, 2023; Ribić *et al.*, 2018). De plus, les fimbriae *yadN* participent à la formation de biofilms, renforçant la persistance des bactéries sur les surfaces médicales et dans les tissus infectés (Larsonneur *et al.*, 2016). Les systèmes d'acquisition de fer, tels que le récepteur de la yersiniabactine ferrique (*fyuA*), le récepteur de l'hémine (*chuA*) et la protéine réprimée par le fer 2 (*irp2*), permettent à *E. coli* de mobiliser cette ressource essentielle à sa survie, particulièrement dans des environnements pauvres en nutriments comme le sang ou l'urine (Hashimoto *et al.*, 2021). Par ailleurs, *E. coli* produit des toxines, notamment l'hémolysine (*hlyA*) et la cytotoxine nécrosante (*cnf1*), qui endommagent les tissus et favorisent la dissémination bactérienne (Sarowska *et al.*, 2019; Tsoumtsas Meda *et al.*, 2021). Pour échapper aux réponses immunitaires, la bactérie exprime des capsules polysaccharidiques, synthétisées grâce à des protéines telles que les transporteurs membranaires impliqués dans l'exportation des polysaccharides capsulaires (*kpsMT II*), offrant une protection efficace contre la phagocytose (Arredondo-Alonso *et al.*, 2023). Enfin, des protéases comme *outer membrane protease T* (*ompT*), localisées dans la membrane externe, contribuent à la dégradation des peptides antimicrobiens produits par l'hôte, renforçant leur résistance et leur persistance dans l'organisme infecté (McGarry *et al.*, 2024).

En plus de son implication dans les infections humaines, *E. coli* peut survivre et même proliférer dans des milieux naturels tels que le sol, les légumes, l'eau contaminée et les aliments d'origine animale (Ishii *et al.*, 2006; Mueller et Tainter, 2023; Sligl *et al.*, 2006; van Elsas *et al.*, 2011). Cette adaptabilité contribue à son rôle de cause majeure d'infections nosocomiales, comme les infections urinaires, ainsi qu'à sa prévalence dans les infections acquises en milieu communautaire (McCowan *et al.*, 2022).

### 2.2 *Klebsiella pneumoniae*

*K. pneumoniae* survit dans un large éventail de niches environnementales et associées à l'hôte (Bagley, 1985). On la retrouve dans le tube digestif des humains et des animaux, mais elle peut également coloniser d'autres environnements tels que le sol, l'eau, diverses espèces végétales, ainsi que des insectes, des oiseaux et des reptiles. Cette bactérie peut être soit un organisme commensal, soit un pathogène potentiel (Wyres et Holt, 2018).

Bien qu'elle soit souvent associée aux infections nosocomiales, notamment la pneumonie, les infections urinaires et les infections de plaies, qui peuvent toutes progresser vers une bactériémie (une dissémination métastatique) (Russo et Marr, 2019; Wyres *et al.*, 2020), *K. pneumoniae* est également responsable d'infections communautaires, telles que l'endophtalmie, la pneumonie, la fasciite nécrosante, l'abcès non hépatique, la méningite et l'abcès hépatique pyogène (Russo et Marr, 2019).

Les facteurs prédisposant aux infections communautaires à *K. pneumoniae* comprennent l'alcoolisme, souvent associé à la pneumonie, ainsi que le diabète, qui est un facteur de risque spécifique pour le développement d'abcès hépatiques pyogènes (Kim *et al.*, 2009; Wyres *et al.*, 2020).

### 2.3 *Enterobacter cloacae*

L'espèce *Enterobacter cloacae* est présente dans l'environnement, notamment dans le sol, l'eau, les végétaux et les animaux (Guérin, 2015; Pestourie *et al.*, 2014). Elle colonise également le tractus gastro-intestinal humain en tant que partie de la flore normale. Cependant, elle est capable de se transformer en un agent opportuniste et pathogène, en particulier chez les individus immunodéprimés (Guérin, 2015).

En tant que pathogène opportuniste, *E. cloacae* peut induire des infections potentiellement graves et mortelles qui se contractent généralement à l'hôpital (Davin-Regli *et al.*, 2019; Mezzatesta *et al.*, 2012). Parmi ces infections, on compte la septicémie, les infections des plaies, la péritonite, les infections des voies respiratoires inférieures et des voies urinaires (Choi *et al.*, 2023).

En raison de sa résistance naturelle et acquise à plusieurs classes d'antibiotiques, *E. cloacae* est classée parmi les pathogènes prioritaires multirésistants aux antibiotiques, regroupés sous l'acronyme ESKAPE (*Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* et *Enterobacter spp*) (Davin-Regli *et al.*, 2019; Rice, 2008). Cet ensemble de pathogènes présente des défis majeurs en matière de traitement médical en raison de leur capacité à échapper aux effets des antibiotiques courants, ce qui rend les infections qu'ils causent particulièrement difficiles à traiter (Souna *et al.*, 2014).

*E. cloacae*, en tant qu'espèce-type d'*Enterobacter*, se classe au troisième rang mondial des causes de décès attribuables à des infections par des entérobactéries résistantes aux antibiotiques, après *E. coli* et *K. pneumoniae* (Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022).

### 2.4 *Serratia marcescens*

*Serratia marcescens* est un membre ubiquitaire de la famille Enterobacteriaceae, que l'on trouve naturellement dans le sol et l'eau, et qui produit un pigment rouge à température ambiante (Buckle, 2015; Matteoli *et al.*, 2021). Elle peut être associée aux plantes, aux insectes, au lombricompost, à l'eau douce et à l'air (Daligault *et al.*, 2014; Gaultier *et al.*, 2018; Khan *et al.*, 2017; Matteoli *et al.*, 2018; Raymann *et al.*, 2018).

Cette bactérie est perçue comme un pathogène opportuniste pour l'homme (Cubas-Atienzar *et al.*, 2021). Elle peut utiliser une large gamme de nutriments, ce qui renforce sa capacité à subsister et à proliférer dans des environnements difficiles, même en présence de désinfectants et d'antiseptiques (Cooney *et al.*, 2014).

*S. marcescens* est reconnue en tant qu'agent causal d'infections nosocomiales sévères (Kim *et al.*, 2015). Elle est associée aux infections des voies urinaires et respiratoires, à l'endocardite, à l'ostéomyélite, à la septicémie, aux infections cutanées, aux affections oculaires et à la méningite (Buckle, 2015). Le traitement des infections causées par cette espèce peut s'avérer complexe en raison de sa résistance à plusieurs antibiotiques. Les souches non pigmentées sont généralement plus résistantes, car elles portent souvent des plasmides de résistance (Cooney *et al.*, 2014).

### 2.5 *Proteus mirabilis*

Le genre *Proteus* se caractérise par une grande motilité sur les boîtes de gélose nutritive, connue sous le nom d'essaimage (swarming), et la formation des colonies étendues, ce qui facilite son identification (Armbruster et Mobley, 2012).

L'espèce *Proteus mirabilis* est largement répandue dans le sol et les cours d'eau. Bien qu'elle soit naturellement présente dans le tube digestif humain en tant que bactérie commensale, elle peut également causer des infections opportunistes graves chez l'homme, à la fois communautaires et nosocomiales (Armbruster et Mobley, 2012; Chen *et al.*, 2012; Cohen-Nahum *et al.*, 2010).

*P. mirabilis* constitue l'un des agents pathogènes les plus fréquemment associés aux infections des voies urinaires (Girlich *et al.*, 2020). Elle est également impliquée dans les infections sanguines (Chen *et al.*, 2012; Tumbarello *et al.*, 2012), à la cystite simple, la pyélonéphrite et la prostatite (O'Hara *et al.*, 2000), à la méningoencéphalite néonatale (Grahniquist *et al.*, 1992), ainsi que dans les affections diarrhéiques (Müller, 1986).

### 2.6 *Salmonella spp.*

L'infection par *Salmonella spp.* demeure l'une des principales causes de la maladie diarrhéique aiguë. Ces infections posent un sérieux problème de santé publique, avec des répercussions sociales et économiques significatives (Popa et Popa, 2021).

Diverses espèces animales, notamment les poulets, les pigeons et les reptiles, peuvent servir de réservoir potentiel à cette bactérie (Sanchez *et al.*, 2002; Shaji *et al.*, 2023). Les humains contractent fréquemment ces infections par le biais de la chaîne alimentaire, principalement par la consommation d'œufs et de produits carnés contaminés (Majowicz *et al.*, 2010).

La salmonellose peut se manifester cliniquement par une simple gastro-entérite ou par des fièvres entériques, qui peuvent mettre en jeu le pronostic vital et nécessitent un traitement antibiotique rapide et adéquat (Popa et Popa, 2021). Selon l'espèce en cause, il existe deux formes de salmonellose : les formes mineures et les formes majeures. La salmonellose mineure est causée par les souches non typhoïdiques, souvent d'origine animale, et se manifeste par une diarrhée autolimitée, rarement associée à une bactériémie ou à une méningite (Wattiau *et al.*, 2011). D'autre part, la salmonellose majeure, strictement humaine, se manifeste sous la forme de la fièvre typhoïde et paratyphoïde, avec des symptômes tels que la fièvre, des maux de tête, des malaises, et parfois de la toux (Kumar et Kumar, 2017).

### 2.7 Traitement des infections à entérobactéries

Les souches d'entérobactéries sont généralement sensibles aux antibiotiques actifs sur les bacilles Gram négatif : amino-pénicillines, céphalosporines, quinolones, aminosides, triméthoprime-sulfaméthoxazole. Néanmoins cette sensibilité doit toujours être vérifiée par un antibiogramme en prenant en considération la résistance naturelle. Ainsi, les bacilles à gram négatif non exigeants sont naturellement résistants aux antibiotiques suivants : Pénicilline G, oxacilline, macrolides (érythromycine), lincosamides (lincomycine), streptogramines (pristinamycine), acide fusidique, glycopeptides (vancomycine). De plus, des résistances naturelles liées à certaines espèces sont aussi notées (Tableau 1).

**Tableau 1:** Résistance naturelle chez les entérobactéries (*CLSI, 2020*)

Bactérie/Antibiotique	AMP	AMC	TIC/PIP	C1G	FOX	GEN	TCY	COL	NIT
	/AMX								
<i>Klebsiella spp.</i>	R		R						
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R		R	R				
<i>Proteus mirabilis</i>							R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	R	R		R				R	

AMP : Ampicilline ; AMX : Amoxicilline ; AMC : Amoxicilline+Acide clavulanique ; TIC : Ticarcilline ; PIP : Piperacilline ; C1G : Céphalosporines de 1ere génération ; FOX : Céfoxitine ; GEN : Gentamicine ; TCY : Tetracycline ; Col : Colistine ; NIT : Nitrofurantoïne.

Les  $\beta$ -lactamines, notamment les pénicillines associées à des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase sont largement utilisées. D'autres, telles que les céphalosporines et les carbapénèmes, sont réservées pour les infections sévères. Les fluoroquinolones, comme la ciprofloxacine, sont fréquemment prescrites pour les infections urinaires et ont démontré leur efficacité dans la réduction du risque de récurrence des infections (Caruso *et al.*, 2021; Ebongue *et al.*, 2015). Les aminoglycosides, en particulier la gentamicine, dont l'activité est réduite au fil des années et a été remplacée par l'amikacine, qui reste efficace contre la majorité des agents uropathogènes, y compris les entérobactéries multirésistantes aux antibiotiques, et est souvent utilisé en association avec des  $\beta$ -lactamines à large spectre (Ebongue *et al.*, 2015; Magnet et Blanchard, 2005). Enfin, les sulfamides associés au triméthoprime constituent une autre option de traitement (Goodlet *et al.*, 2018). Néanmoins, compte tenu de leur faible coût, de leur pouvoir bactéricide, de leur large gamme de molécules, de leur faible toxicité et de leur large spectre d'activité, les  $\beta$ -lactamines demeurent la classe d'antibiotiques la plus largement utilisée en pratique clinique actuelle, et leur efficacité a été démontrée dans le traitement d'environ 55% de toutes les infections bactériennes (Robin *et al.*, 2012).

### 3 Les $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines sont une classe importante d'antibiotiques qui partagent une structure commune appelée anneau  $\beta$ -lactame. Cette structure est caractérisée par un cycle à quatre membres comprenant trois atomes de carbone et un atome d'azote. L'anneau  $\beta$ -lactame est responsable de l'activité antibactérienne de ces composés, car il agit en inhibant une enzyme

essentielle pour la survie des bactéries, appelée la transpeptidase (Bush et Bradford, 2016; Caruso *et al.*, 2021).

### 3.1 Mécanisme d'action des $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines agissent en tant qu'agents bactéricides en interrompant la formation de la paroi cellulaire bactérienne. Ces agents exercent leur effet en se liant covalent aux protéines de liaison à la pénicilline (PBP), qui sont des enzymes cruciales impliquées dans la transpeptidation, une étape clé de la synthèse du peptidoglycane. Ces PBP sont localisées dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne. Lorsque les  $\beta$ -lactamines pénètrent dans la paroi bactérienne, elles se fixent aux PBP, inhibant ainsi leur activité enzymatique. Cela entraîne une perturbation de la synthèse du peptidoglycane, qui est essentielle pour maintenir l'intégrité structurelle de la paroi cellulaire. L'affaiblissement de la paroi cellulaire résultant de cette perturbation conduit à une instabilité structurelle et, ultimement, à la lyse cellulaire (Bush et Bradford, 2016; Cavallo *et al.*, 2004).

### 3.2 Classification des $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines ont été découvertes pour la première fois avec la benzylpénicilline (pénicilline G) dans les années 1920 par Alexander Fleming. Depuis lors, elles ont été développées grâce à des modifications chimiques de leur structure de base, notamment au niveau de l'anneau  $\beta$ -lactame et des chaînes latérales, afin d'accroître leur efficacité contre un large éventail de bactéries, de surmonter les mécanismes de résistance bactérienne, d'améliorer leur stabilité, leur spectre d'action, leur pharmacocinétique, et leur tolérance chez les patients. (Bush et Bradford, 2016).

Les  $\beta$ -lactamines sont regroupées en différentes catégories selon la structure du noyau  $\beta$ -lactame qui les compose, à savoir les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames, les carbapénèmes, ainsi que les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase.

#### 3.2.1 Pénicillines

La pénicilline est la première  $\beta$ -lactamine découverte, et de ce fait considérée comme le prototype de cette classe d'antibiotique.

Les pénicillines sont un groupe d'antibiotiques qui comprend plusieurs sous-catégories, notamment les pénicillines naturelles ainsi que des pénicillines synthétiques ou

semi-synthétiques, telles que les pénicillines résistantes à la  $\beta$ -lactamase, les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les uréidopénicillines. Des exemples bien connus incluent la benzylpénicilline (pénicilline G), qui est un antibiotique naturel, et la méthicilline, qui est un antibiotique semi-synthétique (Pandey et Cascella, 2023).

Les pénicillines se caractérisent par la présence d'un noyau d'acide 6-aminopénicillanique qui inclut un anneau  $\beta$ -lactame (Tooke *et al.*, 2019). Ce noyau est associé à d'autres chaînes annulaires. De plus, l'anneau  $\beta$ -lactame est fusionné à un anneau thiazolidine, formant ainsi un pentacycle avec un atome de soufre (Pandey et Cascella, 2023) (Figure1).

La variation dans les pénicillines se produit principalement au niveau de la chaîne latérale qui est attachée à l'atome de carbone du cycle thiazolidine. Cette chaîne latérale peut varier en termes de taille, de structure et de propriétés chimiques, ce qui influence les propriétés pharmacologiques de chaque antibiotique  $\beta$ -lactame et affecte leurs spectres d'activité (Caruso *et al.*, 2021).

### 3.2.2 Céphalosporines

Giuseppe Brotzu a découvert les céphalosporines en 1948. L'isolement de ces substances a été réalisé à partir d'un champignon appelé *Cephalosporium acremonium*, qui a été trouvé dans les égouts de Cagliari en Sardaigne. Cette souche avait montré la capacité d'inhiber la croissance de *Salmonella typhi*, l'agent responsable de la fièvre typhoïde (Hsieh et Ho, 1975).

Au lieu du cycle thiazolidine à 5 chaînons des pénicillines, les céphalosporines possèdent un noyau d'acide 7-aminocéphalosporanique qui est fusionné à un cycle dihydrothiazine à 6 chaînons contenant du soufre et deux chaînes latérales (R1 et R2), qui distinguent les différents composés (Bui et Preuss, 2023; Caruso *et al.*, 2021) (Figure 1).

En fonction de leur développement chronologique et de leur spectre d'activité, les céphalosporines sont classées en cinq générations.

Les céphalosporines à spectre étroit incluent principalement les premières générations (comme la céphalozine et la céphalexine), tandis que les céphalosporines à spectre étendu couvrent les générations suivantes, notamment les deuxième, troisième quatrième et cinquième générations (Diamantis *et al.*, 2022).

### 3.2.2.1 Céphalosporines de première génération (C1G)

Les C1G comprennent la céfazoline, la céphalothine, la céphapirine, la céphradine, le céfadroxil et la céphalexine (Hsieh et Ho, 1975).

Elles ont une couverture générale plus étendue contre les bactéries cocci à Gram positif, tandis que leur activité contre les BGN est limitée. Les bactéries à Gram négatif les plus sensibles aux C1G sont *P. mirabilis*, *E. coli* et *K. pneumoniae* (Bui et Preuss, 2023).

Les C1G sont couramment prescrites contre les infections non compliquées de la peau et des tissus mous, et sont aussi utilisées pour les infections osseuses, et celles des voies respiratoires, des voies génito-urinaires, des voies biliaires, les infections sanguines, les otites moyennes et la prophylaxie chirurgicale (Bui et Preuss, 2023; Hsieh et Ho, 1975).

### 3.2.2.2 Céphalosporines de deuxième génération (C2G)

Ce groupe se divise en deux sous-groupes : le sous-groupe de la deuxième génération (telle que le céfuroxime et le cefprozil) et le sous-groupe de la céphamycine (le cefmetazole, le cefotetan et la cefoxitine) (Bui et Preuss, 2023).

Les C2G sont généralement moins efficaces contre les cocci à Gram positif que les C1G, mais elles sont davantage efficaces contre les BGN. Elles élargissent leur spectre d'action par rapport aux C1G pour inclure des organismes tels que *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter aerogenes*, certaines espèces de *Neisseria*, et *Serratia marcescens* (Tartaglione et Polk, 1985).

Elles sont souvent prescrites en cas d'infections respiratoires de type bronchiolite ou pneumonie (Bui et Preuss, 2023).

### 3.2.2.3 Céphalosporines de troisième génération (C3G)

Les C3G comprennent le céfotaxime, la ceftazidime, le cefdinir, la ceftriaxone, le cefpodoxime, le cefoperazone et le cefixime (Bui et Preuss, 2023).

Elles offrent une large couverture antibactérienne, principalement contre les BGN, et sont fréquemment prescrites pour traiter les infections provoquées par des souches résistantes aux C1G et aux C2G, ainsi qu'à d'autres  $\beta$ -lactamines (Bui et Preuss, 2023; Klein et Cunha, 1995).

Les C3G sont généralement prescrites pour traiter plusieurs types d'infections à savoir la pneumonie d'origine communautaire, la méningite, les infections des voies urinaires (la

cystite et la pyélonéphrite), l'endocardite à streptocoques, la gonorrhée, la maladie de Lyme sévère (Pandey et Cascella, 2023).

### 3.2.2.4 Céphalosporine de quatrième génération (C4G)

Les C4G comprennent le céfépime et le cefpirome, qui ont été développées suite à l'émergence de souches bactériennes résistantes aux C3G (Arumugham *et al.*, 2024)

Le céfépime possède un groupe d'ammonium quaternaire supplémentaire, ce qui lui permet de mieux pénétrer la membrane externe des BGN (Bui et Preuss, 2023). Cet agent est le plus actif et présente plusieurs avantages par rapport aux C3G. Il présente une puissance intrinsèque élevée, un spectre d'activité étendu couvrant de nombreux organismes Gram-positifs et Gram-négatifs, une efficacité contre les bactéries Gram-négatives multirésistantes telles que les espèces d'*Enterobacter* et *Klebsiella*, un faible potentiel d'induction de bêta-lactamase (Ali *et al.*, 2017; Pais *et al.*, 2022).

Ces céphalosporines de quatrième génération jouent un rôle essentiel dans le traitement des infections nosocomiales potentiellement mortelles, en particulier dans les unités de soins intensifs, et peuvent être associées de manière synergique aux aminoglycosides et aux fluoroquinolones pour une efficacité accrue (Bui et Preuss, 2023; Okamoto *et al.*, 1994).

### 3.2.2.5 Céphalosporine de cinquième génération (C5G)

Les céphalosporines de cinquième génération se composent de trois représentants principaux : la ceftaroline fosamile, la combinaison ceftolozane/tazobactam et le ceftobiprole médocaril (Rusu et Lungu, 2020). Ces nouvelles céphalosporines sont de puissants agents anti-infectieux dotés d'une activité significative contre les bactéries multirésistantes, efficaces contre les agents pathogènes à Gram positif et à Gram négatif. Elles ont démontré leur efficacité dans le traitement des infections bactériennes aiguës de la peau et des tissus mous, de la pneumonie bactérienne communautaire, et possèdent de puissantes caractéristiques antipseudomonales (Rusu et Lungu, 2020).

Les céphalosporines de cinquième génération sont moins susceptibles de développer une résistance, ce qui en fait des compléments précieux à l'arsenal antimicrobien. Toutefois, une utilisation judicieuse est recommandée pour prévenir l'émergence de phénomènes de résistance bactérienne (Bezerra *et al.*, 2022; Rusu et Lungu, 2020; Selvan et Ganapathy, 2016).

### 3.2.3 Carbapénèmes

Comparativement aux pénicillines, les carbapénèmes se caractérisent par la substitution d'une double liaison carbone à la place du soufre dans l'anneau thiazolidine à 5 chaînons (Figure 1). Les différents carbapénèmes, notamment l'imipénème, le méropénème, l'ertapénème et le doripénème, se distinguent entre eux par leur chaîne latérale (Caruso *et al.*, 2021).

Les carbapénèmes sont particulièrement puissants et efficaces contre un large éventail de bactéries aérobies et anaérobies à Gram négatif et à Gram positif (Armstrong *et al.*, 2021; El Nekidy *et al.*, 2021). Cette polyvalence des carbapénèmes en plus de leur stabilité face à la plupart des  $\beta$ -lactamases ont fait d'eux des agents thérapeutiques cruciaux et adaptés au traitement de divers types d'infections bactériennes sévères ou graves. Leur utilisation est généralement réservée en tant qu'antibiotiques de dernier recours (Armstrong *et al.*, 2021; Wolff *et al.*, 2008).

Parmi les carbapénèmes, l'ertapénème et l'imipénème peuvent être associés à des effets neurotoxiques, notamment la possibilité de provoquer des convulsions (Norrby, 2000; Schliamser *et al.*, 1991). La concentration du carbapénème atteinte dans le tissu cérébral est le facteur clé régissant cette neurotoxicité surtout chez les patients présentant des facteurs de risque préexistants, tels que des antécédents de troubles neurologiques ou des problèmes rénaux (El Nekidy *et al.*, 2021; Shahar *et al.*, 2022).

### 3.2.4 Monobactames

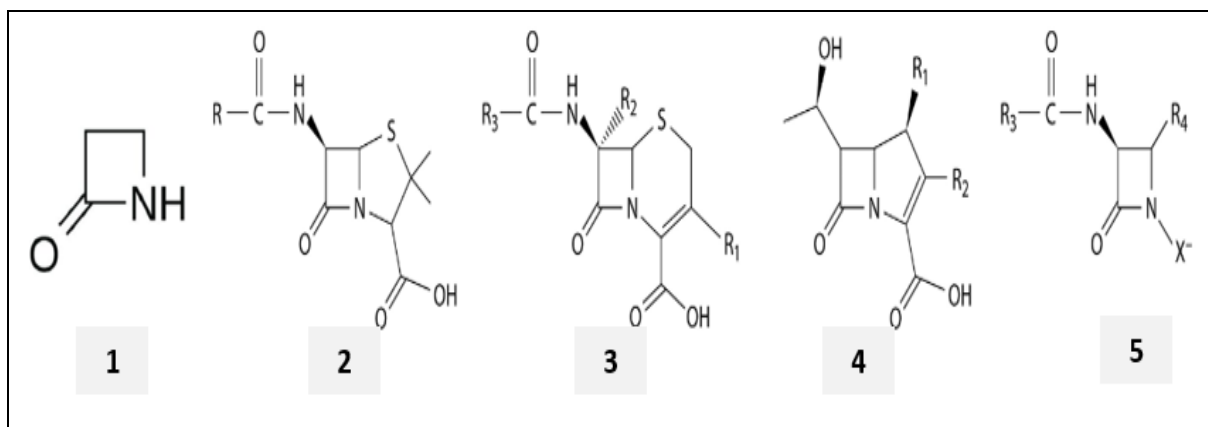
Les monobactames constituent une classe d'antibiotiques qui se distingue par la présence d'un noyau  $\beta$ -lactame spécifique, monocyclique, appelé azétidine. Cette structure monocyclique est limitée au seul cycle  $\beta$ -lactame, et contrairement à d'autres classes de  $\beta$ -lactamines telles que les pénicillines et les céphalosporines, les monobactames ne présentent pas d'anneaux supplémentaires fusionnés à leur anneau  $\beta$ -lactame. Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle prescrit (Pandey et Cascella, 2023) (Figure 1).

L'aztréonam a été approuvé en 1986 par l'Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (Food and Drug Administration FDA), ainsi que de nombreuses autorités réglementaires européennes (Biedenbach *et al.*, 2015). Il possède une puissance thérapeutique utile vis-à-vis des bactéries aérobies à Gram négatif, mais il n'a aucune activité contre les bactéries Gram-positives et les anaérobies, il est cependant hydrolysé par certaines  $\beta$ -lactamases à base de sérine (Ramsey et MacGowan, 2016).

### 3.2.5 Inhibiteurs de $\beta$ -lactamase

Les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase agissent principalement en neutralisant les  $\beta$ -lactamases à sérine, enzymes capables d'hydrolyser l'anneau  $\beta$ -lactame, permettant ainsi aux antibiotiques de conserver leur efficacité contre les bactéries.

Ils se divisent en deux catégories : les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase de première génération (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam) et les nouveaux inhibiteurs, tels que l'avibactam et le vaborbactam, qui ciblent spécifiquement les carbapénèmes de type *Klebsiella pneumoniae* (KPC) (Pandey et Cascella, 2023).



**Figure 1 :** Structure moléculaire des  $\beta$ -lactamines (Bush et Bradford, 2020)

**1:** Noyau  $\beta$ -lactame (Structure commune des  $\beta$ -lactames); **2:** structure de la pénicilline; **3:** cephalosporines; **4:** carbapénèmes; **5:** Monobactames.

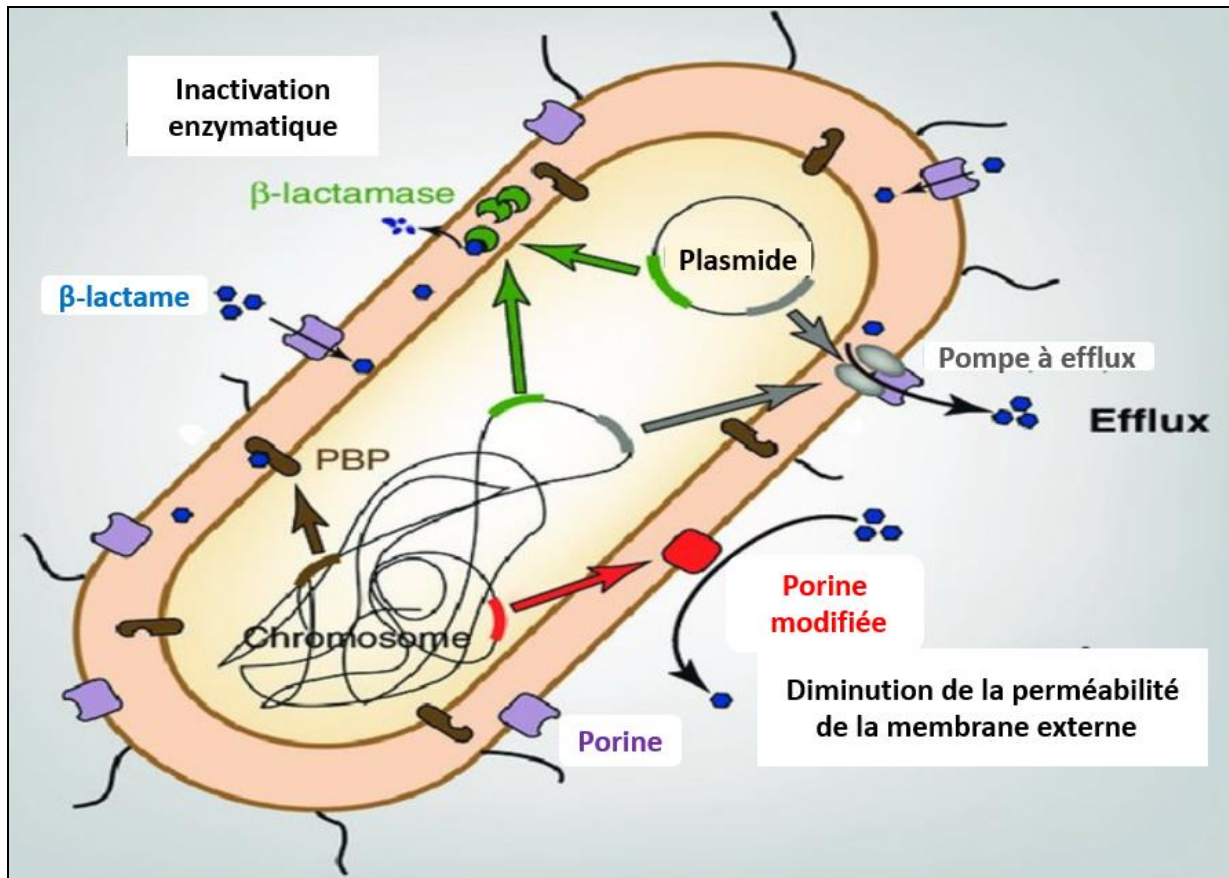
## 4 La résistance aux $\beta$ -lactamines

La découverte des  $\beta$ -lactamines au XXe siècle a marqué une avancée majeure dans le traitement des infections bactériennes et a souvent été considérée, de manière inappropriée, comme une solution révolutionnaire. Cependant, leur utilisation intensive, non seulement chez les humains, mais aussi dans le domaine vétérinaire, a rapidement conduit à l'émergence de la résistance bactérienne (World Health Organization, 2023).

Comprendre les mécanismes de résistance aux antibiotiques est crucial pour guider la prescription d'antibiotiques de manière plus judicieuse et pour développer des stratégies permettant de surmonter cette résistance (Armand-Lefèvre *et al.*, 2018; Pandey et Cascella, 2023).

La résistance aux  $\beta$ -lactamines est un problème majeur dans le domaine de la santé publique, ayant des implications significatives pour le traitement des infections bactériennes. Cette résistance peut se produire par des mécanismes enzymatiques ou non enzymatiques. La

figure ci-dessous (Figure2) résume les principaux mécanismes impliqués dans la résistance aux  $\beta$ -lactamines.



**Figure 2:** Mécanismes de résistance des entérobactéries aux  $\beta$ -lactamines (Nordmann *et al.*, 2012b).

PBP : Protéine de liaison à la pénicilline / Penicillin Bending Protein

#### 4.1 Résistance non enzymatique

La résistance non enzymatique aux  $\beta$ -lactamines peut se produire de trois manières principales :

- Répression ou mutation chromosomique des gènes codant pour les porines (comme celle du gène Outer Membrane Porin D (OmpD)). Ces dernières sont des canaux non spécifiques situés dans la membrane externe des bactéries Gram-négatives, permettant le transport passif de petites molécules hydrophiles (Nikaido, 2003). Chez les entérobactéries, les porines de la famille OmpF (Outer Membrane Porin F) ou OmpC (Outer Membrane Porin C) sont les plus impliquées dans le passage des  $\beta$ -lactamines (Pagès *et al.*, 2008).

- Expulsion des antibiotiques de l'espace périplasmique vers l'extérieur de la cellule bactérienne par les pompes à efflux, ce qui réduit la concentration de l'antibiotique à l'intérieur de la cellule. La surexpression des gènes codant pour ces pompes à efflux, en particulier chez *P. aeruginosa*, contribue à ce phénomène (Quale *et al.*, 2006; Rodríguez-Martínez *et al.*, 2009).
- Altération du niveau de production de PBP ou le développement de variantes de ces protéines qui ont une affinité réduite pour les  $\beta$ -lactamines. Ce mécanisme est relativement rare chez *E. coli* (Yamachika *et al.*, 2018).

La perte de porines et la surexpression de la pompe à efflux peuvent également entraîner une résistance croisée à d'autres classes d'antibiotiques (Moyá *et al.*, 2012).

### 4.2 Résistance enzymatique par production de $\beta$ -lactamase

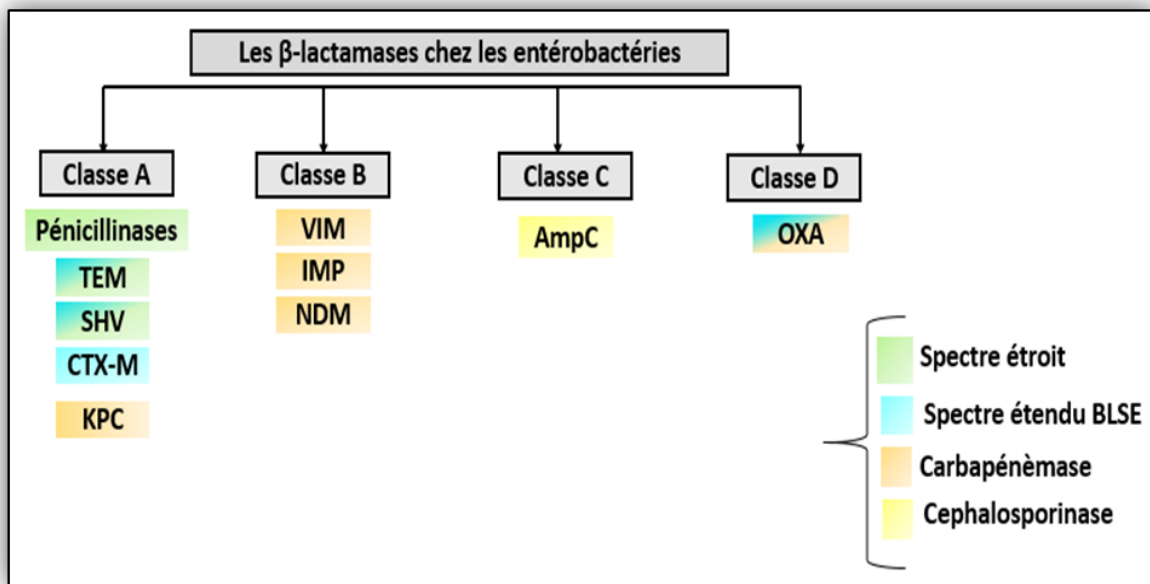
La résistance enzymatique par la production d'enzymes ( $\beta$ -lactamase) est le principal mécanisme de résistance aux  $\beta$ -lactamines chez les entérobactéries. Ces enzymes ont la capacité de dégrader l'anneau  $\beta$ -lactame, entraînant la rupture de la liaison amide du cycle à quatre chaînons de l'azétidinone présent dans chaque  $\beta$ -lactame. Ceci est suivi de l'addition d'une molécule d'eau à la molécule ouverte sur le cycle, ce qui annule l'activité antibactérienne des  $\beta$ -lactamines (Baba Ahmed-Kazi Tani et Arlet, 2014; Bush et Bradford, 2020; Lepe et Martínez-Martínez, 2022).

La première  $\beta$ -lactamase a été décrite dans les années 1940, lorsqu'une souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la pénicilline a été identifiée. Cette souche produisait une pénicillinase, enzyme capable d'hydrolyser et d'inactiver la pénicilline (Kirby, 1944). En 1963, une autre pénicillinase plasmidique a été décrite chez une souche d'*E. coli* isolée chez une patiente nommée Temoniera en Grèce, d'où la nomination TEM-1 (Datta et Kontomichalou, 1965). Depuis lors, une dynamique et une course évolutive constante se sont engagées entre l'acquisition de résistance bactérienne d'une part et le développement de nouvelles molécules antibiotiques d'autre part.

La classification d'Ambler divise les  $\beta$ -lactamases en quatre groupes principaux (A, B, C et D) en fonction de leur structure moléculaire et de leur séquence d'acides aminés. Les classes A, C et D possèdent un résidu sérine sur le site actif, tandis que les enzymes de la classe B, appelées métallo-enzymes, nécessitent un cation divalent, généralement le zinc, comme cofacteur (Ambler, 1980; Lepe et Martínez-Martínez, 2022). La classe A inclut les

BLSE et les carbapénèmases de type *Klebsiella pneumoniae* (KPC), la classe B comprend les métallob- $\beta$ -lactamases (M $\beta$ L), la classe C englobe les céphalosporinases (AmpC) et la classe D se compose des oxacillinases (OXA) (Bush et Bradford, 2020). Les principales  $\beta$ -lactamases trouvées chez les entérobactéries sont montrées dans la Figure 3.

Les  $\beta$ -lactamases critiques possèdent des gènes situés sur des éléments mobiles tels que des plasmides ou des transposons, facilitant ainsi le transfert horizontal de gènes et contribuant à la dissémination rapide de la résistance aux antibiotiques (Bush et Bradford, 2020). Plus de 400 variantes différentes de  $\beta$ -lactamases issues d'isolats cliniques ont été répertoriées (Jacoby et Munoz-Price, 2005).



**Figure 3 :** Classification d'Ambler des  $\beta$ -lactamases les plus courantes chez les entérobactéries (Bush et Bradford, 2020).

### 4.3 $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE)

Les BLSE confèrent généralement une résistance à la plupart des  $\beta$ -lactamines, y compris les pénicillines, les C3G ainsi qu'aux monobactames, à l'exception des carbapénèmes. La sensibilité à certains antibiotiques comme la céfoxitine, la pipéracilline-tazobactam et la témocilline est inconstante (Ghafourian *et al.*, 2014). Ces BLSE peuvent être inhibées par des inhibiteurs classiques de la  $\beta$ -lactamase (Bush et Fisher, 2011).

Les gènes BLSE sont souvent localisés sur des plasmides et insérés dans des transposons ou des séquences d'insertion, favorisant ainsi leur propagation (Castanheira *et al.*,

2021). Les plasmides porteurs des gènes BLSE peuvent également transporter d'autres gènes de résistance à diverses classes d'antibiotiques, ce qui explique la résistance fréquente des entérobactéries productrices de BLSE (E-BLSE) à d'autres antibiotiques tels que les fluoroquinolones, le cotrimoxazole, les aminoglycosides et la tétracycline (Armand-Lefèvre *et al.*, 2018; Oteo *et al.*, 2010).

Parmi les principaux groupes de BLSE, la Temoniera (TEM) et la Sulfhydryl reagent variable (SHV), qui sont des mutants issus des pénicillinases à spectre restreint TEM-1 et SHV-1 respectivement, ainsi que la Cefotaximase de Munich (CTX-M) (Castanheira *et al.*, 2021). Outre ces groupes, divers types de BLSE acquises ont été identifiés chez les entérobactéries, tels que la Vietnamese extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (VEB), la Guiana extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (GES), la Pseudomonas extended resistance  $\beta$ -lactamase (PER), la Tla-1  $\beta$ -lactamase (TLA), la Belarus extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (BES) et la Sulfhydryl-dependent  $\beta$ -lactamase (SFO) (Paterson et Bonomo, 2005). Parmi eux, la CTX-M se distingue par sa propagation mondiale et son impact considérable, dépassant même celui des BLSE de type TEM et SHV (Rossolini *et al.*, 2008).

### 4.3.1 BLSE de type TEM

Les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) de type TEM sont des dérivés des pénicillinases TEM-1 et TEM-2. Ces enzymes confèrent une résistance aux pénicillines et aux céphalosporines de première génération. La première BLSE de type TEM identifiée, nommée TEM-3, a été découverte en 1984 chez *Klebsiella pneumoniae* en France. Elle était initialement désignée sous le nom de CTX-1, en raison de son activité contre la céfotaxime (Brun-Buisson *et al.*, 1987). La TEM-3 se distingue du TEM-2 par le remplacement de deux acides aminés (Sougakoff *et al.*, 1988).

Actuellement, plus de 100 variantes de BLSE de type TEM sont répertoriées. Ces enzymes sont fréquemment détectées chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, mais également chez d'autres espèces d'entérobactéries telles que *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* et *Salmonella spp.* (Ghafourian *et al.*, 2015).

### 4.3.2 BLSE de type SHV

Le SHV-1 a été détecté en 1979 et est couramment présent chez *Klebsiella spp.* et *Escherichia coli* (Ghafourian *et al.*, 2015). La première BLSE décrite, la SHV-2, a été identifiée en 1985 chez une souche unique de *Klebsiella ozaenae* isolée en Allemagne. Elle

différait de la SHV-1 par une substitution unique d'acide aminé, où la glycine est remplacée par la sérine (Huletsky *et al.*, 1993).

Comme pour les BLSE de type TEM, la plupart des SHV montrent des mutations aux positions 238 (Glycine à Serine) et 240 (Lysine à Glutamine) (Bradford, 2001). Ces mutations donnent naissance à divers phénotypes d'enzymes  $\beta$ -lactamases, avec des capacités variables pour l'hydrolyse des C3G et augmentent le niveau de résistance aux inhibiteurs de la  $\beta$ -lactamase (Winokur *et al.*, 2000). La substitution de la sérine en position 238 semble jouer un rôle crucial dans l'hydrolyse efficace du ceftazidime, tandis que la substitution de la lysine en position 240 est essentielle pour l'hydrolyse efficace du cefotaxime (Huletsky *et al.*, 1993).

Les BLSE de type SHV se trouvent chez diverses souches d'entérobactérie ainsi que chez les non entérobactéries : *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp* (Ghafourian *et al.*, 2015). Jusqu'à présent, 228 variantes du SHV ont été repérées, bien que leur caractérisation fonctionnelle ne soit pas exhaustive pour déterminer si elles expriment le phénotype BLSE. Les deux variantes de BLSE les plus répandues chez les entérobactéries à l'échelle mondiale sont SHV-5 et SHV-12 (Castanheira *et al.*, 2021).

### 4.3.3 BLSE de type CTX-M

Depuis sa première détection en 2000, la BLSE de type CTX-M sont les plus prévalentes à l'échelle mondiale. Elles sont principalement détectées chez *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, tant en milieu hospitalier que communautaire (Cantón et Coque, 2006; Paterson, 2006). Cependant, elles ont également été signalées chez d'autres genres bactériens, tels que *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella* et *Serratia*, ainsi que chez la famille pseudomonaceae (Ogbolu *et al.*, 2018). Ces enzymes ont communément une activité préférentielle sur le céfotaxime et la céftriaxone par rapport à la ceftazidime. Cependant, plusieurs variantes de CTX-M présentent une activité ceftazidimase accrue (Rossolini *et al.*, 2008).

Plus de 130 variantes CTX-M ont été décrites et regroupées en six catégories phylogénétiques : CTX-M-1, M-2, M-8, M-9, M-25 et M-45, ces groupes sont déterminés en fonction des similitudes dans leurs séquences d'acides aminés (Rossolini *et al.*, 2008). Parmi ces variantes, le type CTX-M-15 qui appartient au groupe CTX-M-1 est le plus répandu en milieu hospitalier et communautaire (Cantón et Coque, 2006), suivie par la CTX-M-14 dans le groupe CTX-M-9, et plus récemment le CTX-M-27, qui a émergé dans certaines parties du monde (Castanheira *et al.*, 2021). En Algérie, la première identification d'une souche de *K.*

*pneumoniae* hébergeant le gène *blaCTX-M-15* remonte à l'année 2005 à l'hôpital de Bejaia (Touati *et al.*, 2006).

### 4.4 Céphalosporinases ou Enzymes AmpC

Les  $\beta$ -lactamases AmpC entraînent généralement une résistance, aux pénicillines, aux combinaisons d'inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase/ $\beta$ -lactame, aux céphamycines, ainsi qu'aux céphalosporines de 1ère, 2ème et 3ème génération dont la céfotaxime, la ceftazidime ou la ceftriaxone, mais hydrolysent faiblement les C4G (céfépime) et les carbapénèmes. En revanche, leur action est entravée par la présence de pompes d'efflux ou par la perte de pores sur la membrane externe (Guérin *et al.*, 2015; Harris, 2015). L'hydrolyse de la céfoxitine permet de distinguer les AmpC qui la dégradent, des BLSE qui ne possèdent pas cette capacité (Kakoullis *et al.*, 2021).

L'AmpC peut être codée par des gènes situés sur le chromosome ou des plasmides. Les AmpC chromosomiques sont codées par des gènes *ampC* (Bush *et al.*, 1995). Le groupe CESP, qui comprend *Citrobacter freundii*, *Klebsiella aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Providencia stuartii* et *Morganella morganii*, regroupe des espèces communes d'entérobactéries responsables d'infections nosocomiales et communautaires liées à la production de  $\beta$ -lactamases AmpC chromosomiques. Certaines souches, comme *E. coli* et *K. pneumoniae*, ont montré une transition des gènes codant enzymes du chromosome vers le plasmide (Jacoby, 2009; Rodríguez-Guerrero *et al.*, 2023). La production de ces  $\beta$ -lactamases est induite par l'exposition à différentes  $\beta$ -lactamines, notamment la pénicilline, l'ampicilline, l'amoxicilline, la céfazoline, la céfoxitine et l'imipénème. Les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase, tels que l'acide clavulanique, peuvent entraîner une augmentation paradoxale de l'expression de l'AmpC, rendant ainsi certaines souches plus résistantes aux  $\beta$ -lactamines (Rodríguez-Guerrero *et al.*, 2023).

Les premiers gènes de la céphalosporinase ampC plasmidique (de type CMY-1) ont été découverts en 1988, chez des souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes à la céfoxitine (Bauernfeind *et al.*, 1989). Depuis lors, de nombreux gènes ont été signalés dans le monde entier, avec plus de 200 types découverts jusqu'à présent (Zhou *et al.*, 2022). Les génotypes fréquemment rapportés dans différentes régions du monde sont : Céphamycinase (CMY), Cefoxitinase (FOX), Dihydroxyphenylalanine (DHA), Ambler Class C (ACC), Morganella Hydrolytic enzyme (MOH), Extended Broad-spectrum Cephalosporinase (EBC) et Céphalosporinases Induites ou Transférables (CIT) (Barlow et Hall, 2003; Hossain *et al.*,

2004). Ces gènes confèrent généralement des profils de résistance similaires à ceux des céphalosporinases chromosomiques.

Contrairement au gène *ampC* chromosomique, les gènes *ampC* à médiation plasmidique sont exprimés en permanence à un niveau élevé et peuvent être transférés à d'autres souches par transformation et conjugaison, ce qui entraîne une résistance généralisée aux antibiotiques (Zhou *et al.*, 2022).

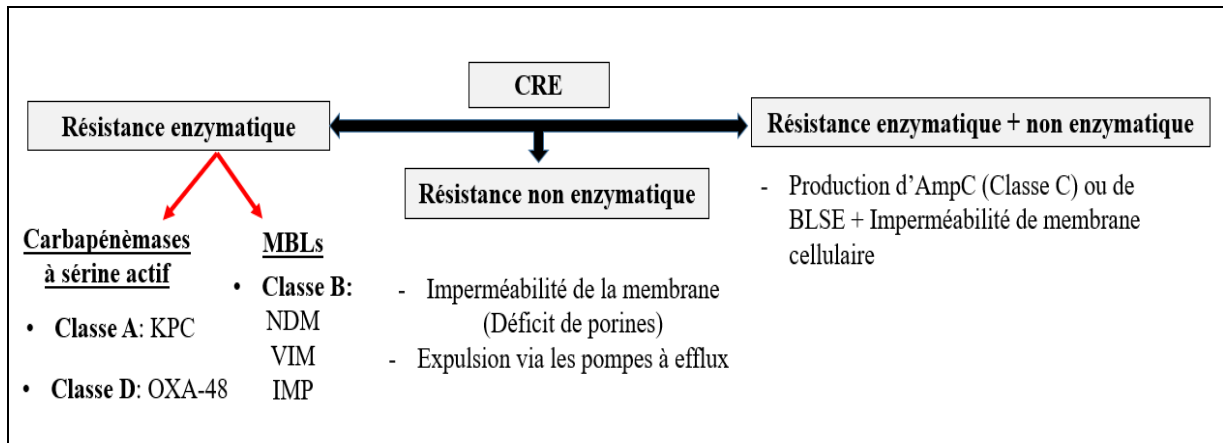
Le CMY-2 est le type d'enzyme *ampC* le plus répandu en Algérie (Boudjemaa *et al.*, 2019; Iabadene *et al.*, 2009; Souna *et al.*, 2014), en Espagne, en France, en Allemagne, en Grèce, en Inde, au Pakistan, à Taiwan, au Royaume-Uni, aux États-Unis et au Japon (Jacoby, 2009; Navarro *et al.*, 2001). D'autres variantes telles que CMY-4, CMY-12 et DHA-1 ont également été détectées en Algérie (Gharout-Sait *et al.*, 2015; Iabadene *et al.*, 2009; Nedjai *et al.*, 2012).

### 4.5 Carbapénèmases

Les carbapénèmases sont des enzymes capables d'hydrolyser les carbapénèmes et dont l'activité s'étend aux autres  $\beta$ -lactamines (Nordmann et Poirel, 2013). Elles appartiennent à trois classes d'Ambler : classe A qui inclut le prévalent (KPC), classe B (Metallo- $\beta$ -lactamase M $\beta$ L) et classe D (OXA-48). Les M $\beta$ L sont généralement inhibées par des agents chélateurs tels que l'EDTA et l'acide dipicolinique. Les enzymes de classe C ainsi que les BLSE peuvent également induire une résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries dans le cas où elles sont associées à une perméabilité réduite (García-Fernández *et al.*, 2010; Meletis, 2016; Pitout et Laupland, 2008) (Figure 4).

La résistance aux carbapénèmes a été observée dans un premier temps chez des entérobactéries surexprimant le gène chromosomique *ampC*, codant pour une céphalosporinase intrinsèque, et présentant des modifications des porines OmpC ou OmpF, notamment chez *Enterobacter spp.*, ainsi que chez *Serratia spp.*, *Citrobacter freundii*, et *Morganella morganii* (Koebnik *et al.*, 2000). En revanche, cette résistance a également été détectée chez d'autres espèces entérobactériennes qui n'expriment pas de céphalosporinase intrinsèque, comme *E. coli*, *K. pneumoniae* en raison de l'expression de l'AmpC codée par un plasmide combiné à une diminution de la perméabilité de la membrane cellulaire qui est le résultat des modifications de OmpK35/36 chez *K. pneumoniae*, de OmpF et de OmpC chez *E. coli* (Shin *et al.*, 2012).

Les enzymes de classes A, C et D possèdent une sérine dans le site catalytique actif, alors que les MβL de classe B possèdent un zinc dans leur site actif (Bush et Jacoby, 2010). Parmi ces derniers, Verona Integron-encoded MβL (VIM), Imipenemase MβL (IMP) et New Delhi MβL (NDM), sont les plus prévalents et les plus communs chez les entérobactéries et ont aussi été détectées chez de nombreuses autres espèces Gram-négatives (Bush et Jacoby, 2010).



**Figure 4:** Mécanismes de résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries (Ma *et al.*, 2023)

CRE : Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes ; IMP : Imipenemase métallob- $\beta$ -lactamase ; MBL : Métallo- $\beta$ -lactamase ; NDM : New Delhi Métallo- $\beta$ -lactamase ; OXA : Oxacillinase ; VIM : Métallo- $\beta$ -lactamase codée par l'intégron de Vérone.

#### 4.5.1 Carbapénémases à Serine actif

##### 4.5.1.1 Carbapénémase de type KPC

Les souches productrices de cette carbapénémase peuvent résister à toutes les classes d'agents antibiotiques disponibles cliniquement, à l'exception de la colistine et de la tigécycline (Munoz-Price *et al.*, 2013). En revanche, l'action de cette enzyme peut être neutralisée par l'acide clavulanique ou l'acide boronique (Kelly *et al.*, 2017). Le nouvel inhibiteur de la  $\beta$ -lactamase, avibactam, a montré une activité inhibitrice accrue sur la KPC (Zhanel *et al.*, 2013). De plus, l'association de l'avibactam avec la ceftazidime a significativement réduit les CMI de la ceftazidime de 128 fois pour *K. pneumoniae* produisant la KPC (Castanheira *et al.*, 2014; de Jonge *et al.*, 2016).

La première identification de *K. pneumoniae* hébergeant le gène *blaKPC* remonte à 1996 en Caroline du Nord, aux États-Unis (Yigit *et al.*, 2001). Depuis lors, il a été détecté chez d'autres espèces d'entérobactéries ainsi que chez *Pseudomonas aeruginosa* et ont rapidement disséminé dans diverses régions du monde (Cuzon *et al.*, 2010; Deshpande *et al.*, 2006). Ces souches sont essentiellement responsables d'infections systémiques nosocomiales.

Les entérobactéries portant ce gène sont répandues dans diverses régions, telles que les États-Unis, l'Amérique latine, l'Italie, la Grèce, le Moyen-Orient et la Chine (Albiger *et al.*, 2015; Feil, 2017; Iovleva et Doi, 2017; Villegas *et al.*, 2016). À l'heure actuelle, les principaux foyers endémiques des bactéries produisant la KPC se situent aux États-Unis, en Amérique latine et en Chine (Porreca *et al.*, 2018).

En Algérie, la KPC a rarement été mise en évidence chez les souches d'Entérobactéries cliniques. Elle a été identifiée chez une souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée en juin 2013 à partir du liquide céphalorachidien d'un bébé de 6 mois atteint d'hydrocéphalie au Centre Hospitalier Universitaire de Sétif (Bakour *et al.*, 2015b), et plus récemment, détectée chez trois *K. pneumoniae* isolées chez des femmes au service d'urologie de l'hôpital Ibn Rochd d'Annaba (Brahmia *et al.*, 2021).

Il existe plus de 150 variantes du gène *blaKPC* à l'échelle mondiale, la plupart ont été découverts au cours des trois dernières années, suscitant des inquiétudes parmi la population (Ding *et al.*, 2023).

### 4.5.1.2 Carbapénèmases de type OXA-48

Les carbapénèmases OXA-48 sont des enzymes  $\beta$ -lactamases produites par plusieurs entérobactéries, dont *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae*. Ces enzymes, avec un noyau  $\beta$ -lactame monocyclique, hydrolysent efficacement les pénicillines (aminopénicillines, carboxypénicillines, ureidopénicillines) et les céphalosporines de première et deuxième générations. Elles montrent cependant une activité limitée contre les carbapénèmes, notamment l'imipénème et le méropénème, avec une préférence pour l'ertapénème (Evans et Amyes, 2014; Poirel *et al.*, 2012). L'OXA-48 a une faible activité contre les céphalosporines à large spectre comme la ceftazidime, la cefepime et la ceftriaxone, et est stable face à l'aztréonam (Sader *et al.*, 2018 ; Wiskirchen *et al.*, 2014). De plus, elle n'est pas inhibée par les inhibiteurs classiques de  $\beta$ -lactamase (Nordmann *et al.*, 2012b, 2011a) (Figure 5). L'OXA-48 est souvent co-exprimée avec d'autres gènes de résistance, comme *blaTEM*, *blaSHV*, et surtout *blaCTX-M*, ou les AmpC sur des plasmides supplémentaires ( de Jonge *et al.*, 2016; Mairi *et al.*, 2018).

Les OXA-48 contiennent de 261 à 265 acides aminés, et leurs gènes codants mesurent 798 pb (Pitout *et al.*, 2019). Les variantes d'OXA-48 diffèrent par une à cinq substitutions d'acides aminés ou une délétion de quatre acides aminés, ce qui entraîne des variations d'activité enzymatique (Nordmann *et al.*, 2012b). Parmi les variantes courantes figurent OXA-

48, OXA-181, OXA-232, OXA-204, OXA-162, et OXA-244, tandis que les types OXA-436, OXA-245, OXA-484 et OXA-519 sont moins fréquents. D'autres variantes, comme OXA-163, OXA-252 et OXA-405, n'ont pas une activité suffisante contre les carbapénèmes pour être considérées comme des carbapénèmases (Dortet et Naas, 2017).

L'enzyme OXA-48 a été identifiée chez plusieurs espèces d'entérobactéries, notamment *E. coli* (Gauthier *et al.*, 2018), *E. cloacae* (Peirano *et al.*, 2018), *Citrobacter freundii* (Bedenić *et al.*, 2018), *Serratia marcescens* (Regev-Yochay *et al.*, 2018), *Proteus mirabilis* (Chen *et al.*, 2015), *Kluyvera spp.* (Hernández-García *et al.*, 2018), *Klebsiella oxytoca* (Aquino-Andrade *et al.*, 2018), et *Salmonella spp.* (Seiffert *et al.*, 2014). Chez *K. pneumoniae*, les clones prédominants incluent ST101, ST395, ST405, ST11, ST14, et ST15, avec ST101 étant le plus fréquent dans la région méditerranéenne (Pantel *et al.*, 2014; Potron *et al.*, 2013). L'enzyme OXA-48 a été détectée pour la première fois à Istanbul en 2001 chez une souche de *K. pneumoniae* d'un patient souffrant d'infection urinaire et de brûlures cutanées (Poirel *et al.*, 2004). Depuis, elle a été associée à des épidémies nosocomiales et communautaires, notamment dans les pays méditerranéens (Djahmi *et al.*, 2014).

Les gènes *blaOXA-48* sont généralement portés par des plasmides IncL/M de 60-70 Kb, considérés comme l'une des six principales familles de plasmides de résistance chez les entérobactéries cliniques (Carattoli, 2009). Ces plasmides se transfèrent efficacement entre différentes espèces d'entérobactéries (Potron *et al.*, 2014).

Les patients hospitalisés, en particulier ceux en soins intensifs ou ayant subi des interventions invasives, présentent un risque accru d'infections à OXA-48. Ce risque est souvent associé à l'utilisation prolongée d'antibiotiques tels que les carbapénèmes, les aminoglycosides et les fluoroquinolones. De plus, les antécédents de voyages dans des zones à forte prévalence de CRE, notamment en Afrique, en Amérique du Nord et en Asie, augmentent également ce risque (Madueño *et al.*, 2017; Mairi *et al.*, 2018). D'autres facteurs de risque incluent l'âge avancé, le sexe masculin, le contact avec des aides-soignants et l'administration préalable de céphalosporines de troisième et quatrième générations, ainsi que de combinaisons de  $\beta$ -lactamines-inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase (Dautzenberg *et al.*, 2016; Debby *et al.*, 2012; Maseda *et al.*, 2017).

### 4.5.2 Métallo $\beta$ -Lactamases (M $\beta$ L)

Les M $\beta$ Ls sont des enzymes métalliques, contenant un ion zinc dans leur site actif, ce qui explique leur inhibition par des agents chélateurs de cations divalents tels que l'EDTA ou l'acide dipicolinique (Roll *et al.*, 2010).

Les types les plus courants de M $\beta$ Ls chez les entérobactéries incluent les groupes IMP, VIM, et le groupe NDM (Nordmann *et al.*, 2012b). Ces enzymes sont efficaces contre toutes les  $\beta$ -lactamines, à l'exception de l'aztréonam, et ne sont pas inhibées par le clavulanate ou le tazobactam (Correa-León *et al.*, 2023) (Figure 5).

Les gènes codant pour les M $\beta$ Ls sont généralement localisés sur des plasmides et sont associés à des intégrons et des transposons, facilitant ainsi la mobilité des gènes de résistance et conduisant à une multi-résistance aux antibiotiques chez les souches concernées (Walsh, 2008).

#### 4.5.2.1 Carbapénémase de type NDM

Les enzymes NDM, composées de 270 acides aminés, contiennent deux ions zinc dans leur site actif, où se produit l'hydrolyse des  $\beta$ -lactamines. Les 24 variantes de NDM résultent de substitutions de 17 acides aminés. En comparaison avec NDM-1, ces variantes présentent généralement de 1 à 5 substitutions, mais aucune ne se situe dans le site actif. Seul le variant NDM-18 est identique à NDM-1, à l'exception d'une répétition en tandem de 5 acides aminés en position 44 à 48 (Wu *et al.*, 2019).

La NDM-1 est la variante ayant le plus large spectre d'hôtes, détectée dans 11 familles bactériennes, avec une prévalence notable chez les espèces d'*Enterobacter* et de *K. pneumoniae*, tandis que la NDM-5 est courante chez *E. coli* (Kazmierczak *et al.*, 2016). Le gène *bla*NDM se trouve souvent sur des plasmides variés, facilitant sa dissémination, bien qu'il soit également présent sur des chromosomes bactériens (Baraniak *et al.*, 2016; Rahman *et al.*, 2018). Parmi les 20 types de réplicons plasmidiques porteurs de *bla*NDM identifiés chez les Enterobacteriaceae, le type IncX3 est le plus répandu (Kumarasamy et Kalyanasundaram, 2012; Kumarasamy *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2019).

Le NDM a une faible activité contre l'amdinocilline, une pénicilline à spectre étendu (Marrs *et al.*, 2014). Sa capacité d'hydrolyser les  $\beta$ -lactamines ne peut pas être inhibée par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase utilisés en clinique, notamment l'acide clavulanique, l'avibactam, le sulbactam et le tazobactam (Wu *et al.*, 2019).

Les souches portant le gène *blaNDM* sont multirésistantes, non seulement aux  $\beta$ -lactamines, mais également à la plupart des antibiotiques, en raison de mécanismes de résistance supplémentaires (Nordmann *et al.*, 2011b). Ce gène est fréquemment détecté chez *K. pneumoniae* ST11, ST14, ST15 et ST147, ainsi que chez *E. coli* ST167, ST410 et ST617 (Nordmann *et al.*, 2011b).

Depuis sa première détection en 2008 en Inde, le NDM-1 a été trouvé chez diverses espèces d'entérobactéries ainsi que chez des BGN non fermenteurs tels que *Acinetobacter* et *Pseudomonas* (Wu *et al.*, 2019). Depuis lors, sa présence s'est généralisée dans le sous-continent indien, notamment en Inde, au Bangladesh et au Pakistan (Munoz-Price *et al.*, 2013). Elle a également été signalée en Europe, en Amérique latine et en Afrique (Albiger *et al.*, 2015; van Duin et Paterson, 2016). La plupart des pays menant des recherches épidémiologiques l'ont détecté, et sa propagation mondiale est principalement attribuée aux voyages internationaux (Kumarasamy *et al.*, 2010).

### 4.5.2.2 Carbapénemase de type VIM

La première détection du VIM-1 en Italie remonte à 1997, et depuis lors, des bactéries produisant des enzymes VIM ont été identifiées à travers le monde (Nordmann *et al.*, 2011a). Principalement associé à *Pseudomonas aeruginosa*, le VIM est de plus en plus signalé chez les Enterobacteriaceae, bien qu'il demeure relativement rare parmi ces bactéries (Queenan et Bush, 2007; Walsh *et al.*, 2005). *K. pneumoniae*, *E. coli* et *Enterobacter spp.* sont les espèces les plus fréquemment liées aux VIM parmi les entérobactéries (Tzouveleki *et al.*, 2012; Walsh *et al.*, 2005).

La présence des entérobactéries produisant des VIM a été principalement notifiée en Europe, notamment en Grèce, en Espagne, en Hongrie et en Italie (Albiger *et al.*, 2015; Nordmann *et al.*, 2011a).

Les gènes *blaVIM* sont fréquemment localisés au sein d'intégrons de classe 1 portés par des plasmides à large spectre d'hôtes (Tzouveleki *et al.*, 2012; Walsh *et al.*, 2005). Ces éléments génétiques mobiles jouent un rôle essentiel dans la dissémination interspécifique de ces carbapénèmases (Mathers *et al.*, 2015).

En Algérie, seulement deux études ont signalé l'émergence du VIM-19 au sein des entérobactéries. L'une a identifié cette enzyme chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, isolées à partir d'écouvillons rectaux prélevés chez un patient de 30 ans (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010). La seconde étude menée dans la même période a également détecté la même enzyme chez cinq

souches d'entérobactéries, comprenant 2 *E. coli*, 2 *K. pneumoniae* et une souche de *Providencia stuartii*, provenant de patients admis à l'unité de soins intensifs à Alger (Robin *et al.*, 2010).

Le VIM-19 diffère du VIM-1 par deux substitutions d'acides aminés ce qui a augmenté son activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010).

### 4.5.2.3 Carbapénémase de type IMP

LA M $\beta$ L de type imipénémase est souvent repérée chez *Pseudomonas aeruginosa* mais peut également être détectée chez les entérobactéries. Il existe au minimum 52 variantes distinctes de cette enzyme (Martínez-Martínez, 2008).

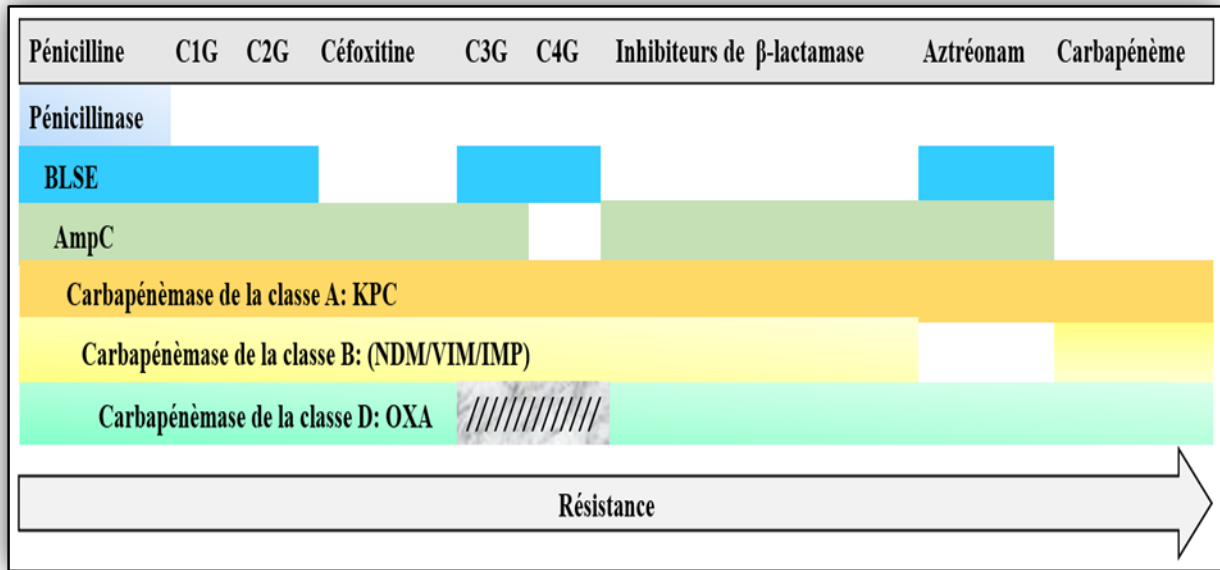
L'acquisition de l'IMP par les entérobactéries a été observée dans plusieurs pays, dont l'Australie, l'Inde, la Chine, les Philippines et le Japon, où cette enzyme est prédominante (Hamada *et al.*, 2013; Nordmann *et al.*, 2011a; Sheng *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015b).

Les isolats d'entérobactéries produisant l'enzyme IMP présentent des profils de sensibilité uniques, notamment vis-à-vis de la ceftazidime et du piperacilline-tazobactam (Doumith *et al.*, 2009)

Les séquences géniques *blaIMP* sont généralement localisées au sein des intégrons de classe 1, soit transférées de *Pseudomonas spp.* aux entérobactéries, soit présentes intrinsèquement (Izdebski *et al.*, 2023; Lombardi *et al.*, 2002; Papagiannitsis *et al.*, 2015). Leur transfert a été observé via différents plasmides munis de réplicons variés (Arcari *et al.*, 2020; Emeraud *et al.*, 2022; Papagiannitsis *et al.*, 2015).

À ce jour, aucune étude en Algérie n'a rapporté la présence d'entérobactéries produisant l'IMP (Touati et Mairi, 2020), bien que son existence soit attestée chez *Pseudomonas aeruginosa* (Mellouk *et al.*, 2017).

Le profil de dégradation des  $\beta$ -lactamines par chacune de ces  $\beta$ -lactamases (pénicillinas, BLSE, AmpC, KPC, NDM, VIM, IMP, OXA) est illustré dans la Figure 5.



**Figure 5:** Profil de dégradation des β-lactamines par chaque type de β-lactamase (Kakoullis *et al.*, 2021)

#### 4.5.3 Traitement des infections à entérobactéries productrices de carbapénémases

La combinaison d'un carbapénème avec soit l'amikacine soit la colistine a démontré son efficacité dans plusieurs cas rapportés. Cependant, l'emploi de ces agents anciens tels que l'amikacine, la tigécycline ou la colistine soulève souvent des questions concernant leur efficacité et/ou leur toxicité (El Chakhtoura *et al.*, 2018; Navarro-San Francisco *et al.*, 2013). Néanmoins, les effets secondaires potentiels de la colistine, comme les problèmes rénaux et la neurotoxicité, paraissent limités réversibles, suggérant son utilisation pour les patients à risque de bactériémie résistante aux carbapénèmes (Babar *et al.*, 2021; Eljaaly *et al.*, 2021).

Les combinaisons récentes d'inhibiteurs de β-lactamase, telles que l'avibactam, le relebactam et le vaborbactam, ciblent principalement les carbapénémases de classe A et, dans une moindre mesure, certaines de classe D, sans inhiber significativement les MBL de classe B (Sadek *et al.*, 2023). De plus, le vaborbactam a également démontré une efficacité sur les enzymes de classe A et C, mais n'a pas d'impact sur celles de classe B et D (Livermore *et al.*, 2020; Lomovskaya *et al.*, 2017). L'avibactam est classé comme un diazabicyclooctane, qui peut détenir la capacité d'inhiber la β-lactamase OXA-48 en formant un complexe covalent stable. De plus, son association avec l'aztréonam a également montré une stabilité face à l'hydrolyse par les MBL, les BLSE, l'AmpC et la KPC (Aktaş *et al.*, 2012; Vasoo *et al.*, 2015).

Un article récent sur les traitements des infections à *K. pneumoniae* produisant la carbapénémase OXA-48 ou NDM recommande la combinaison ceftazidime-avibactam

comme solution thérapeutique principale en raison de sa disponibilité et de son coût abordable. Elle indique également que la colistine reste une option de secours. Pour les infections à NDM, l'association de ceftazidime-avibactam avec aztréonam ou céfiderocol pourrait être envisagée, bien que répondre aux besoins thérapeutiques des porteurs de NDM reste un défi. (Isler *et al.*, 2022).

### **4.5.4 Mesures prophylactiques et stratégies de lutte contre les infections à entérobactéries productrices de carbapénèmases**

Prévenir la dissémination des CPE revêt une importance capitale afin de restreindre les répercussions négatives des infections causées par ces agents. Les établissements de soins peuvent contribuer à cette prévention en mettant en place des pratiques telles que l'hygiène des mains, les précautions de contact, une utilisation judicieuse des antibiotiques et des tests de dépistage de la colonisation par les CPE. Les politiques de dépistage varient en fonction des données épidémiologiques locales, des ressources disponibles et de l'évaluation des données existantes (Richter et Marchaim, 2017).

Le dépistage des CPE doit être effectué à l'admission ou pendant le séjour hospitalier. Des mesures telles que le port d'équipement de protection individuelle, l'isolement du patient dans une chambre avec salle de bain privée et le respect de normes d'hygiène spécifiques sont essentielles. Une gestion appropriée des antibiotiques et des audits des processus de prévention et de contrôle des infections sont également cruciaux pour limiter la transmission des CPE (Boivin et Caux, 2016).

Adopter une approche collective, impliquant tous les acteurs tels que les soignants, les administrateurs, les professionnels de la santé publique et les responsables politiques, est essentiel pour limiter la propagation des CPE dans les établissements de soins et garantir des soins sûrs et de qualité (Boivin et Caux, 2016).

### **4.5.5 Situation en Algérie**

En Algérie, la prévalence des Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE) a augmenté significativement ces dernières années, soulevant des inquiétudes majeures dans les milieux cliniques ainsi que dans l'environnement, comme l'eau et les légumes. Les études ont identifié *blaOXA-48* et *blaNDM-1* comme les principaux gènes de carbapénémase, avec une prédominance notable de *blaOXA-48* dans des villes telles qu'Annaba, Constantine, Sétif, Alger et Bejaïa. Ces gènes sont souvent détectés dans les hôpitaux, qui sont devenus les principaux réservoirs de ces pathogènes cliniquement pertinents (Touati et Mairi, 2020).

Malgré une surveillance accrue, les données sur l'émergence de ces bactéries chez les individus non hospitalisés restent limitées, ce qui met en évidence un besoin urgent de renforcer la surveillance communautaire. Les gènes *blaOXA-48* sont fréquemment observés, suivis de *blaNDM-1* et *blaNDM-5*, tandis que les enzymes M $\beta$ L de type VIM et KPC sont plus rarement rapportées (Bakour *et al.*, 2015b; Brahmia *et al.*, 2021; Robin *et al.*, 2010; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010). Les espèces les plus fréquemment impliquées sont *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*, avec des cas également rapportés chez *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis* et *Providencia stuartii*. La gestion de la résistance aux carbapénèmes nécessite donc une approche intégrée qui combine la surveillance continue, l'ajustement des protocoles de traitement, et l'amélioration des mesures de prévention.

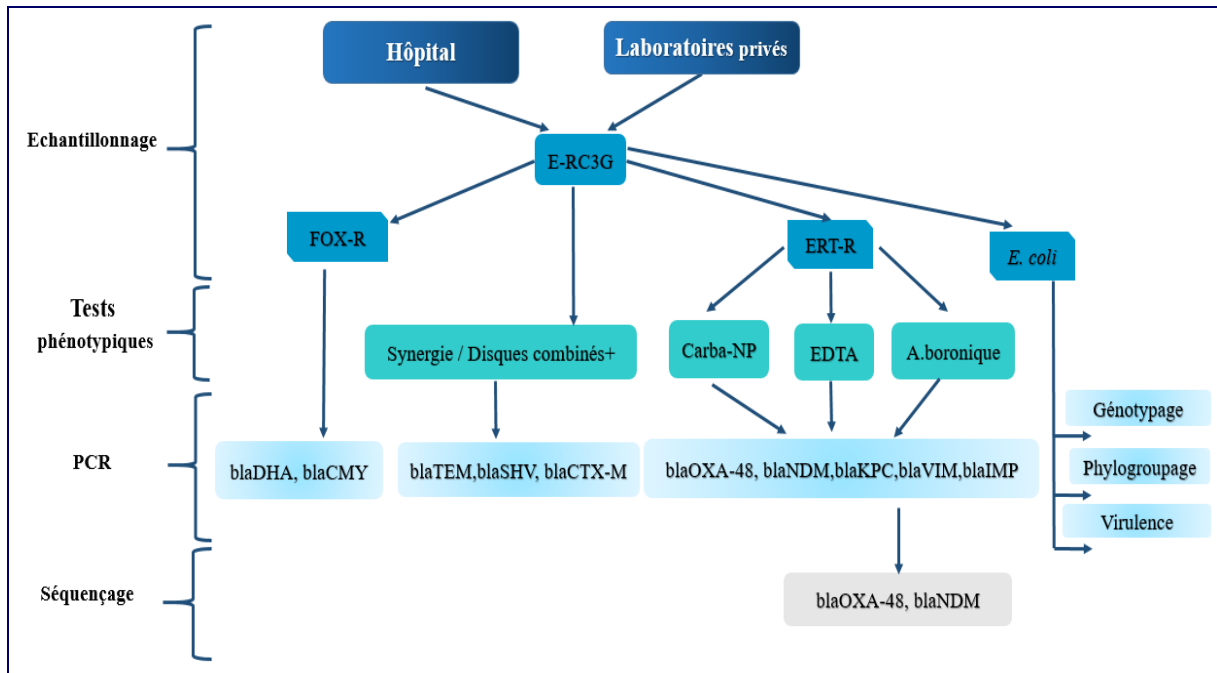
Les différentes carbapénémases détectées en Algérie chez les entérobactéries cliniques sont résumées dans le tableau 2.

**Tableau 2:** Entérobactéries cliniques productrices de carbapénèmase (CPE) en Algérie

Wilaya	Année de publication	Souche CPE	N (CPE)	Genès de carbapénèmase détecté	Reference
Alger	2010	<i>Providencia stuartii</i> - <i>E. coli</i> - <i>K. pneumoniae</i>	5	blaVIM-19	(Robin <i>et al.</i> , 2010)
Alger	2010	<i>E. coli</i> - <i>K. pneumoniae</i>	2	blaVIM-19	(Rodriguez-Martinez <i>et al.</i> , 2010)
Annaba	2014	<i>E. coli</i>	3	blaNDM-5	(Sassi <i>et al.</i> , 2014)
Constantine	2014	<i>E. coli</i>	1	blaOXA-48	(Agabou <i>et al.</i> , 2014)
Alger	2014	<i>K. pneumoniae</i>	1	blaOXA-48	(Aggoune <i>et al.</i> , 2014)
Sétif	2015	<i>K. pneumoniae</i>	1	blaKPC-3	(Bakour <i>et al.</i> , 2015b)
Constantine	2015	<i>K. pneumoniae</i>	3	blaOXA-48	(Cuzon <i>et al.</i> , 2015)
Guelma	2016	<i>K. pneumoniae</i> - <i>E. cloacae</i>	4	blaOXA-48	(Bouguenoun <i>et al.</i> , 2016)
Batna	2016	<i>K. pneumoniae</i>	7	blaOXA-48	(Loucif <i>et al.</i> , 2016)
Ouargla	2017	<i>K. pneumoniae</i> <i>E. cloacae</i>	3	blaOXA-48	(Yagoubat <i>et al.</i> , 2017)
Annaba	2017	<i>K. pneumoniae</i>	2	blaNDM-1	(Abderrahim <i>et al.</i> , 2017)
Annaba- Skikda	2017	<i>K. pneumoniae</i>	2	blaOXA-48	(Mellouk <i>et al.</i> , 2017)
Alger - Oran Constantine- Blida	2018	<i>K. pneumoniae</i> - <i>E. coli</i> - <i>E. cloacae</i>	56	blaOXA-48 - blaNDM blaNDM + blaOXA-48	(Aggoune <i>et al.</i> , 2018)
Annaba	2018	<i>K. pneumoniae</i> - <i>E. coli</i>	5	blaOXA-48	(Bourafa <i>et al.</i> , 2018)
Annaba	2019	<i>K. pneumoniae</i>	3	blaOXA-48	(Yousfi <i>et al.</i> , 2019)
Béjaia-Tizi Ouzou	2019	<i>K. pneumoniae</i> - <i>E. coli</i>	19	blaOXA-48	(Mairi <i>et al.</i> , 2019b)
Setif	2019	<i>E. coli</i>	1	blaOXA-48	(Nabti <i>et al.</i> , 2019)
Constantine	2019	<i>P. mirabilis</i>	1	blaOXA-48	(Leulmi <i>et al.</i> , 2019)
Constantine	2020	<i>E. coli</i>	2	blaOXA-48	(Meziani <i>et al.</i> , 2020)
Béjaia-Tizi Ouzou	2020	<i>E. coli</i> - <i>K. pneumoniae</i>	27	blaOXA-48	(Mairi <i>et al.</i> , 2020)
Annaba	2021	<i>K. pneumoniae</i>	14	blaOXA-48 - blaKPC-2	(Brahmia <i>et al.</i> , 2021)
Sétif	2022	<i>E. coli</i> - <i>E. cloacae</i>	6	blaOXA-48 - blaNDM-5	(Nabti <i>et al.</i> , 2022)
Annaba	2022	<i>E. coli</i> - <i>K. pneumoniae</i> - <i>E. cloacae</i>	29	blaOXA-48 - blaNDM-1	(Abderrahim <i>et al.</i> , 2022)
Ouargla	2022	<i>K. pneumoniae</i>	1	blaNDM-5	(Khaldi <i>et al.</i> , 2022)

# *Chapitre 11 : Matériel et Méthodes*

Pour atteindre les objectifs visés, nous avons opté pour la collecte de souches cliniques d'entérobactéries résistantes aux C3G, isolées au niveau de l'hôpital et de laboratoires privés situés dans la wilaya de Skikda. Cette collecte a été suivie de la caractérisation phénotypique et moléculaire des mécanismes de résistance aux bêta-lactamines, ainsi que du génotypage, du phylogroupage et de l'évaluation de la virulence des souches d'*E. coli*. La conception de l'étude est représentée dans le schéma ci-dessous (Figure 6).



**Figure 6:** Conception de l'étude (Study design) (Réalisé par moi-même)

E-RC3G : les entérobactéries résistantes aux cephalosporines de troisième génération ; FOX-R : les entérobactéries résistantes à la céfoxitine ; ERT-R : les entérobactéries résistantes à l'ertapenem ; Synergie : Test de synergie ; Disques combinés : Test des disques combinés ; Carba-NP : test Carba NP ; EDTA : Test à l'EDTA modifié ; A. boronique : Test à l'acide boronique

## 1 Collecte des souches bactériennes

### 1.1 Choix des laboratoires

Pendant une période de 21 mois, allant d'octobre 2020 à juin 2022, une collecte systématique d'entérobactéries a été réalisée, ciblant principalement l'Établissement Public Hospitalier (EPH) Abderrezek Bouhara, ainsi que neuf laboratoires cliniques privés situés dans la ville de Skikda et les communes avoisinantes. Parmi ces laboratoires, le Laboratoire El Amal, la Clinique Berdoudi, le Laboratoire de Messaoudi, et le Laboratoire Al Fayçal ont contribué plus ou moins régulièrement à la collecte (Tableau 3).

**Tableau 3:** Laboratoires privés participants à l'étude

<b>Laboratoire</b>	<b>Commune</b>	<b>N</b>	<b>Taux (%)</b>
<b>Al Amal</b>	Skikda	22	<b>48,89</b>
<b>El Fayçal</b>	Skikda	4	8,89
<b>Clinique Berdoudi</b>	El Harrouch	8	<b>17,78</b>
<b>El Malik</b>	Collo	1	2,22
<b>Messaoudi</b>	Filfila	5	11,11
<b>Mezghach</b>	Azzaba	1	2,22
<b>Clinique El Rinad</b>	Hamrouch Hammoudi	1	2,22
<b>El Rihab</b>	Skikda	1	2,22
<b>Boughlita</b>	Skikda	2	4,44

N : Nombre de souches

### **1.2 Recueil des souches**

Les souches bactériennes collectées ont été fournies dans les boites des Pétri contenant les primocultures (les cultures primaires) ou dans des boites d'antibiogrammes réalisés par la méthode de diffusion des disques. Pour chaque souche, les informations relatives aux patients ont été consignées, à savoir :

- Service d'hospitalisation (pour les patients admis à l'hôpital)
- Type de prélèvement
- Date d'isolement
- Âge du patient
- Sexe du patient
- Résultats de l'identification de la souche
- Résultat de l'antibiogramme

### **1.3 Conservation des souches**

A leur arrivée au laboratoire de Microbiologie du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine, les souches étaient conservées dans un milieu de

conservation pour une utilisation à courte durée. De plus, un réplikat était stocké dans du glycérol à 15% à -20°C pour une conservation à long terme.

### 2 Confirmation de l'identification et de la sensibilité aux antibiotiques

Le système VITEK 2® Compact (BioMérieux) a été employé, d'une part, pour vérifier l'identification des souches et, d'autre part, pour confirmer leur résistance aux C3G ainsi que pour tester leur sensibilité à d'autres antibiotiques. Ce dispositif automatisé a permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'un panel de 16 antibiotiques, listés dans le tableau 4

- **Principe**

Le système VITEK 2® Compact est conçu pour l'identification et la détermination de la sensibilité aux agents antimicrobiens d'une variété de micro-organismes, notamment les bactéries à Gram négatif, les bactéries à Gram positif et les levures, dans des échantillons cliniques ou industriels (Abbas et Radhi, 2016; Darbandi, 2011). Il est entièrement automatisé ; toutes les phases d'identification, de la lecture à l'enregistrement des résultats, sont automatisées, et garantit une excellente identification microbienne de routine. Étant donné que le système fonctionne avec des cartes identifiées par des codes-barres, la traçabilité complète est assurée et les risques d'erreur sont réduits (Decarli *et al.*, 2022).

Le système utilise des cartes de réactifs colorimétriques qui renferment des milieux de culture et des substrats biochimiques (Pincus, 2014). De plus, il utilise la carte Antimicrobial Susceptibility Testing 235 (AST 235), qui contient des dilutions standardisées d'antibiotiques. Ces dilutions correspondent aux seuils de sensibilité définis par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020). La liste complète des antibiotiques testés par le système VITEK 2 est indiquée dans le Tableau 4 et les tests d'identification biochimique sont présentés dans l'annexe 1 .

**Tableau 4:** Liste des antibiotiques testés par le Vitek 2 Compact 15

Classes d'antibiotiques	Types	Abréviations
<b>Pénicillines</b>	Ampicilline	AMP
	Amoxicilline + Ac	AMC
	Pipéracilline + Tazobactam	TAZ
<b>β- lactamines</b>	<b>Céphalosporines</b>	C1G : Cefazoline C2G : Cefoxitine C3G : Céfotaxime Ceftazidime
	<b>Carbapénèmes</b>	Imipeneme Ertapeneme
	<b>Aminoglycoside</b>	Gentamycine Amikacine
	<b>Fluoroquinolone</b>	Ciprofloxacine
<b>Sulfamide</b>	Triméthoprime/sulfaméthoxazole	SXT
<b>Autres :</b>	Fosfomycine	FOS
	Nitrofurantoïne	NIT
	Chloramphenicol	CHL

- **Mode opératoire**

Pour procéder à l'identification et à la détermination de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques, nous avons appliqué la méthode recommandée par le fabricant. Des suspensions bactériennes ajustées à 0,50-0,63 unités de McFarland lues à 625 nm, sont préparées sur milieux non sélectifs à partir des cultures jeunes de 24 heures des isolats en question. Après l'inoculation des cartes d'identification, le système mesure la croissance bactérienne et analyse les réponses métaboliques en vue d'identifier la bactérie jusqu'à l'échelle espèce. Ensuite, le système compare les résultats obtenus avec les réactions spécifiques des espèces répertoriées dans sa base de données, permettant ainsi une identification précise de l'organisme.

Concernant la sensibilité aux antibiotiques, celle-ci est évaluée à l'aide de la carte AST 235, qui renferme des dilutions standardisées d'antibiotiques correspondant à des seuils de sensibilité définis par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020), afin de déterminer si la souche est sensible, résistante ou intermédiaire.

Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI), selon les normes du CLSI (2020), sont présentées dans l'annexe 4.

Les souches bactériennes sont classées comme multirésistantes (MR) lorsqu'elles sont résistantes à au moins un antibiotique appartenant à au moins trois différentes classes d'antibiotiques (Sweeney *et al.*, 2018).

### 2.1 Evaluation de la CMI de la Colistine

Étant donné que la CMI de la colistine n'a pas été déterminée par le système VITEK 2® Compact, la sensibilité des souches à cet antibiotique est évaluée à l'aide de la méthode de dilution en bouillon Mueller Hinton (MHB), conformément aux directives du CLSI (2020). La CMI est ensuite confirmée pour les souches résistantes par la méthode de microdilution.

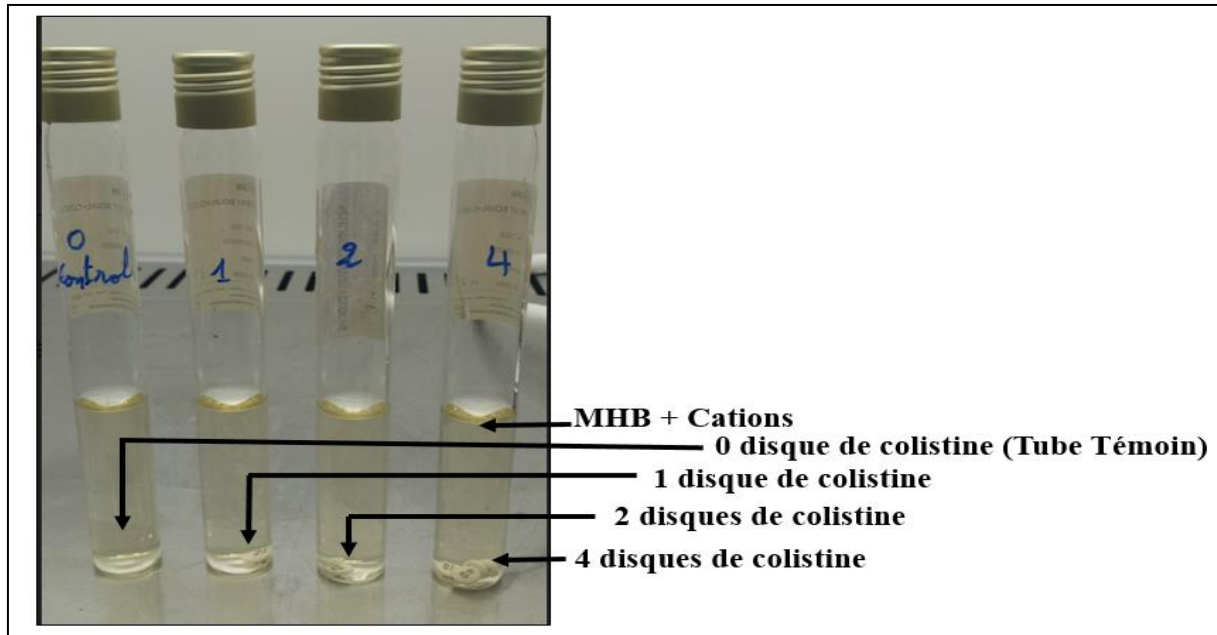
#### 2.1.1 Méthode de diffusion des disques de colistine en bouillon

La méthode de diffusion des disques repose sur la dilution de la colistine à partir d'un, deux, ou quatre disques dans un bouillon Mueller-Hinton ajusté en cations (CAMHB) afin d'obtenir les concentrations souhaitées. Cette méthode présente l'avantage de ne pas nécessiter l'utilisation de la poudre de sulfate de colistine lorsque celle-ci n'est pas disponible.

- **Mode opératoire**

Pour déterminer la CMI de la colistine, nous avons procédé selon la méthode recommandée par le CLSI (2020). Le CAMHB a été d'abord préparé en ajoutant 1 ml de la solution  $Mg^{2+}$  et 2 ml de la solution  $Ca^{2+}$ , préparées à des concentrations finales de 10 mg/mL de MHB. Un volume de 10 ml de CAMHB est par la suite versé dans quatre tubes, étiquetés : control, 1, 2 et 4, puis 0, 1, 2 et 4 disques de colistine, respectivement, sont introduits pour obtenir des concentrations de 0, 1, 2 et 4  $\mu\text{g/ml}$  de colistine (Figure 7).

Les tubes sont incubés à température ambiante pendant au minimum 30 minutes et au maximum 60 minutes pour permettre l'élution de la colistine. Les disques de colistine sont ensuite retirés de manière aseptique et le contenu de chaque tube est réparti dans 10 tubes eppendorfs à raison de 1 ml dans chacun. Chaque série de 4 tubes (contrôle, 1, 2 et 4) est inoculée avec 5  $\mu\text{l}$  de la suspension bactérienne de densité optique 0,08 à 0,10 ; lue à 625 nm de la bactérie à tester et les tubes sont incubés pendant 18 à 20h à 37°C.



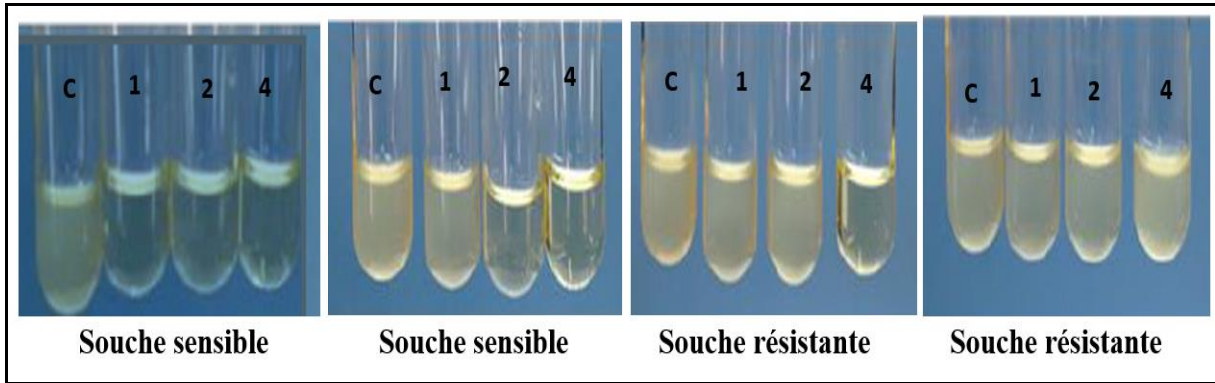
**Figure 7:** Méthode de diffusion des disques de colistine en CAMHB

MHB+cations : Bouillon Mueller Hinton ajusté en cations

- **Interprétation des résultats**

La CMI de la colistine est la concentration la plus faible qui inhibe la croissance de la bactérie, correspondant au premier tube où aucune croissance n'a été observée et qui apparaît clair (Figure 8).

- Si la souche pousse seulement dans le tube contrôle et le tube 1, elle est considérée sensible à la colistine avec une CMI = 2 µg/ml.
- Si la souche pousse dans les tubes control, 1, et 2, elle est considérée résistante à la colistine avec une CMI = 4 µg/ml.
- Si la souche pousse dans les 4 tubes, elle est considérée résistante à la colistine avec une CMI > 4 µg/ml.



**Figure 8:** Interprétation des résultats de la méthode de diffusion des disques de colistine en bouillon

C : Control tube témoin sans colistine

### 2.1.2 Méthode de micro-dilution en bouillon

- **Mode opératoire**

Dans cette méthode, la CMI de la colistine a été déterminée suivant les recommandations du CLSI (2020). La solution stock primaire de la colistine à 1 mg/ml est préparée en mélangeant 10 mg de la poudre de colistine sulphate (Sigma–Aldrich) à une concentration de 776 µg/ml avec 7,76 ml d'Eau distillée stérile (EDS). Cette solution est immédiatement conservée à (-70 °C) ou moins jusqu'au moment d'utilisation.

Pour préparer la solution mère de la colistine, un volume de 64 µl de la solution stock est ajouté à 936 µl de CAMHB qui est préparée comme décrit précédemment dans la méthode de dilution des disques (2.1.1). Une série de dilutions au 1/2 de la solution mère (64 µg/ml) est préparée dans 9 micro-tubes contenant 500 µl de Bouillon Mueller Hinton (MHB) comme indiqué dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 5:** Préparation des séries de dilutions de la colistine à 1/2

		500µl	500µl	500µl	500µl	500µl	500µl	500µl	500µl	500µl
		↙	↙	↙	↙	↙	↙	↙	↙	↙
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
Micro-tubes	Solution mère	500µl MHB	500µl	500µl	500µl	500µl	500µl	500µl	500µl	500µl
Concentration de colistine (µg/ml)/tube	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125

Une microplaque à 96 puits est préparée comme suit :

- Un volume de 50 µl de CAMHB est ajouté dans tous les puits des colonnes 1 à 10, 75µl dans la colonne 11 et 100 µl dans la colonne 12 de la microplaque.
- Un volume de 25 µl de colistine diluée à 64 µg/ml est ajouté dans la colonne 1, 32 µg/ml dans la colonne 2 et ainsi de suite jusqu'à 0,125 µg/ml dans la colonne 10. La colonne 11 sera le témoin de culture contenant uniquement le milieu et l'inoculum bactérien, tandis que la colonne 12 contient uniquement 100 µl de milieu MHB. À la fin, chaque puit de la plaque doit contenir un volume total de 100 µl.
- Les suspensions bactériennes ajustées à 0,5 McFarland standard sont préparées à partir de cultures jeunes sur milieu non sélectif, et sont ensuite diluées 1 :75 fois en ajoutant 10 µl de chaque suspension à 740 µl de milieu MHB. (Une souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 est également incluse parmi les isolats à tester).
- Un volume de 25 µl de la suspension bactérienne diluée est ajouté à tous les puits des colonnes 1 à 11 contenant au préalable 75 µl (50 µl MHB + 25 µl colistine).
- La microplaque est incubée à 37°C pendant 16 à 20 h dans les 15 minutes qui suivent l'ajout de l'inoculum.

• **Interprétation des résultats :**

La CMI de la colistine est la plus faible concentration de colistine qui inhibe complètement la croissance de la bactérie dans les puits de la microplaque, et qu'on peut détecter à l'œil nu (elle apparaît claire). Sa valeur est déterminée comme indiqué dans le tableau 6.

**Tableau 6:** Guide pour l'interprétation des résultats de la méthode de micro-dilution en bouillon

Isolat testé	Concentration de la colistine (µg/ml)										TC	TM	CMI (µg/ml)
	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03			
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	0.5
<b>Isolat 1</b>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	2
<b>Isolat 2</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	16

TC : Témoin de culture ; TM : Témoin du milieu ; (-) : absence de culture ; (+) : Présence de culture.

### 3 Etude phénotypique de la production de $\beta$ -lactamases

#### 3.1 Recherche de la production de $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE)

La recherche de souches productrices de BLSE est effectuée par le test de synergie et confirmée par la méthode des disques combinées.

#### 3.2 Test de synergie

- **Principe**

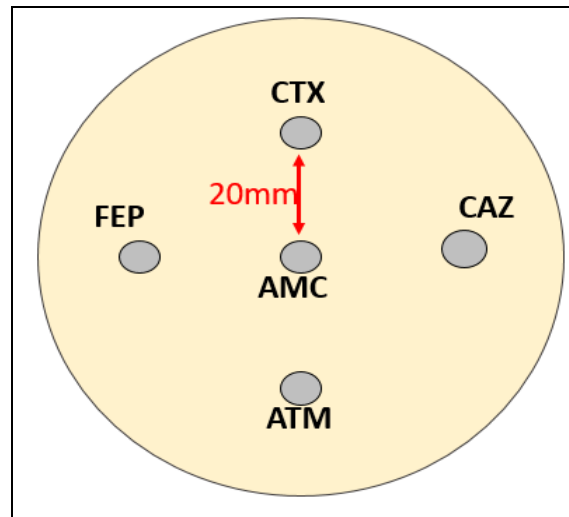
Ce test vise à mettre en évidence une image de synergie ou un effet de bouchon de champagne entre une céphalosporine de troisième génération (céfotaxime, céftazidime), une céphalosporine de quatrième génération (céfépime) et un monobactame (aztréonam) d'une part, et un antibiotique associé à l'acide clavulanique (amoxicilline ou ticarcilline à l'acide clavulanique) d'autre part.

- **Mode opératoire**

Le test de synergie a été réalisé comme décrit par Robin *et al.* (2012). Les disques de céfotaxime (CTX), de céftazidime (CAZ), de céfépime (FEP) et d'aztréonam (ATM) sont placés sur des boîtes de gélose Mueller Hinton, préalablementensemencées avec l'isolat à tester. Un autre disque d'amoxicilline-acide clavulanique (AMC) est placé au milieu de la boîte, centre à centre avec les autres antibiotiques et à une distance de 20 mm, comme le montre la figure 9. Les boîtes sont ensuite incubées 18 à 24h à 37°C.

- **Interprétation des résultats**

Si, après incubation, une image de synergie ou un effet de bouchon de champagne est observé entre le disque d'AMC et l'un des quatre autres disques (CTX, CAZ, ATM, FEP), le résultat est considéré comme positif. Par conséquent, la souche est considérée productrice de BLSE.



**Figure 9:** Schéma représentant l'emplacement des disques d'antibiotiques dans le test de synergie

AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique ; ATM : Aztreonam ; CAZ : Céfotaxime ; CTX : Céfotaxime ; FEP : Céfépime.

### 3.2.1 Confirmation de la production de BLSE par la méthode des disques combinés

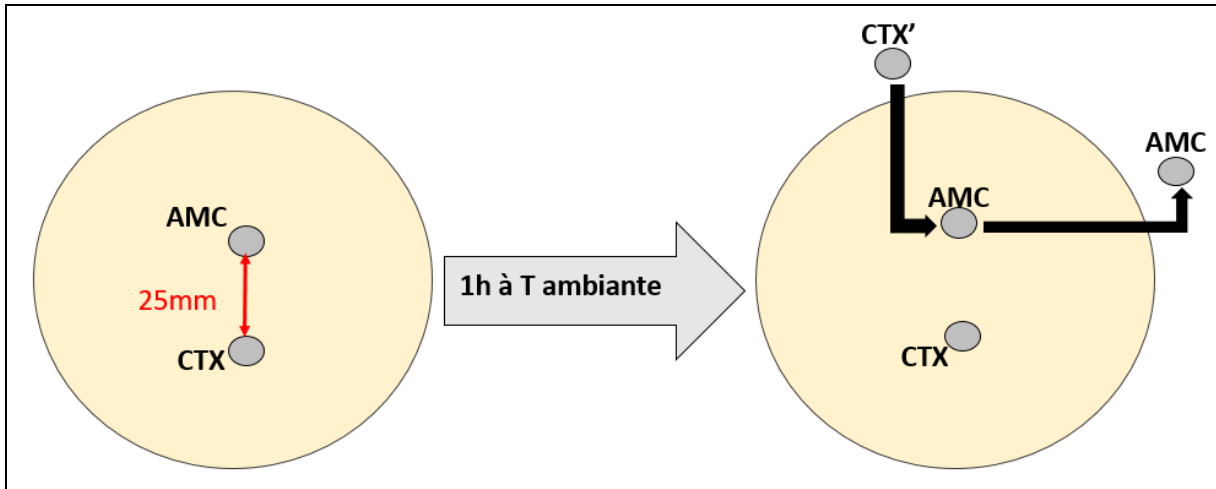
- **Principe**

En raison de sa simplicité d'exécution, d'interprétation et de sa performance élevée en termes de sensibilité et de spécificité par rapport aux autres tests phénotypiques, le test des disques combinés ou de remplacement des disques est recommandé par le CLSI (2020), afin de confirmer la production de BLSE. Ce test consiste à mesurer le diamètre d'inhibition autour d'un disque de céphalosporine seule (céfotaxime CTX) et autour d'un disque du céfotaxime combiné à l'acide clavulanique (CTX') (Teethaisong *et al.*, 2017).

- **Mode opératoire**

Pour ce faire la démarche suivante (Figure 10) a été suivie (Jarlier *et al.*, 1988) .

- Un disque d'AMC et un autre de CTX sont déposés centre à centre, à une distance de 25 à 30 mm sur une boîte de Mueller Hinton Agarensemencée par la souche à tester.
- Les boîtes sont laissées pendant une heure à température ambiante (sur la paillasse) pour permettre la pré-diffusion des disques d'antibiotiques.
- Le disque d'AMC est ôté et remplacé par un disque de CTX.
- Les boîtes sont incubées à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  pendant 18 h à 24 h.

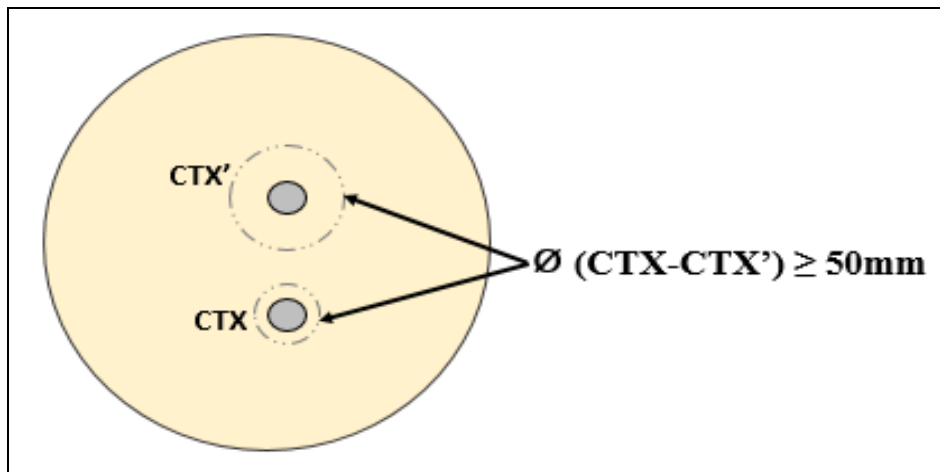


**Figure 10:** Schéma représentant la méthode des disques combinés pour la détection de la production de BLSE

AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique ; BLSE ; CTX : Céfotaxime (1er disque) ; CTX' : 2e disque de céfotaxime ; T : Température.

- **Interprétation des résultats**

Si après incubation, le diamètre d'inhibition autour du disque CTX' se révèle supérieur ou égal à 50 mm par rapport à celui du CTX, le test est considéré positif et la souche est confirmée productrice de BLSE (Figure 11).



**Figure 11:** Mise en évidence de la production d'une BLSE (Test des disques combinés positif)

CTX : Céfotaxime (1er disque) ; CTX' : 2e disque de céfotaxime ; Ø : Diamètre

### 3.3 Recherche de la production de carbapénèmases

Les enzymes capables d'hydrolyser les carbapénèmes (les carbapénèmases) sont généralement détectées chez les bactéries présentant des CMI de carbapénèmes élevées ou des diamètres d'inhibition réduits autour des carbapénèmes.

Elles sont communément détectées phénotypiquement au moyen du test biochimique Carba NP modifié et afin de trancher s'il s'agit de la classe B d'Amblar : métallo-bêta-lactamase (M $\beta$ Ls), on a recours au test à l'éthylène diamine tétra acetic acid (EDTA). Il est également possible d'utiliser le test à l'acide boronique pour identifier les producteurs de carbapénèmase de la classe A d'Amblar : *Klebsiella pneumoniae* carbapénèmase (KPC).

### 3.3.1 Test Carba NP modifié

- **Principe**

Le test Carba NP est un test biochimique sensible et spécifique à 100% qui permet la détection rapide en 2 heures ou moins de la production de carbapénèmase chez les bacilles à Gram-négatif (BGNs) (Nordmann *et al.*, 2012c).

Le test consiste à mettre en évidence l'acidification d'un milieu en présence d'un indicateur de pH (rouge de phénol) et de l'imipénème, qui se manifeste par un changement de couleur du rouge au jaune ou à l'orange dans le cas de l'hydrolyse de l'imipénème consécutif à la production d'une carbapénèmase.

- **Mode opératoire**

La méthode décrite précédemment par Bakour *et al.* (2015) a été suivie (Figure 12). Elle consiste en plusieurs étapes :

- **Préparation de la solution A témoin contenant l'indicateur de pH**

Une solution concentrée de rouge de phénol à 0,5 % (poids/volume) est préparée comme suit :

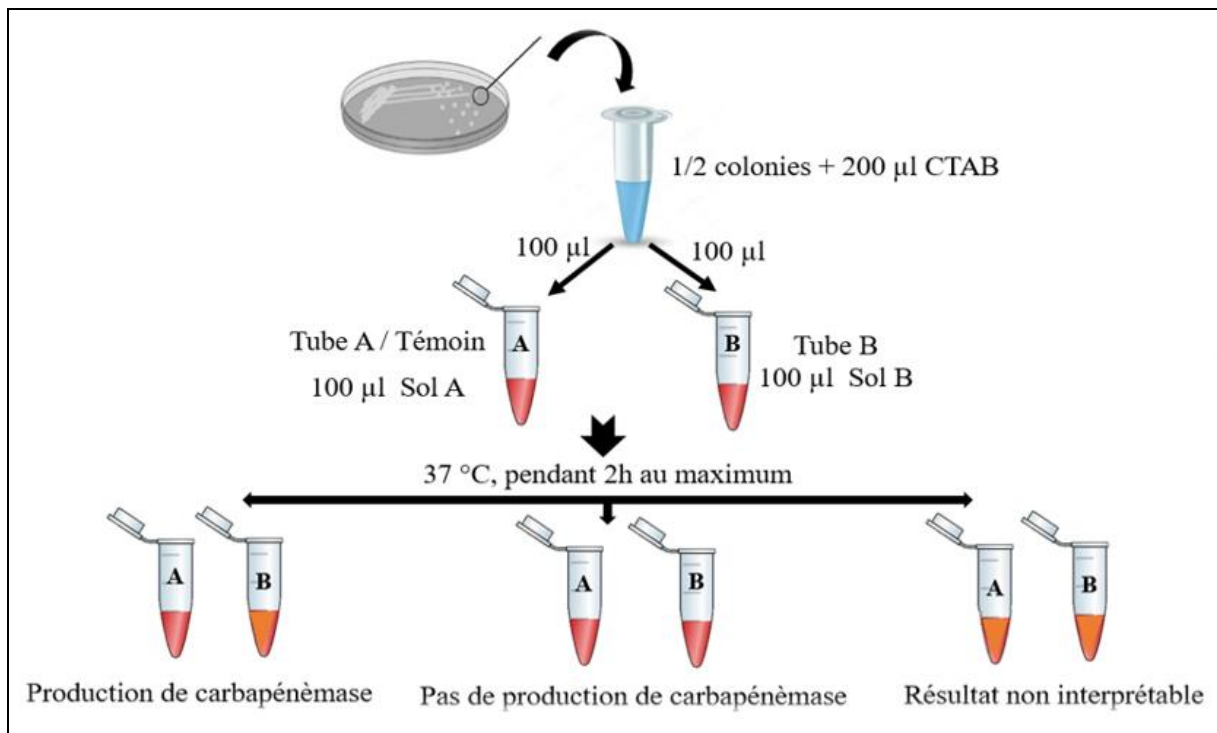
- Un volume de 2 ml de la solution de rouge de phénol est mélangé avec 16,6 ml d'eau distillée stérile (EDS).
- Un volume de 180  $\mu$ l d'une solution de ZnSO<sub>4</sub> à 10 mM est additionné au mélange.
- Le pH du mélange est ajusté à 7,5 avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 1N.

- **Préparation de la solution B contenant l'indicateur de pH et le carbapénème**

La solution B est préparée de la même façon que la solution A avec l'ajout de 12mg/ml de l'imipénème et de la cilastatine.

➤ **Inoculation de l'isolat bactérien à tester**

- Une colonie bactérienne prélevée à partir d'une culture jeune de 24 heures sur un milieu non spécifique, tel que le milieu Mueller Hinton ou la gélose nutritive, est mise en suspension dans un tube eppendorf contenant 200 µl de tampon de lyse : chlorure de cétyl-triméthyl-ammonium (CTAB à 0,02%). La suspension bactérienne est mélangée au vortex pendant 2 min ce qui permet de lyser les cellules bactériennes.
- Un volume de 100 µl de la suspension bactérienne est transféré dans deux tubes A et B.
- Un volume de 100 µl de la solution A est ajouté dans le tube eppendorf A utilisé comme control négatif et 100 µl de la solution B dans le tube eppendorf B.
- Les deux tubes A et B sont mélangés au vortex pendant 1min puis incubés pendant 2 heures au maximum à 37°C.



**Figure 12:** Schéma représentatif du test Carba NP modifié (Bakour *et al.*, 2015a)

Sol A/Témoin : solution contenant 0,5% de rouge de phénol, 10mM ZnSO<sub>4</sub>, et le pH ajusté à 7,5 ; Sol B : Sol A+ 12mg/ml d'imipeneme + Cilastatine.

- **Lecture et interprétation**

La lecture visuelle des tubes eppendorfs A et B de chaque souche est effectuée chaque 15 min et les résultats obtenus sont interprétés selon le tableau 7 ci-dessous.

**Tableau 7:** Interprétation des résultats du test Carba NP modifié

TA couleur	TB couleur	Interprétation
		Pas de production de carbapénèmase
		Production de carbapénèmase
		Résultat non interprétable (A refaire)

TA : Tube A control sans Imipenème ; TB : Tube B avec Imipenème

### 3.3.2 Test à l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA)

- **Principe**

Le test à EDTA permet de détecter les isolats producteurs de carbapénèmases de type métallob- $\beta$ -lactamases (M $\beta$ L) appartenant à la classe B d'Amber qui sont inhibées par le chélateur EDTA. Les enzymes M $\beta$ Ls nécessitent des ions métalliques, généralement du zinc, pour leur activité catalytique. En se liant aux ions métalliques, l'EDTA perturbe l'activité enzymatique des M $\beta$ L, conduisant à une augmentation de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et particulièrement au carbapénèmes (Franklin *et al.*, 2006).

➤ **Mode opératoire**

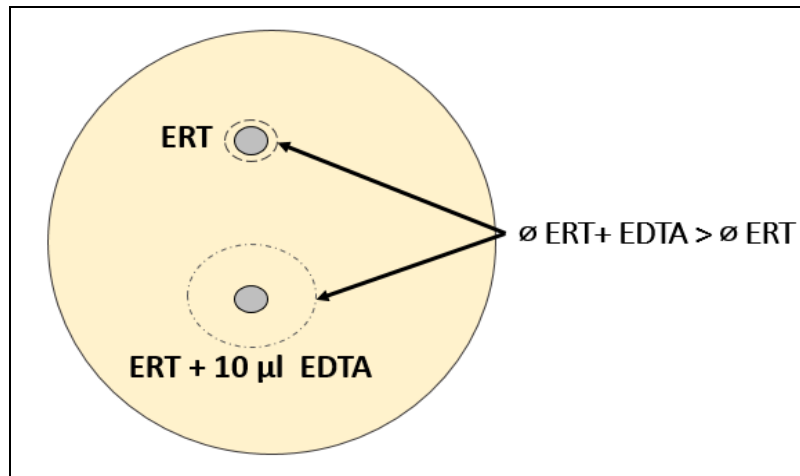
Le test EDTA a été réalisé selon la méthode décrite précédemment par Yong *et al.* (2002)

- Deux disques d'ertapénème (ERT) (10  $\mu$ g), l'un contenant 10  $\mu$ l d'EDTA anhydre 0,1 M (292  $\mu$ g) (Sigma Chemicals, St. Louis, MO) et l'autre sans EDTA, sont placés sur une boîte de Mueller-Hinton Agar préalablement inoculée avec une suspension bactérienne 0,5 Mc Farland de l'isolat à tester.
- La boîte est incubée pendant 16-18 heures à 37°C.

- **Lecture et interprétation**

Les diamètres des zones d'inhibition autour des deux disques ERT et ERT+EDTA sont mesurés. Le test se révèle positif, et la bactérie est considérée productrice de M $\beta$ L, si en présence d'EDTA, l'activité de cette enzyme est inhibée, entraînant un élargissement

significatif de la zone d'inhibition autour du disque ERT+EDTA d'au moins 6 mm par rapport au disque sans EDTA (Figure 13).



**Figure 13:** Mise en évidence de la production de MBL (Test à EDTA positif)

EDTA : Éthylène-diamine-tétra-acétique ; ERT : Ertapénème ;  $\emptyset$  : Diamètre.

### 3.3.3 Test à l'acide boronique

- **Principe :**

Ce test se base sur les propriétés inhibitrices de l'acide boronique vis-à-vis des carbapénémases de classe A d'Ambler, en particulier de *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase (KPC). Lorsqu'une souche bactérienne productrice de KPC est exposée à l'acide boronique, celui-ci forme un complexe avec l'enzyme, inhibant ainsi son activité et induisant la restauration de l'activité du carbapénème (Krivitskaya et Khrenova, 2021).

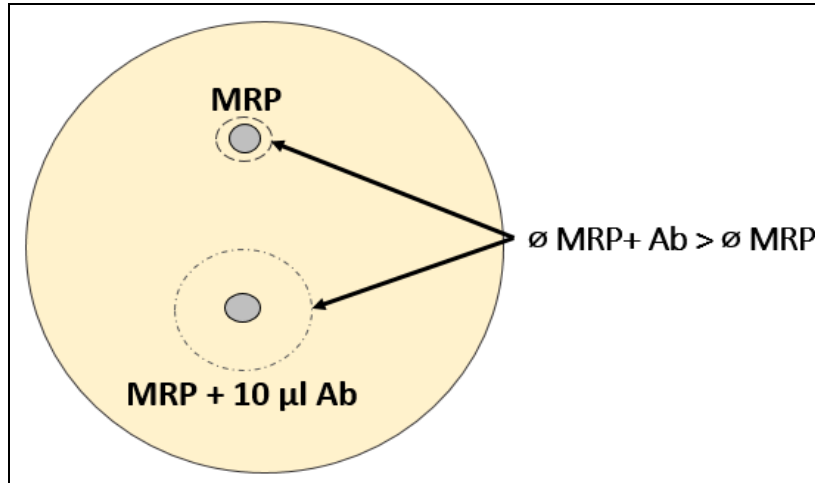
- **Mode opératoire**

La méthode décrite par Tsakris *et al* (2009) a été suivie et s'est déroulée comme suit:

- La solution de l'acide boronique est préparée en dissolvant 120 mg d'acide phenylboronique (benzene boronic acid) dans 3 ml de dimethyl sulfoxide, puis un volume de 3 ml d'eau distillée stérile (EDS) est ajouté.
- La boîte contenant la gélose Mueller Hinton estensemencée avec la suspension bactérienne ajustée à 0,5 Mc Farland de l'isolat à tester.
- Deux disques de méropénème (10µg) sont déposés et 10µl de la solution d'acide boronique est ajouté à l'un d'eux.
- La boîte est incubée 18 à 24 heures à 37°C.

- **Lecture et interprétation**

Après incubation, une augmentation du diamètre d'inhibition de 50 mm ou plus autour du disque de méropénème associé à l'acide boronique par rapport au disque de méropénème seul indique la production de KPC, comme représenté dans la figure 14.



**Figure 14:** Mise en évidence de la production de KPC (Test à l'acide boronique positif)

MRP : Méropénème, Ab : Acide boronique ;  $\varnothing$  : diamètre.

#### 4 Etude moléculaire de la production de $\beta$ -lactamase

##### 4.1 L'extraction de l'ADN bactérien

- **Principe**

L'extraction d'ADN génomique est réalisée en utilisant la méthode de lyse par ébullition (Boiling lysis method) telle que décrite précédemment par Feria *et al.* (2002). Cette méthode vise à libérer l'ADN bactérien. Les cycles d'ébullition et de refroidissement provoquent la rupture des membranes cellulaires, ce qui libère l'ADN. La centrifugation sépare ensuite les débris cellulaires de l'ADN extrait, qui se retrouve dans le surnageant.

- **Mode opératoire**

- Deux colonies bien isolées sont prises à partir d'une culture jeune de 24h et mises en suspension dans 150µL de tampon Tris-EDTA (TE).
- La suspension bactérienne est bouillie 10 minutes à 98°C pour assurer la lyse cellulaire et la libération de l'ADN.
- Une étape de centrifugation à 12 000 rpm est effectuée en vue de se débarrasser des débris cellulaires.

- Le surnageant obtenu (90 µl) est récupéré et utilisé comme ADN matrice pour les réactions d'amplification.
- Avant d'utiliser l'ADN ou de le conserver à - 20°C, sa qualité (concentration et pureté) est vérifiée avec le Nanodrop.

### 4.2 La réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR)

- **Principe**

La PCR est une technique d'amplification *in vitro* d'une séquence spécifique d'acide nucléique. Elle utilise une paire d'amorces, une pour chaque brin d'ADN, pour produire rapidement une quantité importante d'une région ciblée de l'ADN. Le cycle d'amplification commence par la dénaturation de l'ADN double brin, séparant ainsi les brins. Ensuite, les amorces se lient aux séquences spécifiques, et la Taq polymérase catalyse l'extension des amorces en ajoutant des nucléotides complémentaires. Ce processus est répété en cycles, générant une amplification exponentielle du fragment d'ADN ciblé (Godbey, 2022; Tantray *et al.*, 2023).

- **Mode opératoire**

La PCR standard est utilisée pour cibler les gènes codant la BLSE (*blaCTX*, *blaTEM*, *blaSHV*) chez toutes les souches collectées, les gènes codant l'AmpC (*blaCMY* et *blaDHA*) chez les isolats résistants au FOX, et les gènes codant les carbapénémases (*blaOXA-48*, *blaKPC*, *blaNDM*, *blaVIM* et *blaIMP*) chez les isolats résistants aux carbapénèmes. En plus des gènes codant les β-lactamases, le gène *mcr-1*, responsable de la résistance à la colistine, est ciblé chez les souches confirmées résistantes à la colistine.

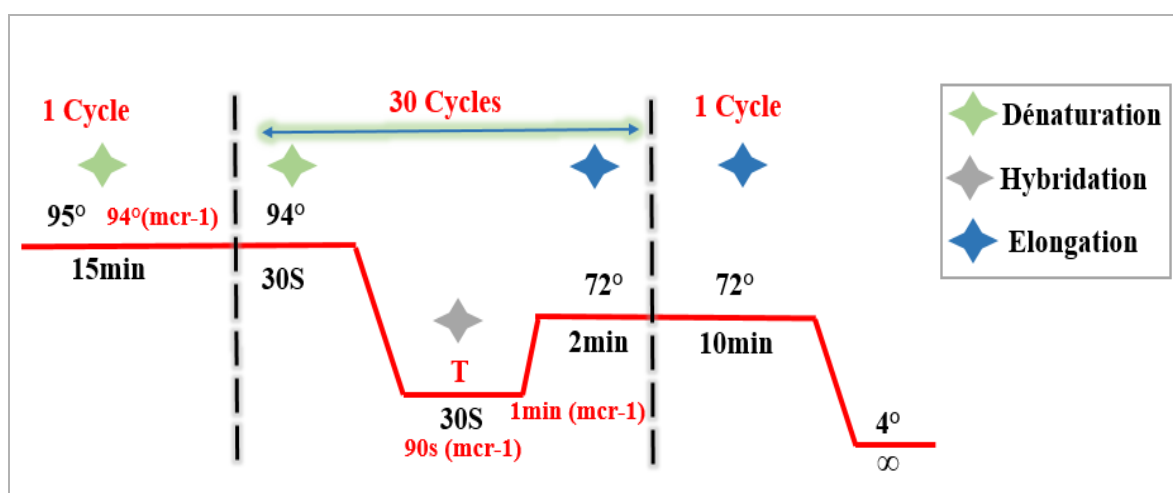
Pour chaque réaction PCR, un volume final de 25 µL du mélange réactionnel est préparé, les composants étant décrits dans le tableau 8.

**Tableau 8:** Composition du mélange réactionnel utilisé dans la PCR standard

Composant	Volume
H2O (Nuclease Free Water)	18,25 µl (18,5 µl pour le gène <i>mcr-1</i> )
Buffer (Tampon) 10x	2,5 µl
Amorce forward (sens) 100 µM	0,5 µl
Amorce reverse (anti-sens) 100 µM	0,5 µl
MgCl <sub>2</sub> 50 Mm	0,5 µl
dNTP 10 Mm	0,5 (0,25 µl pour le gène <i>mcr-1</i> )
Taq polymerase 5U/µl	0,25 µl
ADN à amplifier	2 µl
Volume total	25µl

L'amplification de tous les gènes codant des β-lactamases est réalisée comme suit : une étape de dénaturation initiale de l'ADN double brin à 95 °C pendant 15 minutes, suivie de 30 cycles comprenant une dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes, une étape d'hybridation à une température déterminée selon la séquence d'amorces utilisée (Tableau 9) pendant 30 secondes, et une élongation à 72 °C pendant 2 minutes. Enfin, l'opération est achevée par une élongation finale à 72 °C pendant 10 minutes. La PCR du gène *mcr-1* se distingue de celle des gènes de β-lactamases par une température de dénaturation initiale de 94 °C, un temps d'hybridation de 90 secondes, et une durée d'élongation initiale de 1 minute. Le schéma en figure 15 illustre le profil thermique des réactions PCR.

Les séquences des amorces utilisées dans les réactions PCR, la température d'hybridation spécifique pour chacune et la taille de l'amplicon, sont indiquées dans le tableau 9.



**Figure 15:** Schéma représentant le profil de la PCR standard

**T** : Température d'hybridation qui varie en fonction de l'amorce utilisée dans la réaction PCR.

**Tableau 9:** Amorces utilisées dans les réactions PCR

Gène	Séquences d'amorce 5'- 3'	Taille d'amplicon (pb)	Th (C°)	Référence
<i>blaCTX M</i>	F- TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA R-CGATATCGTTGGTGGTGCCATA	500	50	(Kiiru <i>et al.</i> , 2012)
<i>blaSHV</i>	F-TTTATGGCGTTACCTTTGACC R-ATTTGTCGCTTCTTTACTCGC	1051	53	(Yagi <i>et al.</i> , 2000)
<i>blaTEM</i>	F-ATGAGTATTCAACAT TTC CG R-CCAATGCTTAATCAG TGA GG	840	50	(Kiiru <i>et al.</i> , 2012)
<i>blaCMY</i>	F-ATGATGAAAAAATCGTTATGC R-TTGCAGCTTTTCAAGAATGCGC	1200	50	(Kiiru <i>et al.</i> , 2012)
<i>blaDHA</i>	F-TGATGGCACAGCAGGATATTC R-GCTTTGACTCTTTCGGTATTCG	997	59	(Dallenne <i>et al.</i> , 2010)
<i>blaNDM</i>	F-CATTTGCGGGGTTTTTAATG R-CTGGGTCGAGGTCAGGATAG	1022	52	(Diene <i>et al.</i> , 2011)
<i>blaOXA</i>	F-TTGGTGGCATCGATTATCGG R- GAGCACTTCTTTTGATGGC	744	54	(Mellouk <i>et al.</i> , 2017)
<i>blaKPC</i>	F-ATGTCACTGTATCGCCGTCT R- TTTTCAGAGCCTTACTGCC	893	55	(Diene <i>et al.</i> , 2011)
<i>blaVIM</i>	F- ATTGGTCTATTTGACCGCGTC R- ATGAAAGTGCGTGGAGAC	382	54	(Nordmann <i>et al.</i> , 2012a)
<i>blaIMP</i>	F-CATGGTTTGGTGGTTCTTGT R-ATAATTTGGCGGACTTTGGC	448	53	(Mellouk <i>et al.</i> , 2017)
<i>mcr-1</i>	F- AGTCCGTTTGTCTTGTGGC R- AGATCCTTGGTCTCGGCTTG	320	58	(Rebelo <i>et al.</i> , 2018)

F : Forward ; R : Reverse ; pb : Paire de base, Th : Température d'hybridation

### 4.3 Electrophorèse sur gel d'agarose (AGE)

- **Principe**

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une technique permettant de séparer les acides nucléiques en fonction de leur taille sous l'action d'un champ électrique. Les acides nucléiques, chargés négativement, migrent alors vers l'anode à des vitesses différentes en fonction de leur poids moléculaire. Cette technique est aussi utile pour la vérification du succès des réactions de PCR en confirmant la présence des amplicons de tailles attendues (Pernodet, 1996).

- **Mode opératoire**

- Le gel d'agarose 1,5 % est préparé en utilisant le tampon Tris-Borate-EDTA (TBE)×1.

- Le mélange agarose et TBE  $\times 1$  est chauffé en utilisant un four à micro-ondes ou un agitateur magnétique à 100°C à environ 20 min afin d'obtenir un mélange homogène (limpide).
- Un volume de 0,5 $\mu$ l du gel coloré : gel stain SYBR safe (Invitrogen, Espagne) est ajouté et le gel est coulé dans la cuve.
- Une fois solidifié, le gel est immergé dans le tampon TBE $\times 1$ . Un marqueur de taille de 100 pb est ajouté au premier puits, suivi des produits PCR, y compris les contrôles positifs et négatifs, dans les puits restants.
- L'électrophorèse est réalisée à 100 V pendant 40 minutes et les produits amplifiés sont visualisés avec un transilluminateur UV (GEL Doc XR+ Gel Documentation System de BIO-RAD, USA / Thermo Fisher Scientific).

#### 4.4 Purification des produits positifs de la PCR (Gènes de carbapénèmase)

- **Principe**

La purification des produits PCR positifs pour les gènes de carbapénèmase a été effectuée afin d'éliminer les résidus indésirables tels que les amorces, les nucléotides non incorporés, les enzymes et les sels présents dans le mélange réactionnel de la PCR, ainsi que les produits de PCR non spécifiques. Cette étape permet de séparer et d'isoler spécifiquement les fragments d'ADN ciblés par la réaction de PCR. L'échantillon purifié sera ensuite prêt à être séquencé (Yusuf *et al.*, 2022).

- **Mode opératoire**

Les produits amplifiés sont purifiés à l'aide du kit de purification ExoSap (ExoSap-IT, GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA) selon le protocole de Bell (2008) comme suit :

- Un volume de 5  $\mu$ l du produit positif de la PCR (gènes de la carbapénèmase) est mélangé avec 2  $\mu$ l du réactif ExoSAP-IT™ (PCR Product Cleanup Reagent).
- Le mélange est ensuite incubé dans le thermocycleur à 37°C pendant 15 minutes. Cette étape permet d'hydrolyser les amorces excédentaires et les nucléotides non incorporés en une seule étape, tout en conservant les produits PCR avec une récupération allant jusqu'à 100%.

- Le mélange est soumis à un cycle de 15 minutes à 80°C, ce qui inhibe l'action de l'enzyme et stoppe la réaction.
- Les gènes de carbapénémase purifiés sont ensuite prêts à être séquencés.

### 4.5 Séquençage des gènes codant la carbapénémase

- **Principe**

Après l'amplification des gènes codant pour les carbapénémases, les fragments amplifiés et purifiés sont soumis à une réaction de séquençage de Sanger. Cette réaction implique une ADN polymérase, des amorces spécifiques à la séquence d'intérêt et un mélange de désoxynucléotides triphosphates (dNTP) standard (dATP, dGTP, dCTP, dTTP). En outre, des didésoxynucléotides triphosphates (ddNTP) marqués sont aussi ajoutés à la réaction afin de prévenir l'ajout d'un nucléotide supplémentaire lors de la synthèse d'une nouvelle chaîne d'ADN. Lorsque la polymérase incorpore un ddNTP dans la nouvelle chaîne en croissance, l'élongation de celle-ci est interrompue. Cela génère des fragments d'ADN de différentes longueurs, chacun se termine par un ddNTP spécifique et correspond à une position spécifique au sein de la séquence cible. La lecture de ces fragments permet de reconstruire la séquence complète de l'ADN (Crossley *et al.*, 2020; Sanger *et al.*, 1977).

- **Mode opératoire**

- Les produits PCR purifiés sont analysés au moyen de l'analyseur génétique 3500 XL d'Applied Biosystems (Crossley *et al.*, 2020).
- Les séquences d'ADN obtenues sont ensuite comparées à la base de données ARG-ANNOTATION (Antibiotic Resistance Gene-ANNOTATION Database), qui contient des séquences annotées de gènes de résistance aux carbapénèmes.
- Le programme Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) est utilisé pour la comparaison des séquences.

L'analyse *BLAST* est effectuée sur le site Web du NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

## 5 Caractérisation moléculaire des souches d'*Escherichia coli* des patients hospitalisés et des patients externes

### 5.1 Géotypage

- **Principe**

La technique du consensus intergénique répétitif entérobactérien (ERIC-PCR) est une méthode moléculaire utilisée pour le géotypage et l'analyse épidémiologique des entérobactéries. En amplifiant les régions répétitives intergéniques présentes dans le génome des entérobactéries, cette méthode génère des motifs d'empreintes génétiques uniques. Ces motifs permettent de caractériser et de comparer différentes souches bactériennes (Aung *et al.*, 2024). ERIC-PCR est avantageuse car elle analyse des séquences plus longues et ne dépend pas du ciblage d'une région spécifique du génome, offrant ainsi des informations détaillées pour une analyse comparative à travers un large éventail d'espèces bactériennes (Moosavian et Emam, 2019).

- **Mode opératoire**

Le lien clonal entre les espèces d'*Escherichia coli* provenant des patients hospitalisés et des patients externes est recherché par l'ERIC-PCR. L'amplification est réalisée pour un volume final de 25 µL du mélange réactionnel, qui est composé de 2,5 µl de tampon (10 X), 2 µl de dNTPs (à 0,2 mM), 1 U de la Taq polymérase, 1,5 µl de MgCl<sub>2</sub>, 5 µl de l'ADN matrice, et les deux amorces Eric sens et anti-sens à 10 pmol dont les séquences sont les suivantes :

F-5'CAGCCATGAACAACACTGGTGGCG3' et R-5'TGCTTTGCAGGGAAGATTCC3'. Au final, le volume total est atteint par ajout de l'eau ultra-pure. Le profil thermique utilisé pour les réactions ERIC-PCR est schématisé dans la figure 16.

Les produits d'amplification sont analysés par électrophorèse sur un gel d'agarose préparé à 1 % dans un tampon TBE x1 ; le gel est coloré au gel Syber vert. La migration est ensuite exécutée pour l'ensemble des échantillons simultanément et pendant une durée équivalente afin d'assurer la cohérence et de garantir une interprétation aisée. Chaque gel comprend un marqueur de 1 Kb (BIOLINE, USA) qui sert de repère de poids moléculaire. (Sarshar *et al.*, 2017).

Afin de regrouper les souches en fonction de leur degré de similarité, les bandes générées par ERIC-PCR sont analysées visuellement puis à l'aide du logiciel TotalLab™ (TL

120, version 2006 ; NonLinear Dynamics Ltd, Newcastle upon Tyne, UK) avec un seuil de tolérance de position de 1,5 %. Après avoir calculé le coefficient de similarité de Dice, l'analyse des clusters est réalisée avec le logiciel statistique XLstat 7.5 (AddinSoft, USA) grâce à la méthode des groupes de paires non pondérés avec des moyennes arithmétiques (UPGMA). Le pourcentage de similarité est fixé à 60 % pour permettre la séparation de groupes clonaux distincts. Le dendrogramme (arbre phylogénétique) est construit (Longhi *et al.*, 2016).

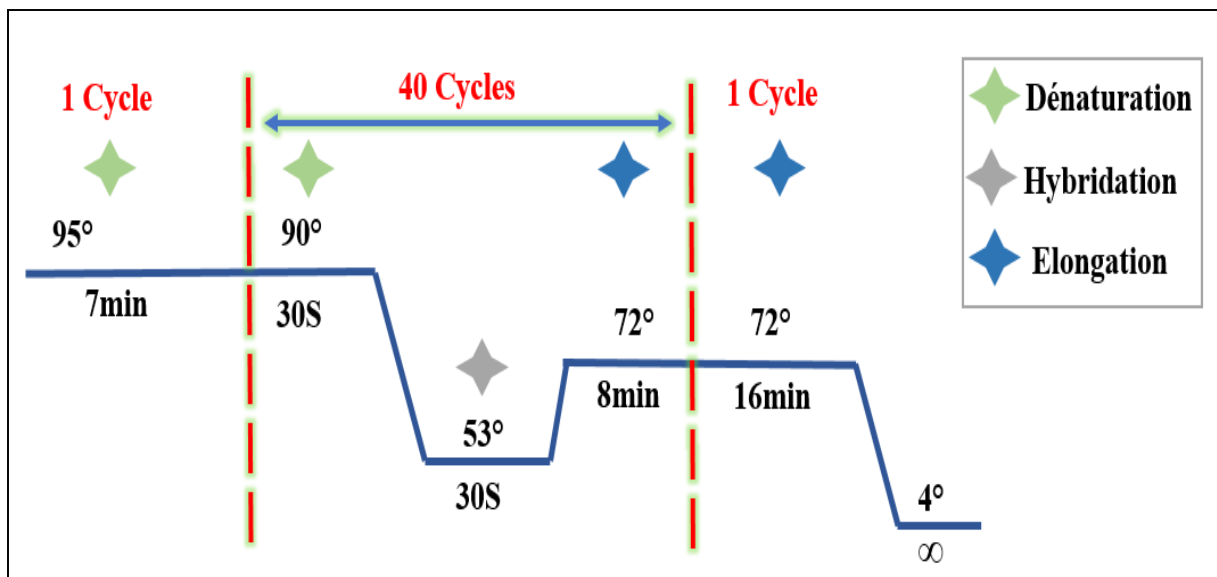


Figure 16: Schéma représentant le profil thermique de la Eric-PCR

## 5.2 Phylogroupage

- **Principe**

La méthode de phylogroupage revisitée de Clermont est une approche moléculaire utilisée pour classer les souches d'*E. coli* en différents phylogroupes (A, B1, B2, C, E, F, ou D). Les phylogroupes représentent des groupes de souches étroitement liées sur le plan évolutif (Clermont *et al.*, 2013).

- **Mode opératoire**

Quatre gènes sont ciblés par PCR quadruplex : *arpA*, *chuA*, *yjaA*, et *TspE4.C2*. Un clone interne est ajouté au mélange réactionnel avec les amorces spécifiques aux gènes cibles et amplifié simultanément avec les gènes pour s'assurer que la PCR a eu lieu de manière efficace et pour éviter la fausse absence de signal, garantissant ainsi la fiabilité des résultats. Les séquences des amorces utilisées sont indiquées dans le tableau 10.

Les produits d'amplification sont examinés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2 %. En fonction de la présence ou de l'absence des amplifications pour chaque gène, un génotype quadruplex est déterminé pour chaque isolat.

Selon le génotype quadruplex obtenu, chaque isolat est assigné à l'un des huit phylogroupes en utilisant un tableau de correspondance standard qui prend en compte les combinaisons spécifiques des résultats de PCR pour les quatre gènes (tableau 11).

Dans le cas où les génotypes obtenus peuvent correspondre à deux phylogroupes (A ou C, D ou E), une PCR supplémentaire est réalisée pour distinguer ces phylogroupes similaires. Pour trancher s'il s'agit du phylogroupe E ou D, une amorce spécifique à E est utilisée. Si E est positif, il s'agit du phylogroupe E, sinon il s'agit du phylogroupe D. Pour trancher s'il s'agit du phylogroupe C ou A, une amorce spécifique à C est utilisée. Si C est positif, il s'agit du phylogroupe C, sinon il s'agit du phylogroupe A (Clermont *et al.*, 2013; Ambrosi *et al.*, 2019).

**Tableau 10:** Liste des amorces utilisées pour le groupement phylogénétique des souches

Gène	Séquence des amorces	Produit PCR (pb)	Reference
<i>chuA</i>	F- ATGGTACCGGACGAACCAAC R- TGCCGCCAGTACCAAAGACA	288	(Clermont <i>et al.</i> , 2013)
<i>yjaA</i>	F- CAAACGTGAAGTGTCAGGAG R- AATGCGTTCCTCAACCTGTG	211	(Clermont <i>et al.</i> , 2013)
<i>TspE4.C2</i>	F-CACTATTCGTAAGGTCATCC R- AGTTTATCGCTGCGGGTTCGC	152	(Clermont <i>et al.</i> , 2013)
<i>arpA</i>	F- AACGCTATTCGCCAGCTTGC R- TCTCCCCATACCGTACGCTA	400	(Clermont <i>et al.</i> , 2013)
<b>Groupe E</b>	F- GATTCCATCTTGTCAAATATGCC R- GAAAAGAAAAGAATTCCCAAGAG	301	Lescat <i>et al.</i> , 2013)
<b>Groupe C</b>	F- AGTTTTATGCCAGTGCGAG R- TCTGCGCCGGTCACGCC	219	Lescat <i>et al.</i> , 2013)
<b>Clone interne</b>	F- CGGCGATAAAGACATCTTCAC R- GCAACGCGGCCTGGCGGAAG	489	(Clermont <i>et al.</i> , 2008)

**Tableau 11:** Génotypes quadruplex pour le classement des *E. coli* en phylogroupes

Phylogroupes	Génotypes quadruplex			
	<i>arpA</i> (400bp)	<i>chuA</i> (288bp)	<i>yjaA</i> (211bp)	<i>TspE4.C2</i> (152pb)
<b>A</b>	+	-	-	-
<b>B1</b>	+	-	-	+
<b>B2</b>	-	+	+	-
<b>B2</b>	-	+	+	+
<b>B2</b>	-	+	-	+
<b>F</b>	-	+	-	-
<b>A ou C *</b>	+	-	+	-
<b>D ou E **</b>	+	+	-	-
<b>D ou E***</b>	+	+	-	+

(-) Absence/non détectée, (+) présence/détectée, \* : nécessité d'une PCR supplémentaire utilisant des amorces spécifiques C, \*\* : nécessité d'une PCR supplémentaire utilisant des amorces spécifiques E.

### 5.3 Gènes de virulence

- **Principe**

L'identification des gènes de virulence chez les souches d'*E. coli* est réalisée par PCR standard. Les gènes de virulence sont des éléments génétiques qui jouent un rôle essentiel dans la pathogénicité des bactéries. Quatre catégories fonctionnelles de gènes sont ciblées : les adhésines, qui facilitent l'attachement des bactéries aux cellules hôtes ; les toxines, qui peuvent endommager les cellules hôtes ; les systèmes d'acquisition de fer essentiels à la croissance bactérienne ; et les protectines, qui contribuent à la survie des bactéries dans l'hôte (Sora *et al.*, 2021).

- **Mode opératoire**

Une série de gènes de virulence a été ciblée via une PCR standard en utilisant des contrôles positifs appropriés. Ces gènes appartiennent aux quatre catégories fonctionnelles suivantes : adhésines (*papC* pour la sous-unité majeure des fimbriae P, *papG* pour l'adhésine des fimbriae P, *yadN* pour la protéine de membrane externe, et *papAH* pour la protéine d'assemblage des fimbriae P) ; toxines (*traT* pour la protéine de transfert T, *hlyA* pour l'hémolysine A, *malX* pour le régulateur MalX, *cnf1* pour le facteur cytotoxique nécrosant) ; sidérophores (*feoB* pour la protéine de transport du fer ferreux B, *fyuA* pour le récepteur de la yersiniabactine ferrique, *chuA* pour le récepteur à l'hémine, et *irp2* pour la protéine répressive

du fer 2) ; et protectines (*kpsMT II* pour la protéine de membrane interne de l'exportation du polysaccharide capsulaire, et *ompT* pour la protéase de membrane externe T). L'isolat uropathogène CFT073 et les souches B10P, 12P et H20P, isolées à partir d'adénome colique, sont utilisés comme témoins positifs (Ambrosi *et al.*, 2019; Sarshar *et al.*, 2022). Chaque isolat s'est vu attribuer un score de facteur de virulence (VF) (Ambrosi *et al.*, 2019). Les séquences des amorces utilisées de même que les souches control sont représentées dans le tableau 12.

La PCR est effectuée dans un volume final de 16 µL par réaction, comprenant 7,5 µL de master mix (Thermo Fisher Scientific, Lituanie, Europe), 0,2 µL de chaque amorce (sens et antisens), 6,1 µL d'eau sans nucléase (Nuclease Free Water), et 2 µL d'ADN.

Le profil thermique utilisé pour les réactions PCR comprend une dénaturation initiale à 95°C pendant 10 minutes, suivie d'une dénaturation secondaire à 95°C pendant 30 secondes. Cette étape est suivie d'une hybridation pendant 30 secondes à une température spécifique à chaque gène, comme indiqué dans le tableau 12. L'étape suivante est une élongation initiale à 72°C pendant 1 minute, suivie d'une extension finale à 72°C pendant 10 minutes. Les produits de PCR sont ensuite révélés sur un gel d'agarose à 2% et visualisés sous un illuminateur UV.

Tableau 12: Liste des amorces utilisés pour rechercher les gènes de virulences

Catégorie fonctionnelle	Gène cible	Nom de l'amorce	sequence d'amorce (5'-3')	Taille de l'amplicon	TH	Reference
Système d'acquisition de fer	<i>irp2</i>	irp2 FW	(F) AAGGATTCGCTGTTACCGGAC	413	63	(Paniagua-Contreras <i>et al.</i> , 2017)
		irp2 RV	(R) AACTCCTGATACAGGTGGC			
	<i>chuA</i>	chuA FW	F) AGCGTGTGAGATTGTTCGC	124	63	(Alteri et Mobley, 2007)
		chuA RV	(R) AAACCACTGCTTTGTCCTTCCTGC			
	<i>feoB</i>	feoB FW	(F) GCACTCTTTGTGCATGGTATTC	111	59	(Li <i>et al.</i> , 2016)
		feoB RV	(R) TGGCAGCACGGTGTTAAT			
	<i>fyuA</i>	fyuA FW	(F) ATGCCTATGTGGGATGGAATG	128	57	(Li <i>et al.</i> , 2016)
		fyuA RV	(R) CCAGTCATCGGTGGTGTATTT			
Adhesion	<i>papG (allele II)</i>	papG FW	(F) GGGATGAGCGGGCCTTTGAT	190	57	(Paniagua-Contreras <i>et al.</i> , 2017)
		papG RV	(R) CGGGCCCCAAGTAACTCG			
	<i>papAH</i>	PapA f	(F) ATGGCAGTGGTGTCTTTTGGTG	720	61	(Ambrosi <i>et al.</i> , 2019)
		PapA r	(R) CGTCCCACCATACGTGCTCTTC			
	<i>papC</i>	PapC f	(F) GTGGCAGTATGAGTAATGACCGTTA	203	59	(Ambrosi <i>et al.</i> , 2019)
		PapC r	(R) ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA			
	<i>yadN</i>	yadN FW	(F) CCACTGTTAATGGCGGTGTA	125	55	(Li <i>et al.</i> , 2016)
		yadN RV	(R) TTTAGCCAGGCGAGAAGAAC			
Protectines	<i>kpsMT II</i>	kps f	(F) GCGCATTTGCTGATACTGTTG	272	58	(Ambrosi <i>et al.</i> , 2019)
		kps r	(R) CATCCAGACGATAAGCATGAGCA			
	<i>ompT</i>	ompT FW	(F) ATCTAGCCGAAGAAGGAGGC	559	57	(Paniagua-Contreras <i>et al.</i> , 2017)
		ompT RV	(R) CCCGGGTCATAGTGTTTCATC			
Toxines	<i>hlyA</i>	hly f	(F) AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT	1177	58	(Ambrosi <i>et al.</i> , 2019)
		hly r	(R) ACCATATAAGCGGTTCATTCCCCTCA			
	<i>cnf1</i>	cnf1	(F) AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG	498	58	(Ambrosi <i>et al.</i> , 2019)
		cnf2	(R) CATTTCAGAGTCCTGCCCTCATTATT			
	<i>traT</i>	TraT f	(F) GGTGTGGTGCGATGAGCACAG	290	58	(Ambrosi <i>et al.</i> , 2019)
		TraT r	(R) CACGGTTCAGCCATCCCTGAG			
<i>malX</i>	RPAi f	(F) GGACATCCTGTTACAGCGCGCA	930	58	(Ambrosi <i>et al.</i> , 2019)	
		RPAi r	(R) TCGCCACCAATCACAGCCGAAC			

TH : Température d'hybridation

### 6 Analyse statistique

Le test du khi-carré de Pearson ( $\chi^2$ ) et le test exact de Fisher ont été utilisés pour la comparaison des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération.

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel IBM SPSS Statistics, version 23.0 (IBM Corporation, Cary, NC, USA). Une valeur  $p \leq 0,05$  a été considérée comme statistiquement significative.

# *Chapitre III : Résultats*

## 1 Caractéristiques des entérobactéries résistantes aux C3G

Nous avons recueilli un total de 82 souches d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (E-RC3G). Parmi celles-ci, *Escherichia coli* représente l'espèce prédominante (n=47, 57,32 %), suivie par *Klebsiella pneumoniae* (n=28, 34,15 %) et *Enterobacter cloacae* (n=4, 4,88%). De plus, une seule souche de *Proteus mirabilis*, de *Serratia marcescens* et de *Salmonella sp.* ont été isolées (Figure 17).

Les profils biochimiques des espèces *E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae* obtenus avec le système Vitek2 compact sont présentés respectivement dans l'annexe 2.

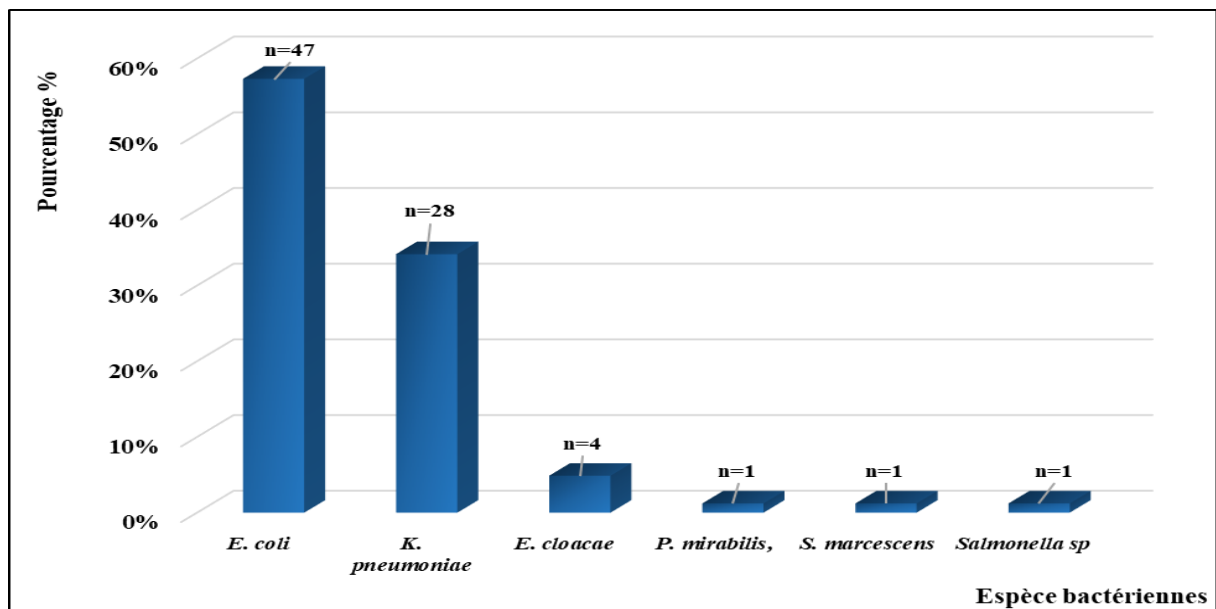


Figure 17: Répartition des espèces d'E-RC3G en fonction des résultats de l'identification

### 1.1 Répartition des espèces d'E-RC3G selon l'origine des prélèvements

Parmi les entérobactéries isolées durant la période de collecte à l'hôpital, la prévalence de celles résistantes aux C3G est de 23,87 %. Cependant, les données relatives à la prévalence de ces souches dans les laboratoires privés ne sont pas disponibles. Au total, 37 souches (45,12 %) sont isolées au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Abderrezek Bouhara. De plus, 45 souches (54,88 %) sont collectées à partir des laboratoires privés. La répartition des E-RC3G en fonction de leur origine est représentée dans la figure 18.

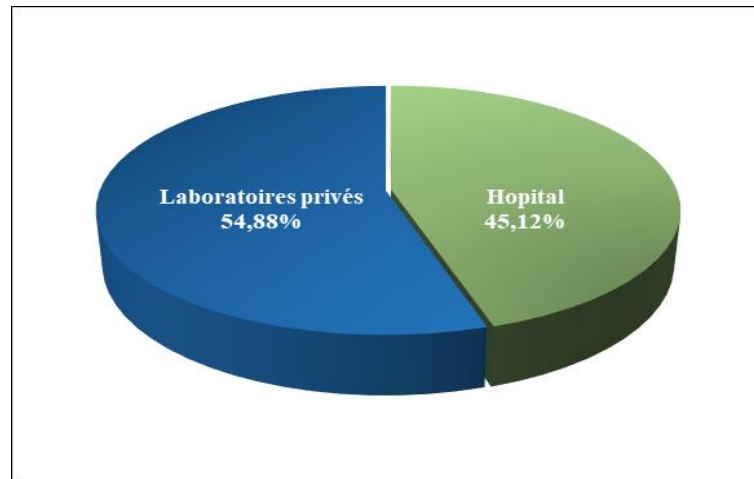


Figure 18: Répartition des E-RC3G en fonction du site de collecte

Les souches d'*E.coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae* sont réparties de manière relativement équitable entre l'hôpital et les laboratoires privés. Cependant toutes les autres espèces sont isolées exclusivement des laboratoires privés (Figure 19).

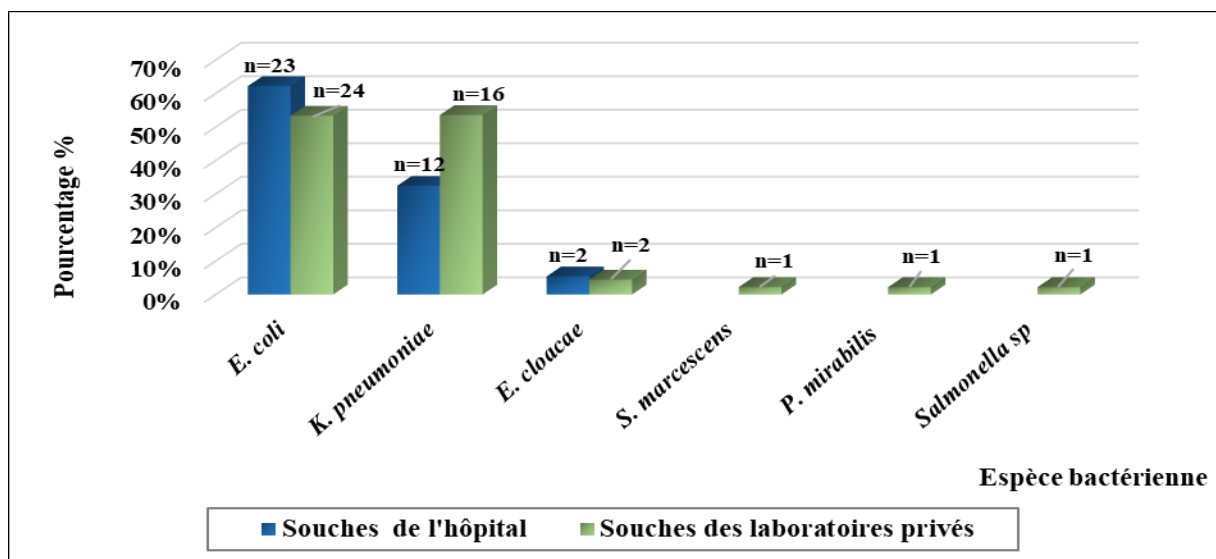


Figure 19: Répartition des espèces en fonction de leur origine (Hôpital ou laboratoires privés)

## 1.2 Répartition des isolats selon la nature de prélèvement

La plupart des isolats (67 %) proviennent des prélèvements d'urine, (*E. coli* : 61 % ; *K. pneumoniae* : 34,55%, en plus d'une seule souche d'*E. cloacae* et de *S. marcescens*). Les patients de sexe féminin sont les plus touchés par les infections urinaires, représentant 60% des isolats urinaires ( $p = 0,183$ ). Les prélèvements de pus représentent 28 % des souches (*E. coli* : 52,17%, *K. pneumoniae* : 30,43%, *E. cloacae* : 13,04% et une souche de *P. mirabilis*). Parmi celles-ci, quatre souches (17 %) sont issues du pus des pieds diabétiques. Une seule espèce est identifiée dans

chacun des quatre spécimens suivants : selles (*Salmonella sp.*), sang (*E. coli*), liquide céphalo-rachidien (*K. pneumoniae*) et prélèvement de surface de cathéter (*K. pneumoniae*). La répartition générale des principales espèces identifiées en fonction de la nature des prélèvements, est illustrée dans la figure 20.

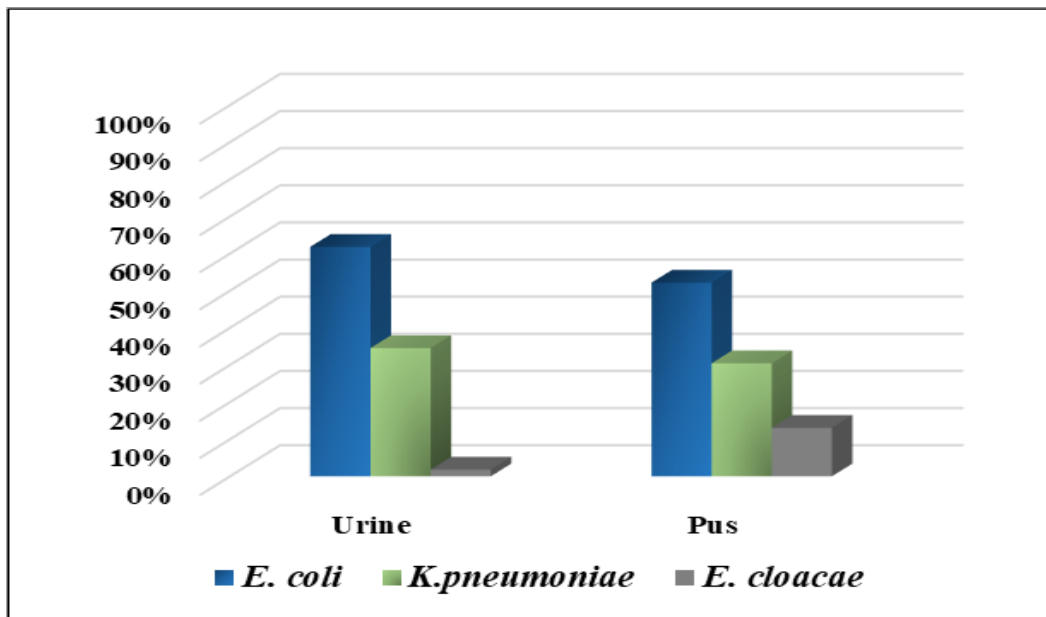


Figure 20: Répartition des principales espèces en fonction de la nature du prélèvement

### 1.3 Répartition des isolats en fonction du sexe des patients

Les souches d'E-RC3G sont presque équitablement réparties entre les patients de sexe masculin et ceux de sexe féminin, avec une légère prédominance des patients de sexe féminin (55%) par rapport au sexe masculin (45%) (Figure 21).

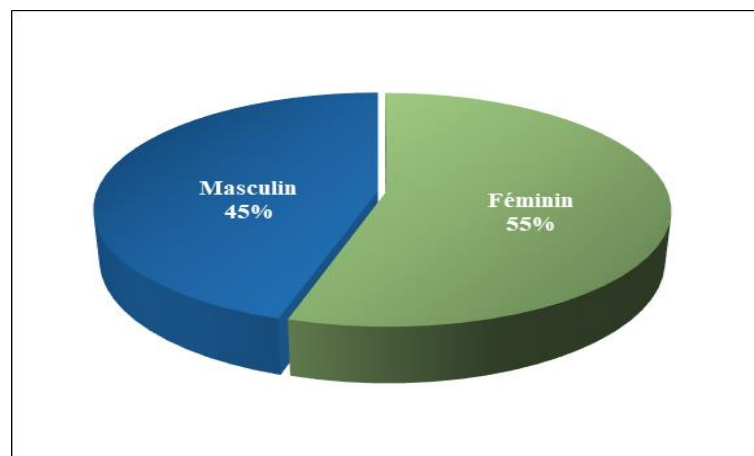


Figure 21: Répartition des isolats en fonction du sexe des patients

#### 1.4 Répartition des isolats selon l'âge des patients

Toutes les tranches d'âge sont concernées par les infections à E-RC3G, et ceci est le cas qu'il s'agisse de patients hospitalisés ou de patients externes, la fourchette extrême s'étend de quelques jours à 93 ans.

Les personnes âgées de 50 ans à 80 ans étaient les plus affectées (n=37 ; 45,12%), suivies par celles âgées entre 20 et 50 ans (n=22 ; 26,93%). Le nombre le plus faible (n=6 ; 7,32%) concerne les enfants de moins d'un an jusqu'à trois ans (Figure 22).

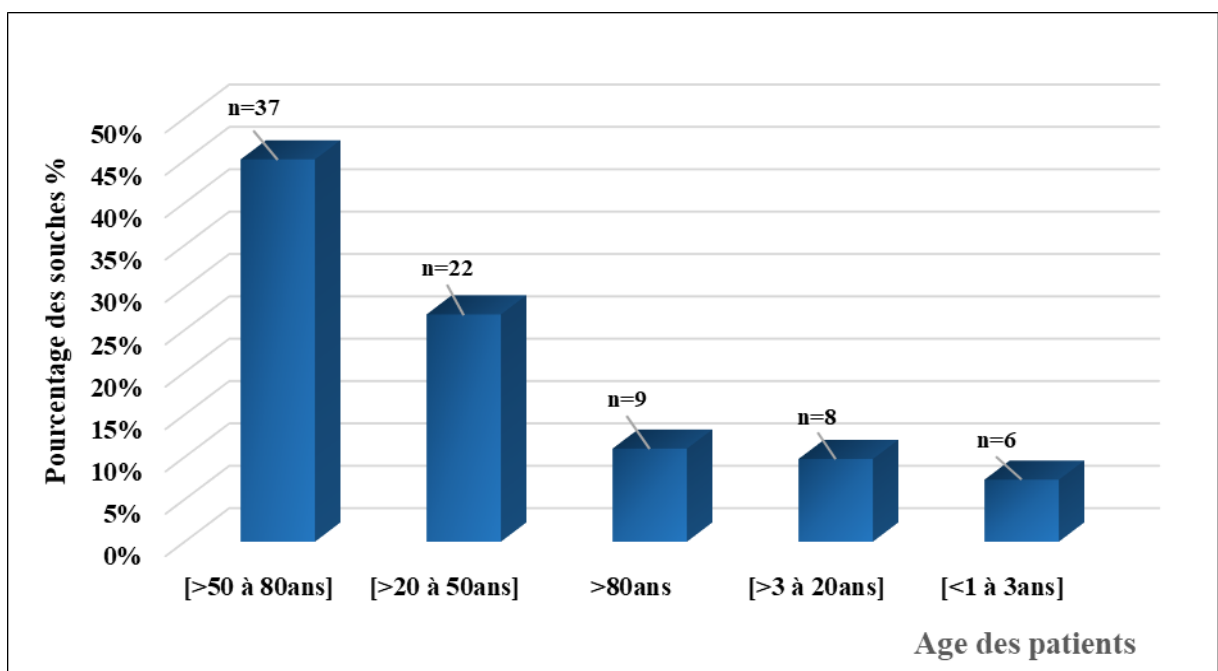
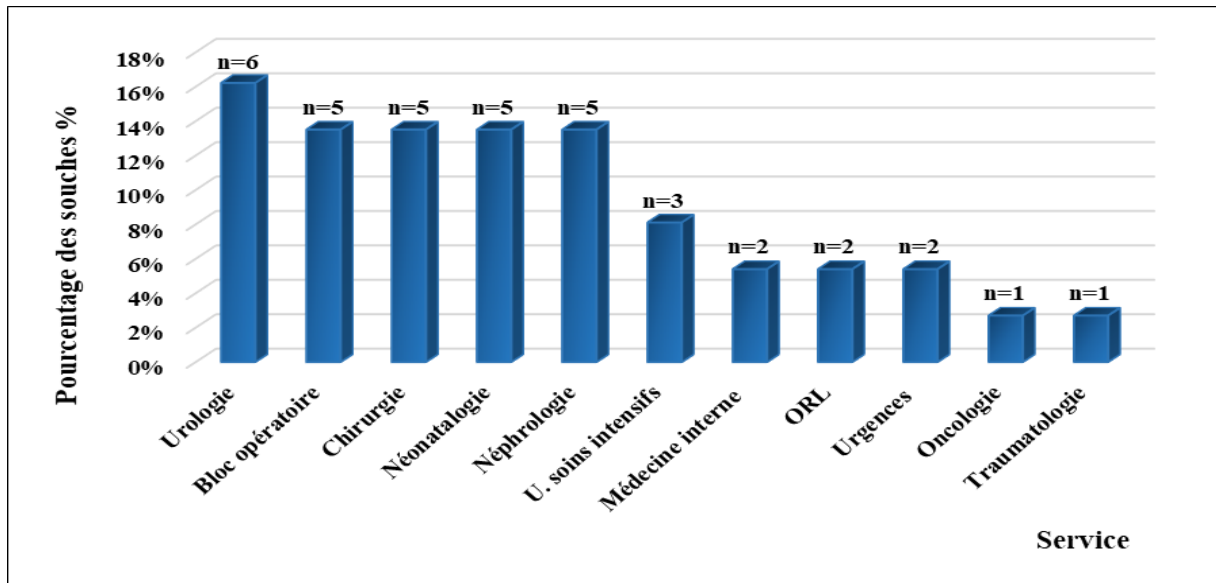


Figure 22: Répartition des E-RC3G en fonction de l'âge des patients

#### 1.5 Répartition des souches des patients hospitalisés en fonction des services d'admission

La prévalence la plus élevée des souches d'E-RC3G est observée dans les services d'urologie (n=6 ; 16,22 %), de néphrologie (n=5 ; 13,51 %), de chirurgie (n=5 ; 13,51 %), de néonatalogie (n=5 ; 13,51 %) et du bloc opératoire (n=5 ; 13,51 %). En revanche, les services les moins incriminés sont l'oncologie et la traumatologie (n=2 ; 2,70 % pour chacun). Les résultats de la répartition des souches isolées selon le service sont présentés dans la figure 23.



**Figure 23:** Répartition des infections à E-RC3G dans les différents services de l'hôpital

## 2 Evaluation de la résistance des E-RC3G aux antibiotiques

Les entérobactéries E-RC3G provenant de l'hôpital et des laboratoires privés sont toutes confirmées résistantes au céfotaxime ( $\text{CMI} \geq 64$ ), et environ 82 % sont également résistantes au ceftazidime ( $\text{CMI} \geq 64$ ), sans différence statistiquement significative entre les deux groupes ( $p=0,852$ ). De plus, toutes les souches sont résistantes à la céfazoline ( $\text{CMI} \geq 64$ ), et plus de 40 % des isolats présentent une résistance à la céfoxitine ( $\text{CMI} \geq 64$ ), également sans différence notable ( $p=0,722$ ).

Pour les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase associés aux pénicillines, un pourcentage élevé des souches provenant de l'hôpital (65 %) et des laboratoires privés (67 %) sont résistantes à l'acide clavulanique ( $\text{CMI} \geq 32$ ), sans différence significative ( $p=0,864$ ). De même, le tazobactam s'est avéré actif sur 40 % des isolats des deux sources ( $\text{CMI} \geq 128$ ,  $p=0,892$ ).

Parmi les  $\beta$ -lactamines testées, les carbapénèmes restent les plus efficaces. La résistance à l'ertapénème est faible (17 % des souches hospitalières contre 13 % des souches des laboratoires privés ;  $p=0,467$ ). En revanche, la résistance à l'imipénème est plus élevée parmi les souches des laboratoires privés (22 %) par rapport aux souches hospitalières (6 %), mais cette différence n'est pas significative ( $p=0,713$ ).

Les taux de résistance élevés pour la ciprofloxacine (67 % des souches de l'hôpital contre 64 % des souches des laboratoires privés CMI  $\geq 4$ ,  $p=0,931$ ) et le triméthoprime-sulfaméthoxazole (70 % contre 82 %, CMI  $\geq 320$ ,  $p=0,217$ ) ne montrent pas de différences statistiquement significatives entre les groupes. Toutefois, la gentamicine révèle une différence significative, les souches des laboratoires privés ayant un taux de résistance deux fois supérieur à celui des souches hospitalières (60 % contre 30 %,  $p=0,006$ ) (Annexe 6-a).

Un pourcentage élevé des E-RC3G (69,51%) sont multirésistantes. Parmi elles, 22 souches (59,46 %) proviennent de l'hôpital, et 35 souches (77,78 %) proviennent des laboratoires privés, présentant une résistance à au moins trois classes d'antibiotiques.

Outre les carbapénèmes, la colistine, l'amikacine, le chloramphénicol, la fosfomycine et la nitrofurantoïne sont les antibiotiques les plus actifs sur le plus grand nombre de souches, qu'elles proviennent de l'hôpital ou des laboratoires privés ( $p>0,05$ ). La figure 24 illustre le profil de résistance des E-RC3G provenant de l'hôpital et des laboratoires privés aux différents antibiotiques testés.

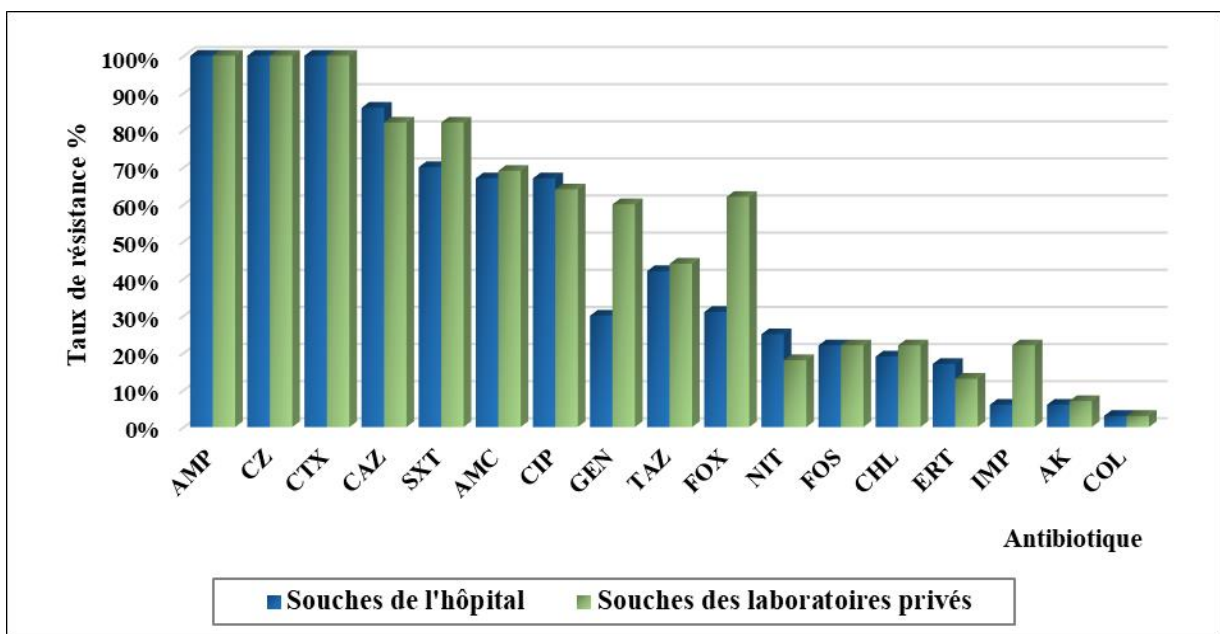


Figure 24: Profil de résistances aux antibiotiques des E-RC3G

AK : Amikacine ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; AMP : Ampicilline ; CAZ : Céfotaxime ; CHL : Chloramphénicol ; CIP : Ciprofloxacine ; COL : Colistine ; CTX : Céfotaxime ; ERT : Ertapénème ; FOS : Fosfomycine ; FOX : Céfoxitine ; GEN : Gentamicine ; IMP : Imipénème ; NIT : Nitrofurantoïne ; SXT : Triméthoprime-Sulfaméthoxazole ; TAZ : Pipéracilline + Tazobactam.

2.1 Répartition de la résistance aux antibiotiques des espèces d' E-RC3G prédominantes

Le profil de résistance des deux espèces prédominantes *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* (Figure 25) montre que les souches de *K. pneumoniae* présentent des taux de résistance supérieurs à de nombreux antibiotiques testés par rapport à *E. coli*, y compris l'imipenème (10,71 % contre 6,38 % pour *E. coli* ;  $p=0,015$ ), l'ertapénem (32,14 % contre 12,77 % ;  $p= 0,042$ ), la céfoxitine (42,86 % contre 34,04 % ;  $p=0,445$ ), la céftazidime (96,43 % contre 74,47 % ;  $p= 0,024$ ), la gentamicine (57,14 % contre 34,04 % ;  $p= 0,050$ ), et la nitrofurantoïne (53,57 % contre 4,26 % ;  $p<0,001$ ). En revanche, *E. coli* se distingue par sa sensibilité totale à la colistine et à l'amikacine, alors que 10,71 % et 14,29 % des souches de *K. pneumoniae* sont résistantes à ces deux agents ( $p=0,017$ ).

Concernant les autres antibiotiques, des différences significatives sont observées en faveur d'*E. coli* pour la résistance à la fosfomycine (95,47 % contre 7,14 % pour *K. pneumoniae* ;  $p<0,001$ ) et à la ciprofloxacine (76,60 % contre 53,57 % ;  $p=0,039$ ). En revanche, aucune différence statistiquement significative n'a été observée pour le chloramphénicol (36,17 % contre 10,71 % ;  $p=0,522$ ) ni pour la pipéracilline-tazobactam (40,43 % contre 17,86 % ;  $p=0,113$ ). Les deux espèces présentent des taux de résistance proches au triméthoprime-sulfaméthoxazole (78,57 % et 76,60 % ;  $p=0,379$ ) et à l'amoxicilline acide clavulanique (67,86 % et 61,70 % ;  $p=0,591$ ). (Annexe 6 o-v)

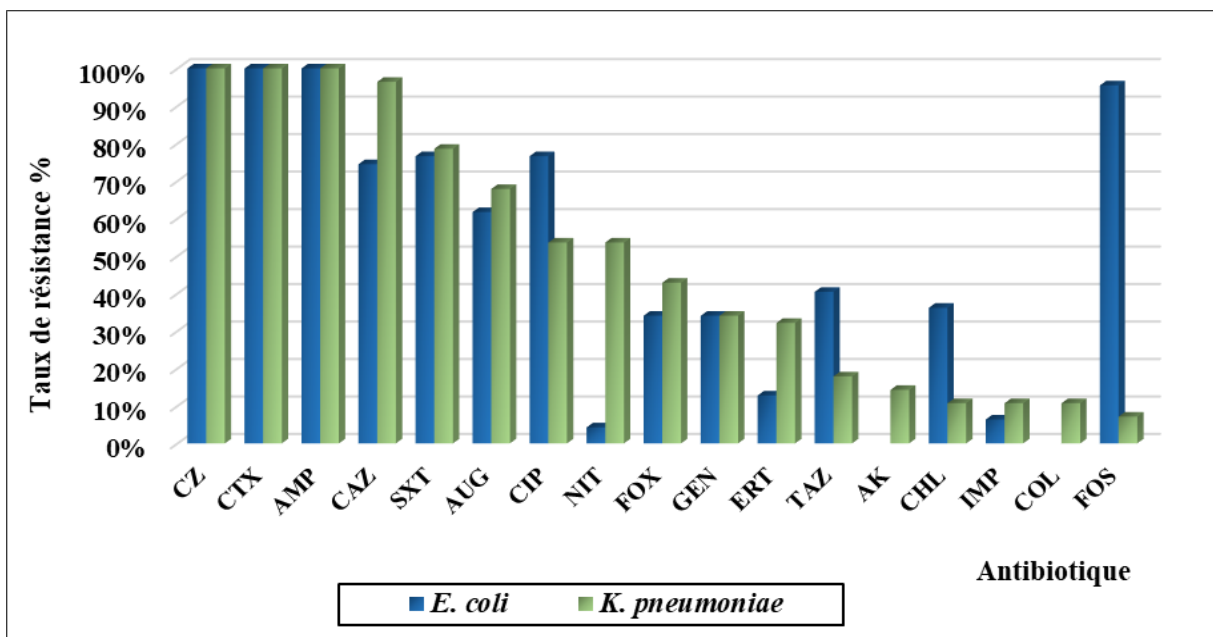


Figure 25: Profil de résistance aux antibiotiques des espèces *E. coli* et *K. pneumoniae*

AK : Amikacine ; AUG/AMC : Augmentin/Amoxicilline + acide clavulanique ; AMP : Ampicilline ; CAZ : Céftazidime ; CHL : Chloramphénicol ; CIP : Ciprofloxacine ; COL : Colistine ; CTX :

Céfotaxime ; CZ : Céfazoline ; ERT : Ertapénème ; FOS : Fosfomycine ; FOX : Céfoxitine ; GEN : Gentamicine ; IMP : Imipénème ; NIT : Nitrofurantoïne ; SXT : Triméthoprim-Sulfaméthoxazole ; TAZ : Pipéracilline + Tazobactam.

### 3 Caractérisation de la résistance aux $\beta$ -lactamines

#### 3.1 $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE)

##### 3.1.1 Tests phénotypiques

Au total, 71 souches (87 %) sont productrices de BLSE. Parmi celles-ci, 60 souches (73 %) ont montré une image de synergie ou bouchon de Champagne entre l'acide clavulanique et l'une des céphalosporines (céfotaxime, ceftazidime ou céfépime) ou le monobactame (aztréonam). De plus, 11 souches ont été confirmées comme productrices de BLSE par le test des disques combinés, où le diamètre du halo autour du disque de céfotaxime combiné à l'acide clavulanique s'est révélé supérieur à celui du disque de céfotaxime seul. Les résultats des deux tests positifs sont présentés dans les figures 26 et 27.

Parmi les 71 souches productrices de BLSE, 31 (44 %) sont issues des patients hospitalisés (18 *E. coli*, 12 *K. pneumoniae* et 01 *E. cloacae*) et 40 (56 %) des patients externes (22 *E. coli*, 14 *K. pneumoniae*, 02 *E. cloacae*, 01 *P. mirabilis* et 01 *Salmonella sp.*).

Les 11 souches non productrices de BLSE, comprenant 6 de l'hôpital (5 *E. coli* et 1 *E. cloacae*) et 5 des laboratoires privés (2 *E. coli*, 2 *K. pneumoniae*, et 1 *S. marcescens*), sont toutes résistantes à la céfoxitine, ce qui suggère une possible hyperproduction d'AmpC. Parmi celles-ci, 6 présentent également une résistance à l'ertapénème, suggérant une potentielle production de carbapénémase.

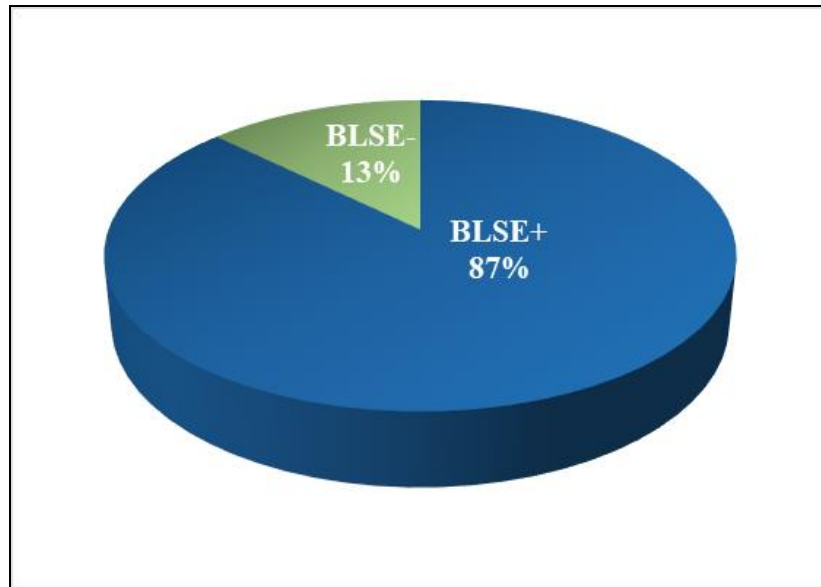


Figure 26: Résultats des tests phénotypiques de la production de BLSE

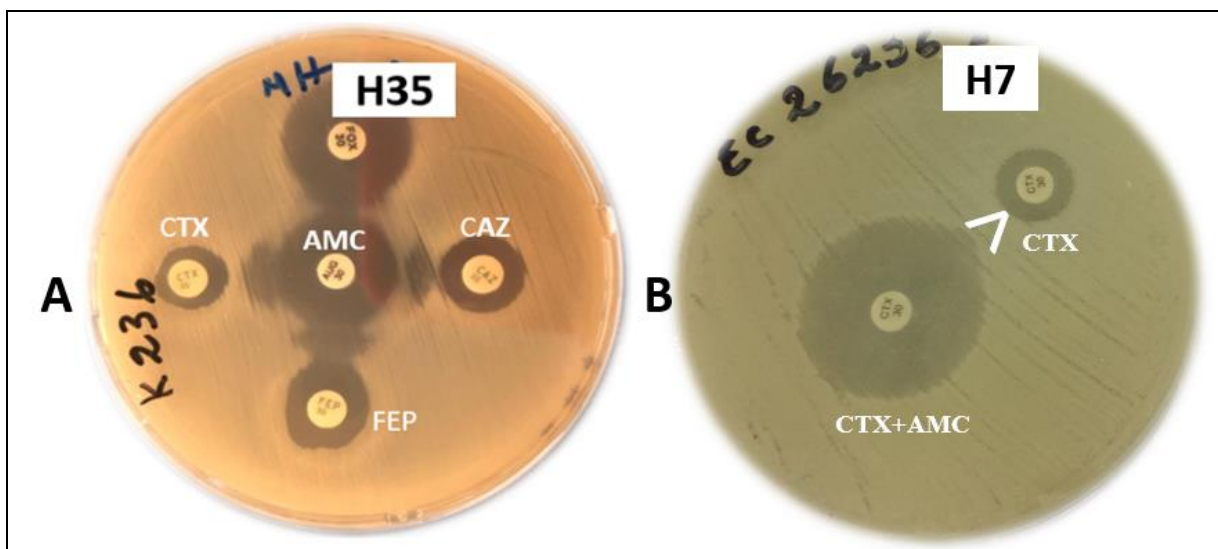
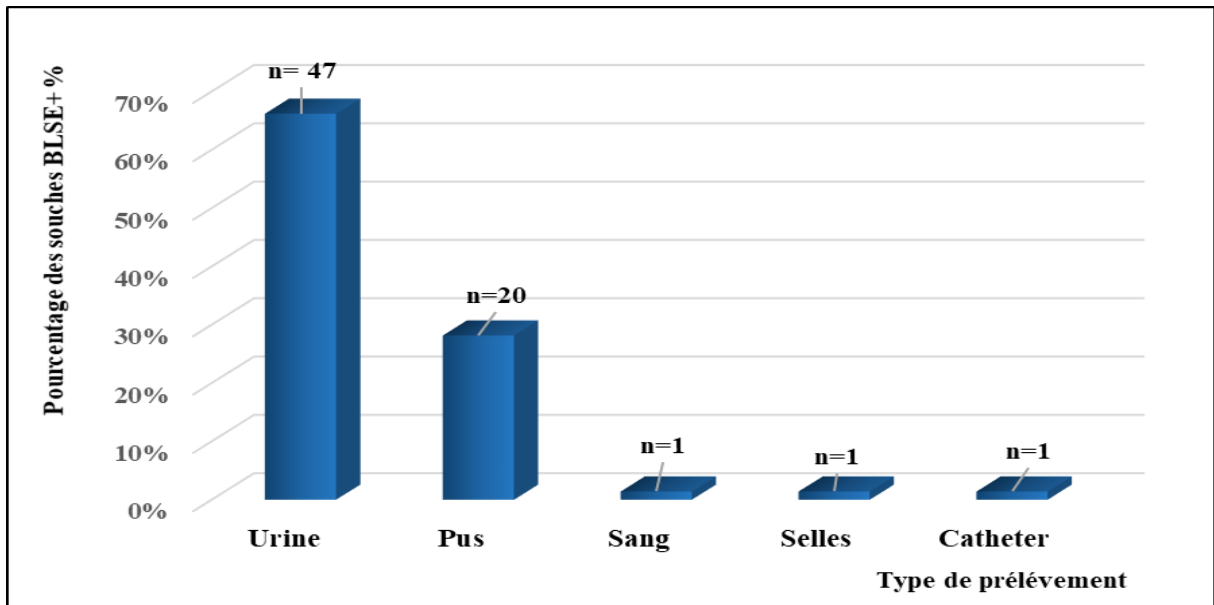


Figure 27: Test BLSE positif : A) Test de synergie ; B) Test des disques combinés

AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique ; CAZ : Céftazidime ; CTX : Céfotaxime ; FEP : Céfépime.

### 3.1.2 Répartition des souches productrices de BLSE en fonction des types de prélèvements

La majorité des souches BLSE+ ont été isolées à partir d'échantillons d'urines (70 %, n=47), suivies des prélèvements de pus (30 %, n=20). Les souches provenant du sang, des selles et des cathéters représentent chacune une proportion marginale, avec une seule souche identifiée pour chaque type (1,41 %, n=1). (Figure 28)



**Figure 28:** Répartition des souches BLSE+ en fonction des types de prélèvements

### 3.1.3 Sensibilité aux antibiotiques des souches BLSE et des non BLSE

Les souches non productrices de BLSE (BLSE-) présentent une résistance totale à l'acide clavulanique (100 %) et, dans leur majorité (80 %), au tazobactam. En revanche, parmi les souches productrices de BLSE, 40 % sont sensibles à l'acide clavulanique ( $p=0,013$ ) (Annexe 6-b) et 60 % au tazobactam ( $p=0,058$ ) (Annexe 6-c), révélant des différences statistiquement significatives par rapport aux souches BLSE-.

Concernant les autres antibiotiques, 80 % des souches BLSE+ sont résistantes au triméthoprim-sulfaméthoxazole ( $p=0,124$ ), 66 % à la ciprofloxacine ( $p>0,9$ ), et 49 % à la gentamicine ( $p=0,173$ ) sans différences significatives par rapport aux souches BLSE-. En revanche, Cependant, une différence statistiquement significative est observée entre les souches productrices et non productrices de BLSE concernant le taux de résistance à la céfoxitine ( $p<0,001$ ) (Annexe 6-d) et à l'ertapénem ( $p=0,008$ ) (Annexe 6-e). Enfin, les souches BLSE+ présentent une résistance plus faible à l'amikacine (7 %,  $p>0,9$ ) par rapport aux souches non productrices de BLSE, qui sont toutes sensibles.

Par ailleurs, environ 69 % des souches productrices de BLSE sont multirésistantes. Les taux de résistance aux antibiotiques des souches productrices et non productrices de BLSE sont illustrés dans la figure 29.

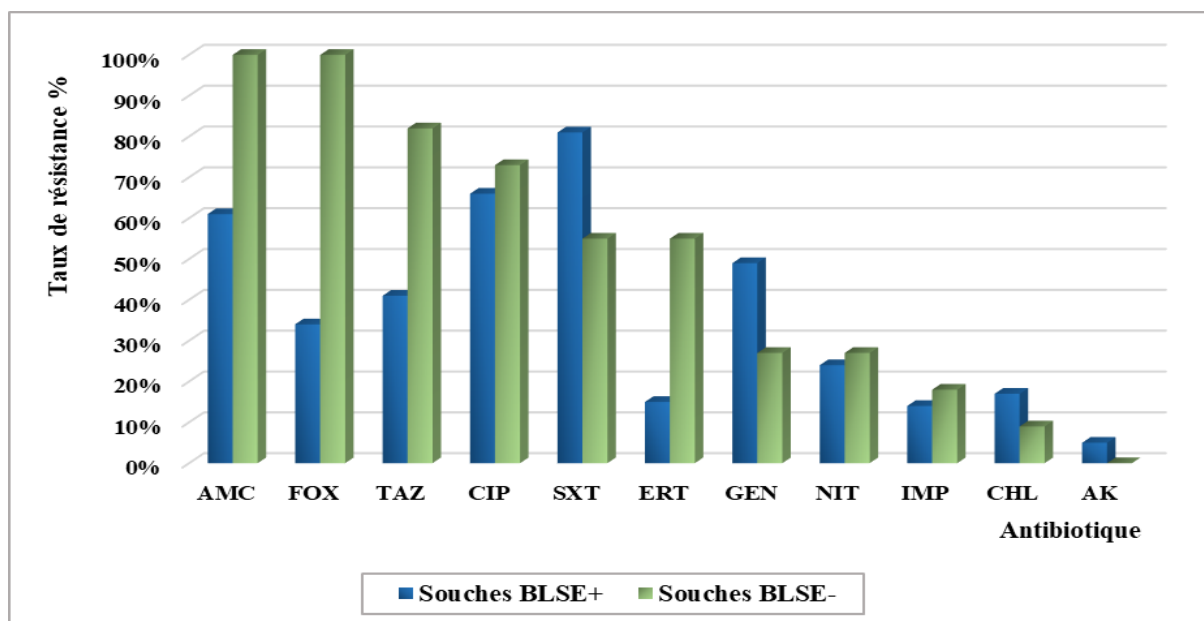


Figure 29: Profil de résistance aux antibiotiques des souches BLSE et des non BLSE

AK : Amikacine ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; CHL : Chloramphénicol ; CIP : Ciprofloxacine ; ERT : Ertapénème ; FOX : Céfoxitine ; GEN : Gentamicine ; IMP : Imipénème ; NIT : Nitrofurantoïne ; SXT : Triméthoprime-Sulfaméthoxazole ; TAZ : Pipéracilline + tazobactam.

### 3.1.4 Analyse moléculaire

Parmi les trois gènes recherchés codant pour la BLSE (*blaCTX-M*, *blaSHV* et *blaTEM*), le *blaCTXM* est le plus répandu, présent chez 70 souches, soit environ 85,37 % des isolats d'E-RC3G. Le gène *blaTEM* vient en deuxième position, détecté chez 57 souches (69,51%), tandis que le gène *blaSHV* est le moins fréquent, identifié chez 29 souches (35,37%) (Figure 30). Les profils électrophorétiques des gènes *blaCTXM*, *blaTEM*, et *blaSHV* sont présentés dans les figures 31, 32 et 33, respectivement.

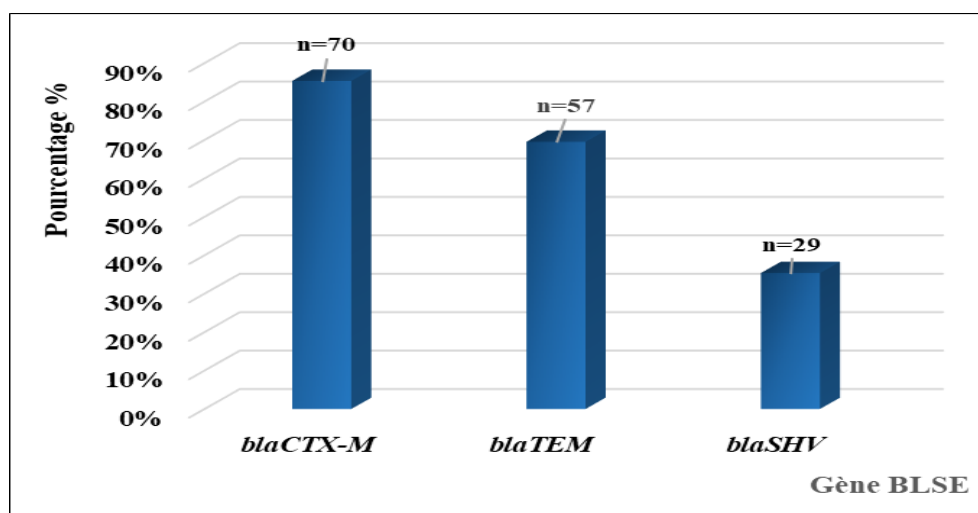
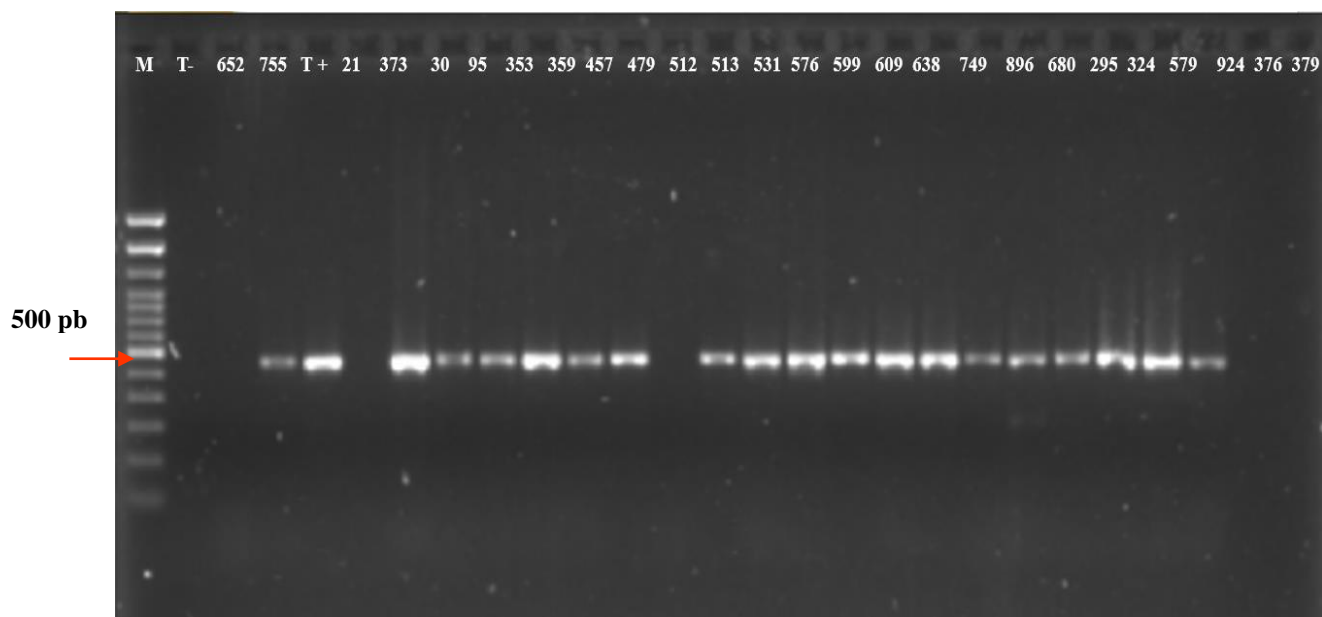
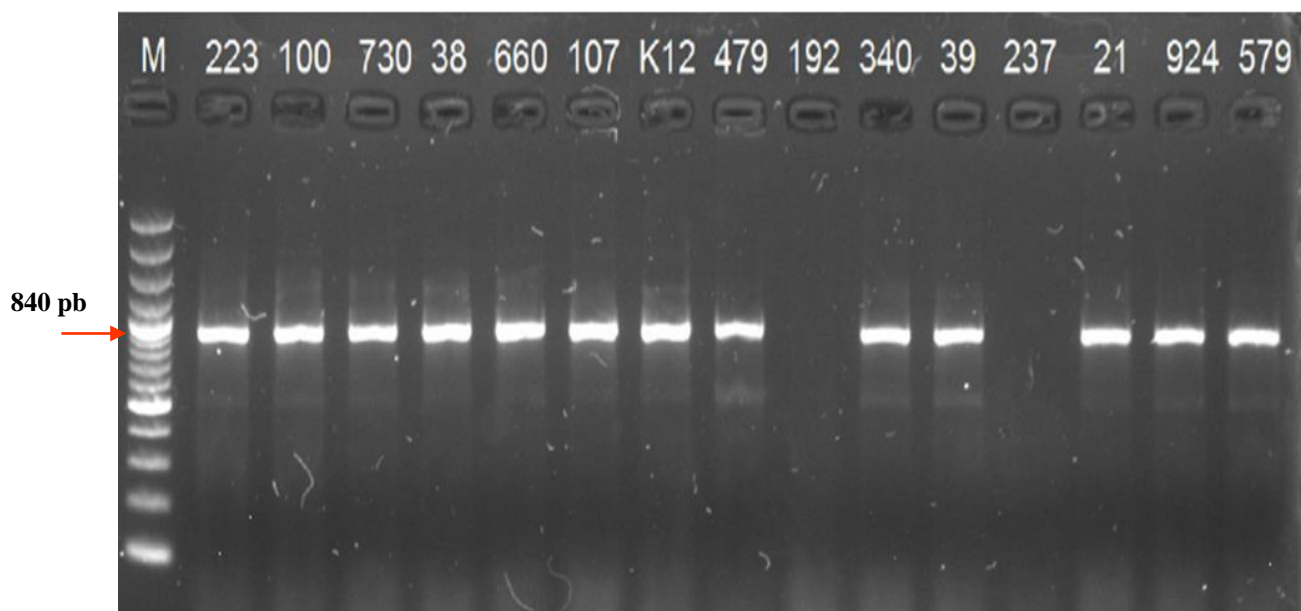


Figure 30: Fréquence des gènes BLSE chez les isolats E-RC3G



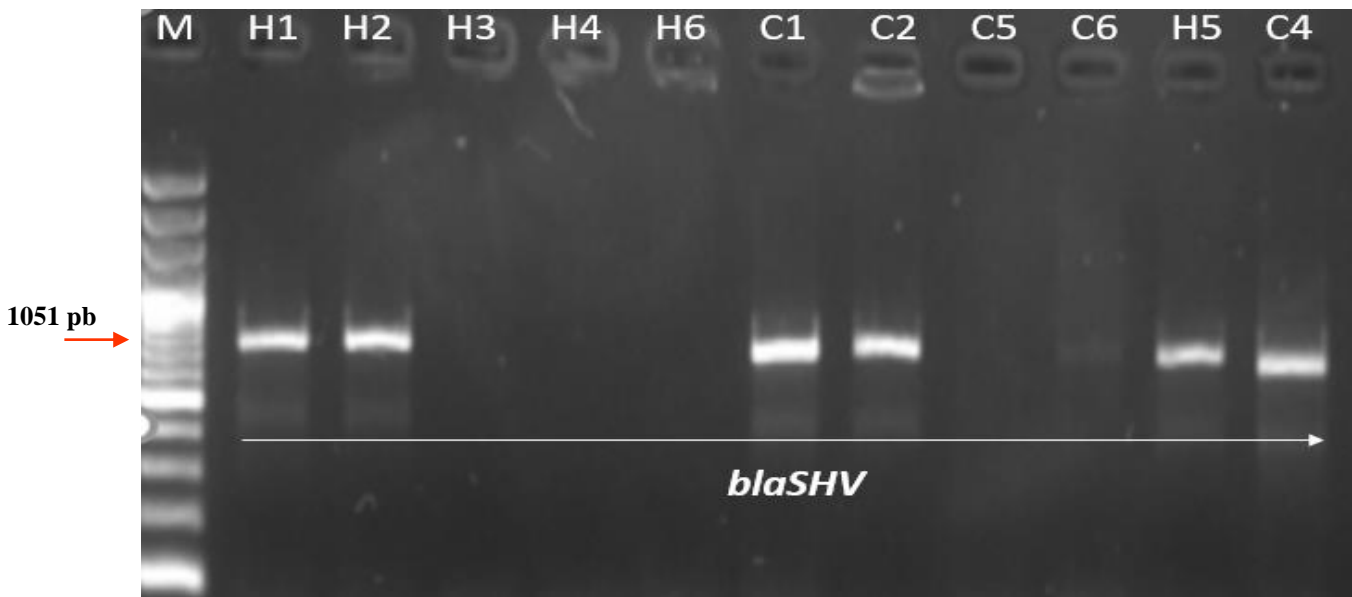
**Figure 31:** Profil électrophorétique de l'amplification du gène *blaCTX-M*

**M :** Marqueur de taille de 100 pb, **T+ :** Temoin positif ; **T- :** Témoin négatif



**Figure 32:** Profil électrophorétique de l'amplification du gène *blaTEM*

**M :** Marqueur de taille de 100 pb



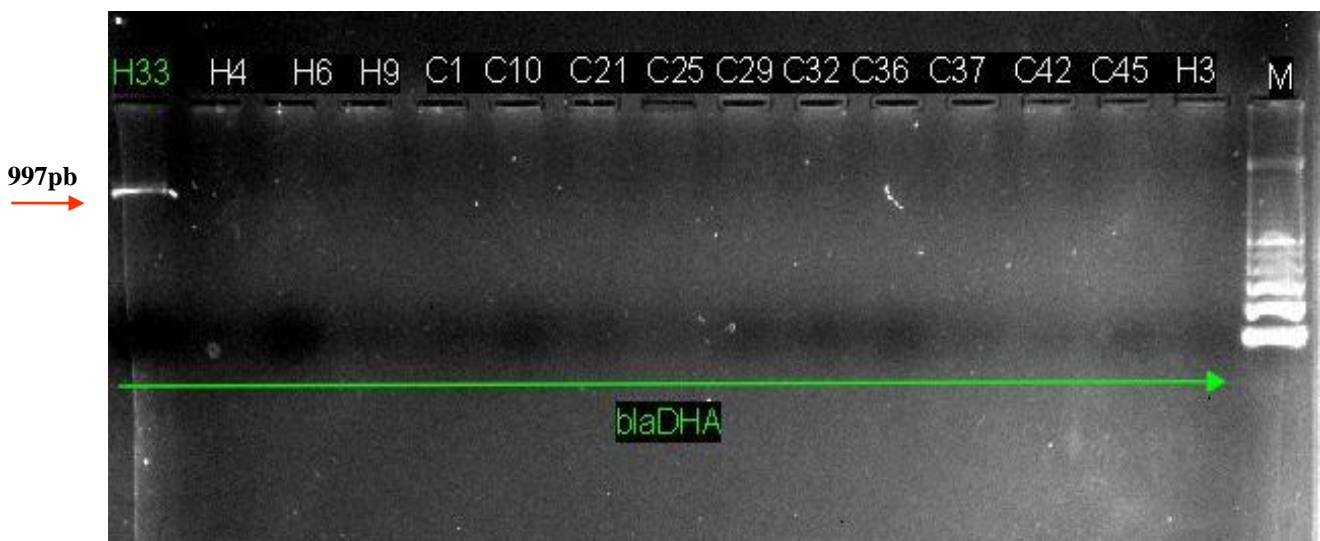
**Figure 33:** Profil électrophorétique de l'amplification du gène *blaSHV*

**M :** Marqueur de taille de 100 pb

### 3.2 Cephalosporinases AmpC

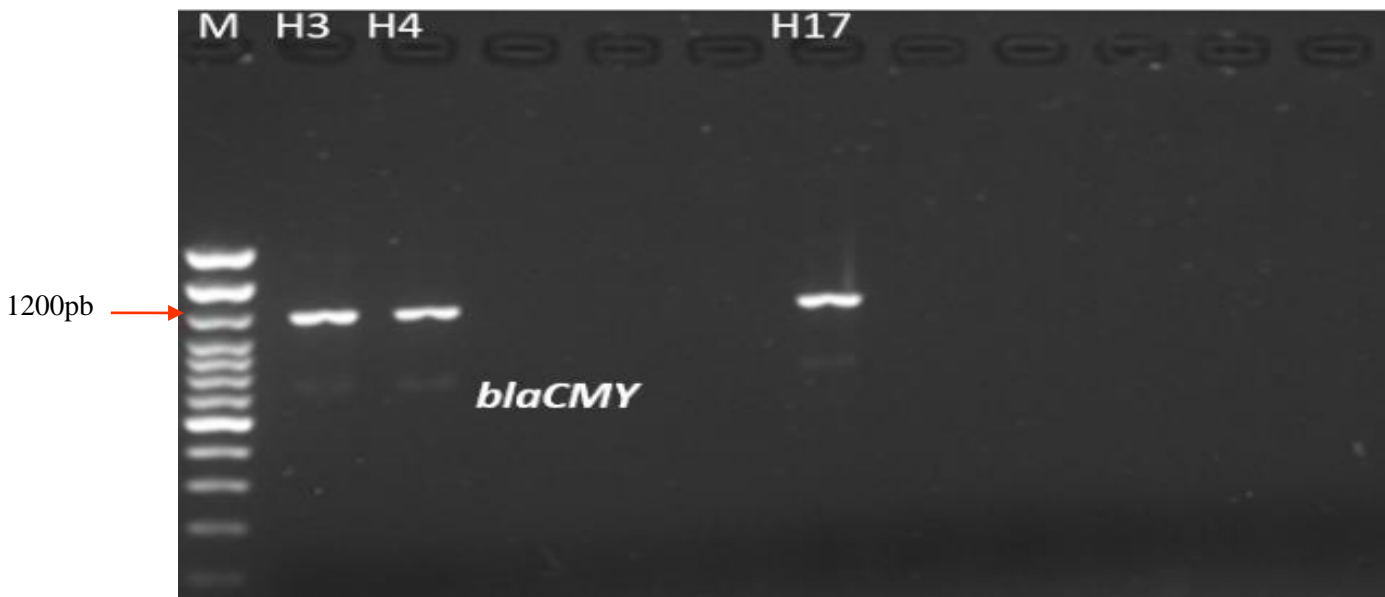
#### 3.2.1 Analyse moléculaire

Les gènes codant pour l'AmpC sont détectés chez 6 souches d'*E. coli* résistantes à la céfoxitine (17,14%). Parmi celles-ci, le gène *blaCMY* est trouvé chez 4 souches (trois provenant de patients hospitalisés et une d'un patient externe), et le gène *blaDHA* est détecté chez 2 souches (une provenant d'un patient hospitalisé et une d'un patient externe). Les résultats d'électrophorèse des gènes *blaDHA* et *blaCMY* sont présentés respectivement dans les figures 34 et 35.



**Figure 34:** Gel d'électrophorèse obtenu après amplification des gène *blaDHA*

**M :** Marqueur de taille de 100 pb



**Figure 35:** Gel d'électrophorèse obtenu après amplification des gène *blaCMY*

**M :** Marqueur de taille de 100 pb

### 3.3 Carbapénèmases

Un total de 17 entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE), et plus particulièrement à l'ertapénème, a été sélectionné parmi les 82 E-RC3G pour une caractérisation à part. Parmi elles, 9 proviennent de l'hôpital et 8 de laboratoires privés. Elles comprennent *K. pneumoniae* (n = 9), *E. coli* (n = 6), *E. cloacae* (n = 1) et *P. mirabilis* (n = 1). Parmi les 8 CRE issues des patients externes, l'agent pathogène prédominant est *K. pneumoniae* (n = 6), tandis que chez les patients hospitalisés, l'espèce prédominante est *E. coli* (n = 5). Un pourcentage important des CRE (87 %) est détecté chez des patients âgés de 51 à 93 ans. Le pourcentage le plus important des isolats (64,7 %) est associé aux infections des voies urinaires (67,71).

#### 3.3.1 Sensibilité aux antibiotiques des isolats CRE

Les souches résistantes à l'ertapénème présentent une résistance à tous les  $\beta$ -lactamines testés, à l'exception de l'imipénème, auquel 71 % sont résistantes. Un pourcentage élevé des CRE est également résistant à la ciprofloxacine (82,35 %), au triméthoprime-sulfaméthoxazole (65 %) et à moindre degré à la gentamicine (47,10 %). En revanche, l'amikacine reste active sur 76,47 % des souches et la fosfomycine sur 70,53 % des souches. La colistine et le chloramphénicol se sont révélés être les agents les plus actifs sur le plus grand nombre de souches (88,24 %). Le pourcentage de résistance des CRE est présenté dans la figure 36.

De plus, les résultats de l'antibiogramme ont révélé que 64,71% des CRE sont multirésistantes. En effet, outre leur résistance aux  $\beta$ -lactamines, ils résistent à trois autres classes d'antibiotiques : sulfamides, fluoroquinolones et à au moins un des deux aminoglycosides testés (Gentamicine ou Amikacine).

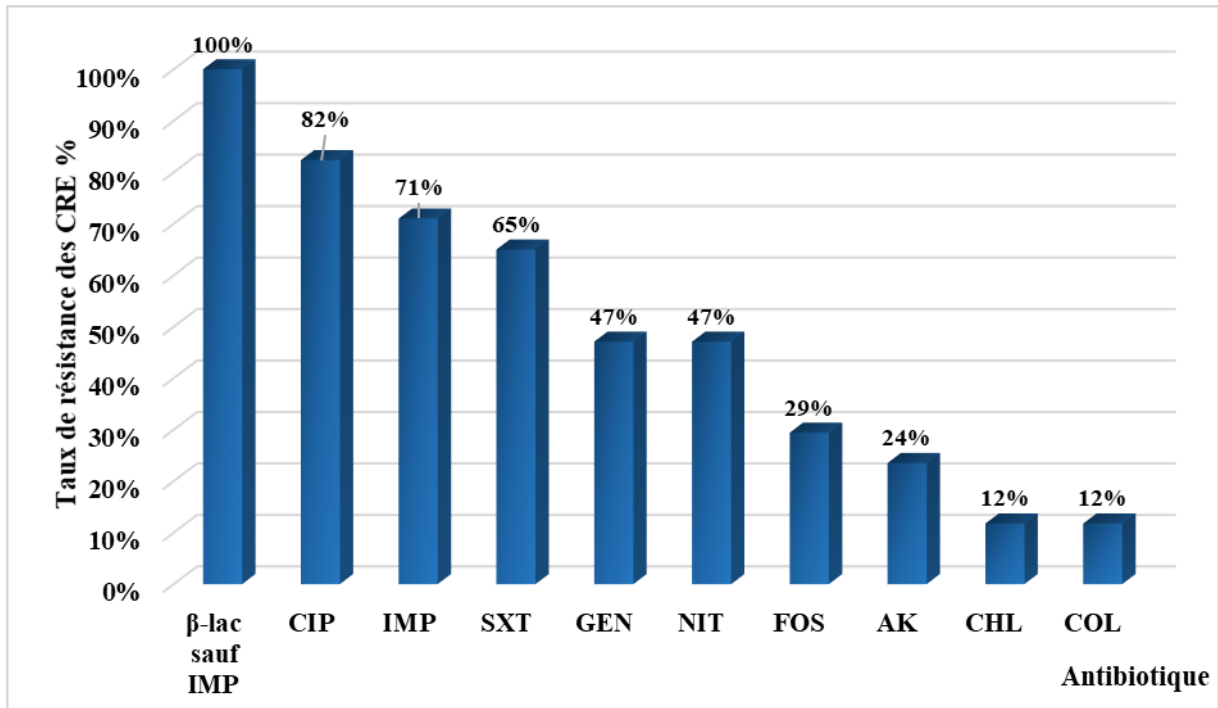


Figure 36: Taux de résistance aux antibiotiques des souches CRE

AK : Amikacine ; CHL : Chloramphénicol ; CIP : Ciprofloxacine ; COL : Colistine ; FOS : Fosfomycine ; GEN : Gentamicine ; IMP : Imipénème ; NIT : Nitrofurantoïne ; SXT : Triméthoprime-Sulfaméthoxazole ;  $\beta$ -lac sauf Imipénème :  $\beta$ -lactamines sauf imipenem.

### 3.3.2 Tests phénotypiques

#### ✓ Test Carba NP modifié (CNPm)

Parmi les 17 isolats résistants à l'ertapénème, une majorité (n=15) a montré une capacité à hydrolyser l'imipénème, ce qui a entraîné l'acidification du milieu. Cette acidification a été indiquée par le passage de la couleur de l'indicateur de pH (rouge de phénol) du rouge au jaune ou au jaune orangé, et sont alors considérés productrices de carbapénémase (Figure 37).

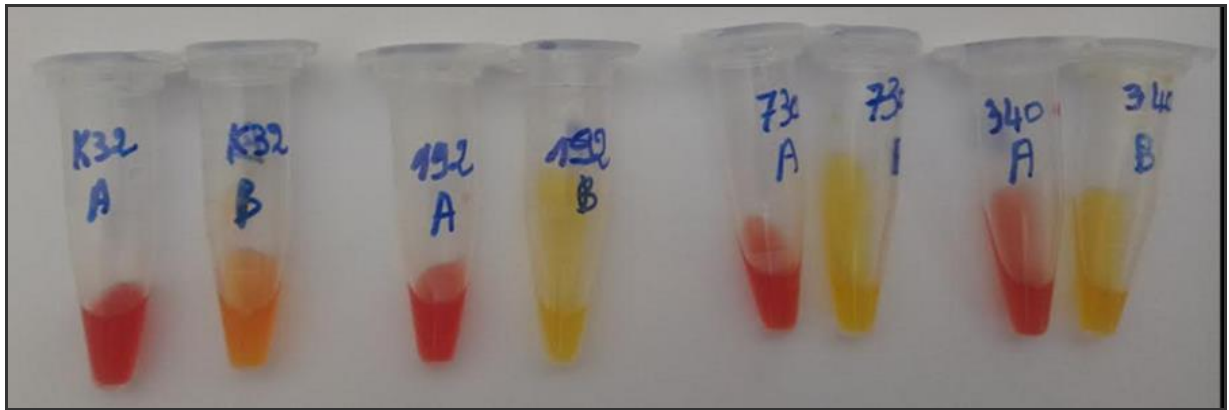


Figure 37: Test Carba NP modifié positif

✓ Test à l'éthylène-diamine-tétra-acétate (EDTA)

L'activité de l'ertapénème ou du méropénème est restaurée en présence de l'EDTA chez 13 isolats CRE. Ceci suggère qu'elles sont productrices de carbapénémase de type métallo-bêta-lactamase (MBL) et que cette enzyme est inhibée par l'EDTA (Figure 38).

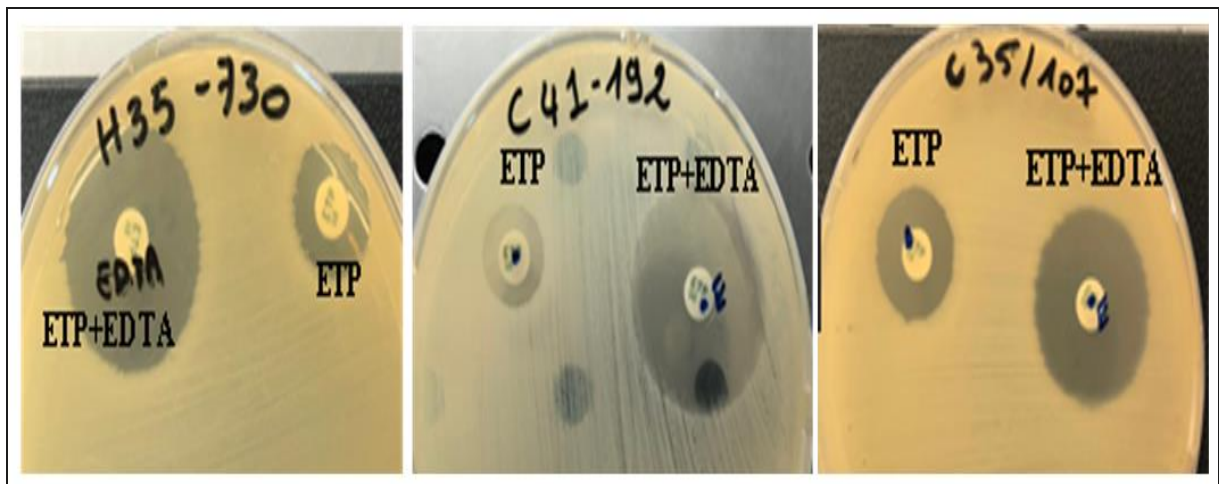
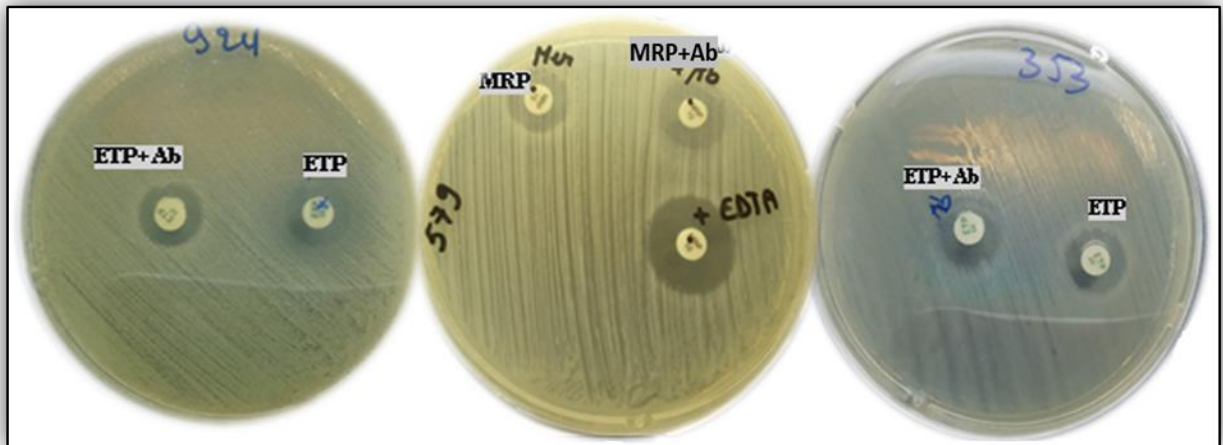


Figure 38: Test à EDTA positif

EDTA : éthylène-diamine-tétra-acétate ; ETP : Ertapénème.

✓ Test à l'acide boronique (Ab)

Ce test s'est avéré négatif pour l'ensemble des CRE, car l'ertapénème ou le méropénème ont montré des diamètres d'inhibition réduits en présence et en absence d'acide boronique. Ce qui signifie que ce dernier n'a pas affecté la résistance aux carbapénèmes pour toutes les souches testées et donc aucune des CRE n'est productrice de carbapénémase de la classe A d'Ambler appelée *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) (Figure 39).



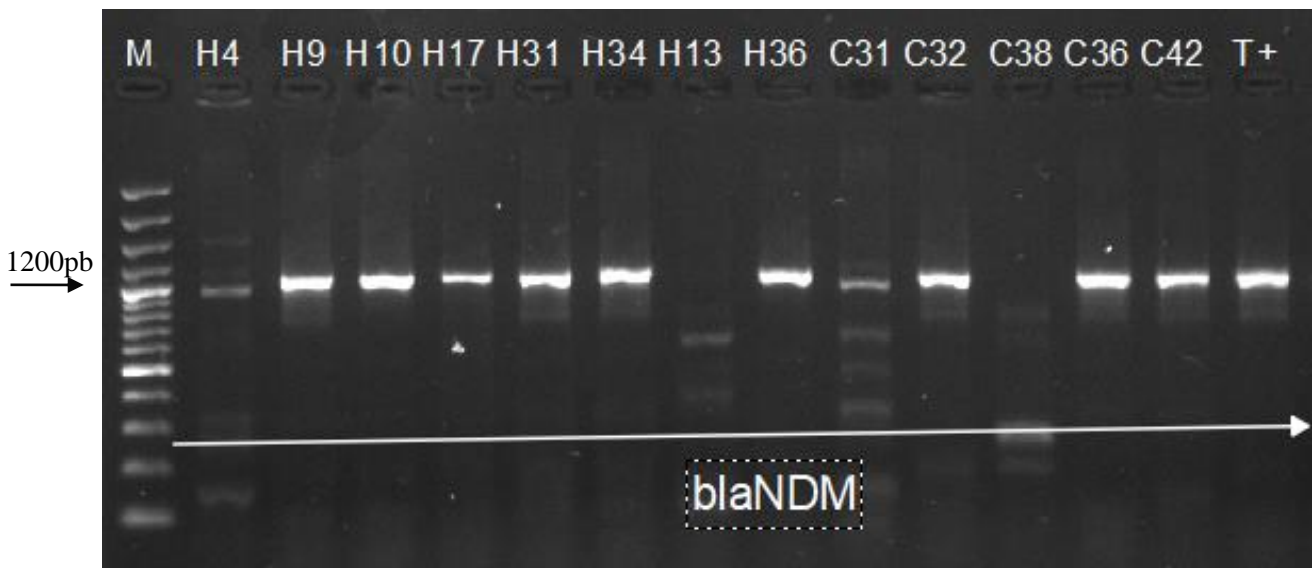
**Figure 39:** Résultat négatif du test à l'acide boronique

Ab : Acide boronique ; ERT : Ertapénème ; MRP : Méropénème.

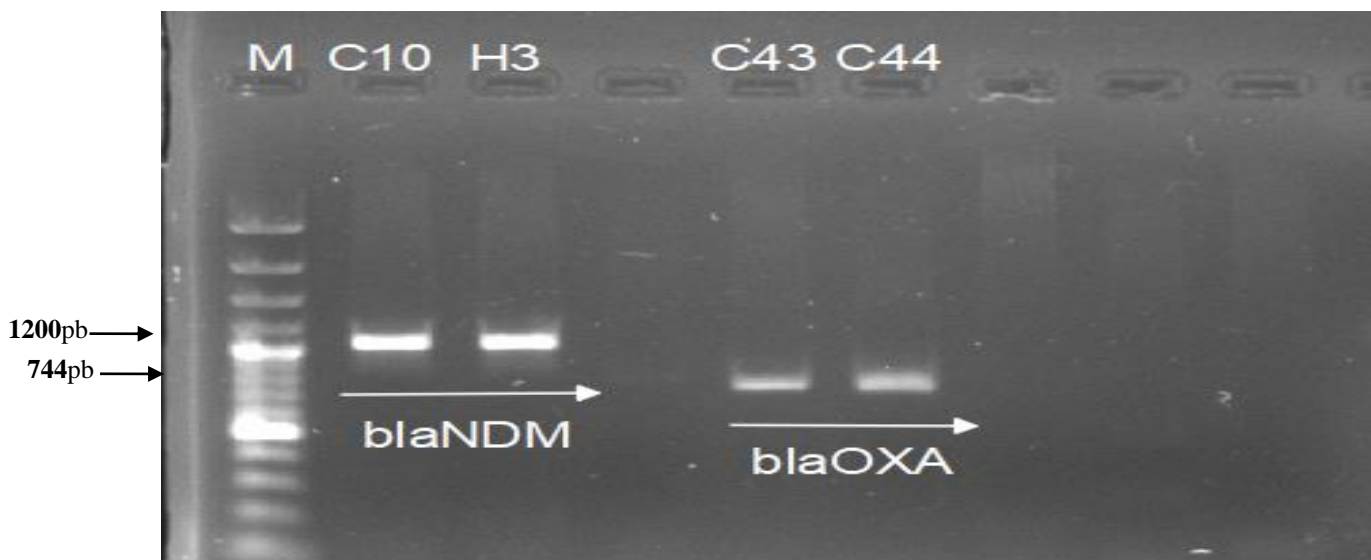
### 3.3.3 Analyse moléculaire

Parmi les 15 souches productrices de carbapénèmase, le gène *blaNDM* a été détecté chez 13 souches productrices de métallobêta-lactamase. Parmi celles-ci, huit sont issues de patients hospitalisés (5 *E. coli* et 3 *K. pneumoniae*) et cinq de patients externes (4 *K. pneumoniae* et 1 *P. mirabilis*). En revanche, le gène *blaOXA-48* a été identifié chez deux souches isolées des patients externes (1 *E. coli* et 1 *K. pneumoniae*). Les autres gènes cibles codant les carbapénémases (*blaKPC*, *blaVIM* et *blaIMP*) sont absents chez toutes les CRE.

Les profils obtenus après électrophorèse sur gel d'agarose des produits d'amplification des gènes de carbapénèmase *blaNDM* et *blaOXA-48* sont représentés par les figures 40 et 41, respectivement.



**Figure 40:** Profil électrophorétique de l'amplification du gène *blaNDM*  
**M :** Marqueur de taille de 100 pb



**Figure 41:** Gel d'électrophorèse obtenu après amplification des gènes *blaNDM* et *blaOXA-48*  
**M :** Marqueur de taille de 100 pb

### 3.3.4 Séquençage des gènes de carbapénémase

Les résultats du séquençage ont révélé que le variant *blaNDM-5* est le plus prévalent, détecté dans 7 isolats (6 *K. pneumoniae* et 5 *E. coli*), suivi de *blaNDM-1*, présent dans 6 isolats (5 *K. pneumoniae* et 1 *P. mirabilis*). Contrairement à *blaNDM-1* qui est détecté majoritairement chez l'espèce *K. pneumoniae*, le *blaNDM-5* prédomine chez *E. coli* (n=5) et moins fréquent chez *K. pneumoniae* (n=1).

Parmi les 8 isolats de CRE provenant des patients hospitalisés, le gène *blaNDM-5* est le plus répandu, détecté chez 5 souches d'*E. coli* et 1 isolat de *K. pneumoniae*, suivi de *blaNDM-1* ; présent

chez 2 isolats de *K. pneumoniae*. A l'inverse, le *blaNDM-1* est le plus répandu chez les souches CRE provenant des patients externes, détecté chez 4 souches (3 *K. pneumoniae* et 1 *P. mirabilis*), tandis que le *blaNDM-5* est présent chez une seule souche de *K. pneumoniae*.

Deux autres gènes de carbapénémase de type oxacillinase, *blaOXA-48* et *blaOXA-244*, ont été identifiés chez un isolat d'*E. coli* et un isolat de *K. pneumoniae* provenant de patients externes, respectivement.

Les données détaillées des souches CRE, incluant les résultats des différents tests phénotypiques et moléculaires, sont résumées dans le tableau 13.

**Tableau 13:** Résultats de l'analyse phénotypique et génotypique des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE)

CRE code	Source	Espèce	Type de Prélèvement	Tests phénotypiques				Gènes Carba	Autres β-lactamase	Profil de résistance
				CNPm	EDTA	Ab	BLSE			
H3	PH	<i>E. coli</i>	Urine	+	+	-	-	<i>blaNDM-5</i>	<i>blaTEM blaCMY</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT- CIP-SXT
H4	PH	<i>E. coli</i>	Urine	+	+	-	-	<i>blaNDM-5</i>	<i>blaTEM blaCMY</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT-IMP-CIP-SXT
H9	PH	<i>K. pneumoniae</i>	Pus	+	+	-	+	<i>blaNDM-1</i>	<i>blaCTXM blaTEM blaSHV</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT-IMP-AK-GEN-CIP-NIT-SXT-COL
H10	PH	<i>K. pneumoniae</i>	Pus	+	+	-	+	<i>blaNDM-1</i>	<i>blaCTXM blaTEM blaSHV</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT- IMP-AK-GEN- CIP-NIT-FOS-SXT
H13	PH	<i>E. cloacae</i>	Pus	-	-	-	-	/	/	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT
H17	PH	<i>E. coli</i>	Urine	+	+	-	-	<i>blaNDM-5</i>	<i>blaTEM blaCMY</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ- ERT-CIP-SXT
H31	PH	<i>E. coli</i>	Pus	+	+	-	+	<i>blaNDM-5</i>	<i>blaCTXM blaTEM</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT-IMP-CIP
H34	PH	<i>E. coli</i>	Urine	+	+	-	+	<i>blaNDM-5</i>	<i>blaCTXM blaTEM</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT-IMP-CIP
H36	PH	<i>K. pneumoniae</i>	Urine	+	+	-	+	<i>blaNDM-5</i>	<i>blaCTXM blaTEM blaSHV</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT-IMP-GEN-CIP-NIT-SXT
C10	PE	<i>K. pneumoniae</i>	Pus	+	+	-	+	<i>blaNDM-1</i>	<i>blaCTXM blaTEM blaSHV</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT-IMP-AK-GEN-CIP-FOS-NIT-SXT
C31	PE	<i>K. pneumoniae</i>	Urine	+	+	-	+	<i>blaNDM-1</i>	<i>blaCTXM blaTEM blaSHV</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT-IMP-CIP-COL
C32	PE	<i>K. pneumoniae</i>	Urine	+	+	-	+	<i>blaNDM-1</i>	<i>blaCTXM blaTEM blaSHV</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT-IMP-AK-GEN-CIP-FOS-NIT-SXT
C36	PE	<i>K. pneumoniae</i>	Urine	+	+	-	+	<i>blaNDM-5</i>	<i>blaCTXM blaTEM blaSHV</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT-IMP-GEN-CIP-FOS-CHL-SXT
C38	PE	<i>K. pneumoniae</i>	Urine	-	-	-	+	/	<i>blaTEM blaSHV</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT-IMP-GEN-CIP-NIT
C42	PE	<i>P. mirabilis</i>	Pus	+	+	-	+	<i>blaNDM-1</i>	<i>blaCTXM</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ-ERT-IMP-GEN-CIP-NIT-CHL
C43	PE	<i>K. pneumoniae</i>	Urine	+	-	-	+	<i>blaOXA-244</i>	<i>blaCTXM blaTEM blaSHV</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX-CAZ- ERT
C44	PE	<i>E. coli</i>	Urine	+	-	-	-	<i>blaOXA-48</i>	<i>blaTEM</i>	AMP-AMC-TAZ-CZ-FOX-CTX- ERT-SXT

(+) : Test positif ; (-) : Test négatif ; Ab : Test à l'acide boronique ; BLSE : bêta-lactamase à spectre étendu ; Carba : carbapénémase ; CNPm : Test Carba NP modifié ; CRE : Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes ; EDTA : Test à l'acide éthylènediaminetétraacétique.

### 3.4 Co-production de $\beta$ -lactamase

Un total de 64 souches exprime plusieurs gènes de bêta-lactamase. Parmi elles, 39 souches expriment deux gènes, 18 en expriment trois, et 7 en expriment quatre.

Sur les 13 souches productrices de carbapénémase de type NDM, 10 sont coproductrices de BLSE, dont 7 *K. pneumoniae*, 2 *E. coli* et 1 *P. mirabilis*. Parmi ces souches, Sept *K. pneumoniae* coexpriment les trois gènes *blaCTX-M*, *blaSHV* et *blaTEM*; deux souches d'*E. coli* coexpriment les gènes *blaCTX-M* et *blaTEM*, et une souche *P. mirabilis* coexprime uniquement le gène *blaCTX-M*. Les trois souches restantes d'*E. coli* produisant le NDM sont coproductrices d'AmpC et coexpriment les gènes *blaCMY* et *blaTEM*.

Les deux souches productrices de carbapénémase de type OXA-48 sont également coproductrices de BLSE : l'une, *K. pneumoniae*, coexprime les trois gènes *blaCTX-M*, *blaSHV* et *blaTEM*, tandis que l'autre, *E. coli*, n'exprime que le gène *blaTEM*.

Les trois gènes *blaCTX-M*, *blaTEM* et *blaSHV* coexistent chez 11 souches, dont 2 *E. coli* et 9 *K. pneumoniae*. Deux souches d'*E. coli* coproductrices d'AmpC et de BLSE, coexpriment les gènes *blaDHA* et *blaCTX-M*, l'une d'elles exprime également le gène *blaTEM*. Seize souches expriment un seul des trois gènes, *blaCTX-M*, *blaSHV* ou *blaTEM*. Deux souches n'expriment aucun des gènes de  $\beta$ -lactamase testés. Le tableau 14 résume l'ensemble des gènes codant les  $\beta$ -lactamases coexistants chez l'ensemble des E-RC3G.

Tableau 14: Gènes de  $\beta$ -lactamases coexistants chez les entérobactéries résistantes aux C3G

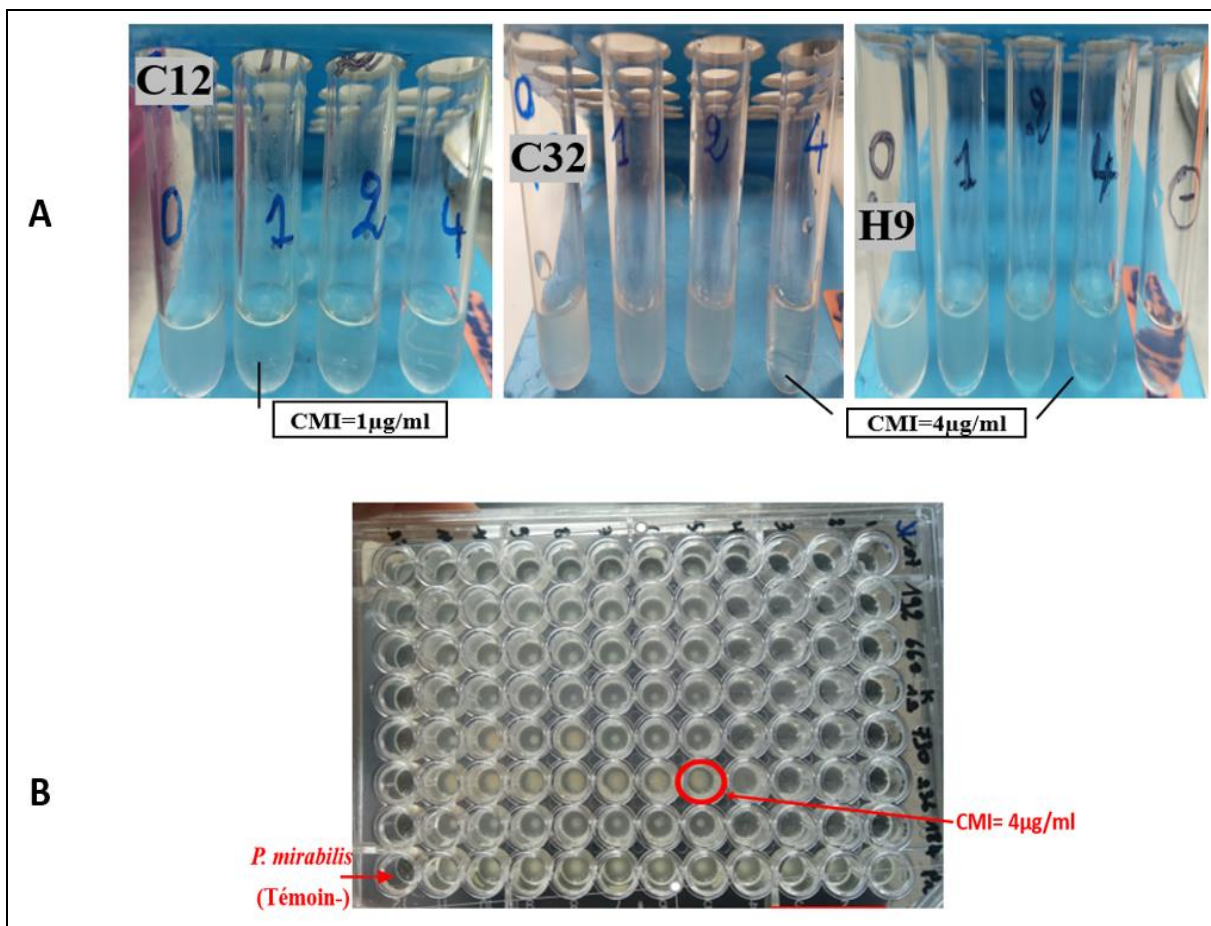
Carbapénèmase		BLSE			AmpC		N	%	Espèce
<i>bla</i> <i>NDM</i>	<i>bla</i> <i>OXA-48</i>	<i>bla</i> <i>CTX-M</i>	<i>bla</i> <i>TEM</i>	<i>bla</i> <i>SHV</i>	<i>bla</i> <i>CMY</i>	<i>bla</i> <i>DHA</i>			
		+	+				27	32,9	24 <i>E. coli</i> , 1 <i>K. pneumoniae</i> , 2 <i>E. cloacae</i>
		+					14	17,07	11 <i>E. coli</i> , 1 <i>Salmonella spp.</i> , 1 <i>E. cloacae</i> , 1 <i>K. pneumoniae</i>
		+	+	+			11	13,41	2 <i>E. coli</i> , 9 <i>K. pneumoniae</i>
+		+	+	+			6	7,5	<i>K. pneumoniae</i>
		+		+			5	7,32	<i>K. pneumoniae</i>
			+	+			4	4,88	<i>K. pneumoniae</i>
+			+		+		3	3,66	<i>E. coli</i>
+		+	+				2	2,43	<i>E. coli</i>
	+	+	+	+			1	1,21	<i>K. pneumoniae</i>
		+	+			+	1	1,21	<i>E. coli</i>
			+	+	+		1	1,21	<i>E. coli</i>
		+				+	1	1,21	<i>E. coli</i>
+		+					1	1,21	<i>P. mirabilis</i>
	+		+				1	1,21	<i>E. coli</i>
			+				1	1,21	<i>S. marcescens</i>
				+			1	1,21	<i>E. coli</i>
			-				2	2,43	<i>E. cloacae</i> , <i>K. pneumoniae</i>
<b>Total :</b>							<b>82</b>	<b>100</b>	

N : Nombre de souches ; + : Présence du gène ; - : Aucun des gènes testés.

## 4 Etude de la résistance à la colistine

### 4.1 Résultat de la CMI

La méthode de dilution des disques de colistine a révélé que trois souches de *K. pneumoniae* sont résistantes à la colistine (CMI = 4 µg/ml). Deux de ces souches proviennent de patients hospitalisés et une d'un patient externe. De plus, l'une de ces souches produit de la BLSE, tandis que les deux autres coproduisent de la BLSE et de la carbapénèmase. La méthode de microdilution en bouillon confirme la CMI de ces trois souches résistantes à la colistine. Les résultats obtenus par les deux méthodes sont présentés dans la figure 42.



**Figure 42:** Résultat de l'évaluation de la CMI de la colistine.

A : Méthode de dilution des disques de colistine. B : Méthode de micro dilution en bouillon.

### 4.2 Analyse moléculaire

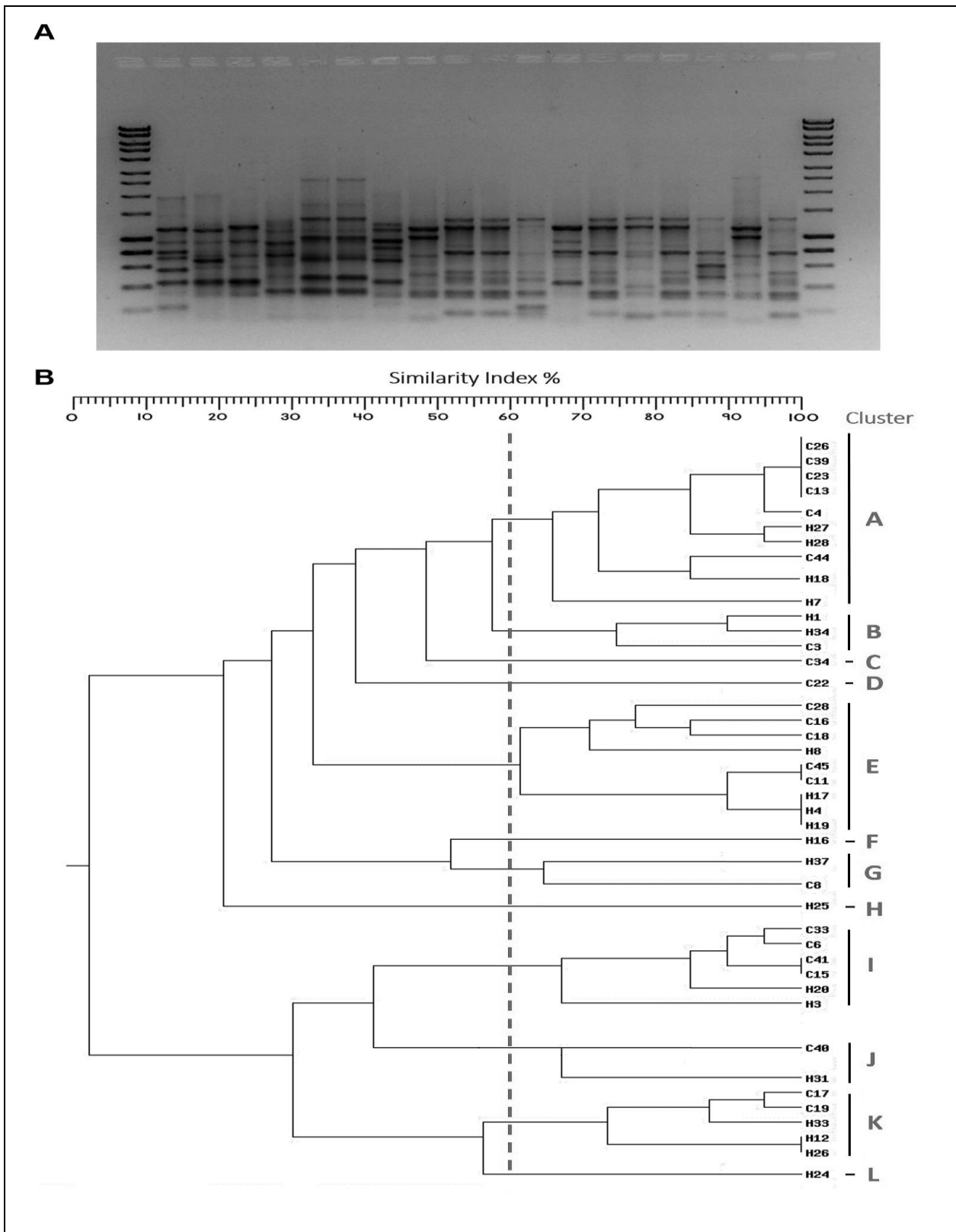
Le gène *mcr-1* est absent chez les trois souches de *K. pneumoniae* résistantes à la colistine (CMI = 4 µg/ml), dont deux sont productrices de carbapénèmase et une est positive pour la BLSE.

### 5 Caractérisation moléculaire des souches d'*Escherichia coli* des patients hospitalisés et des patients externes

Un total de 42 souches d'*E. coli* ont été caractérisées par géotypage, phylogroupage et analyse de la virulence. Parmi elles, 22 proviennent de patients externes ; 21 d'urine (5,45 %) et une souche de pus (4,55 %), et 20 de patients hospitalisés ; 10 d'urine (50 %), 9 de pus (45 %) et une souche de sang (5 %).

#### 5.1 Géotypage

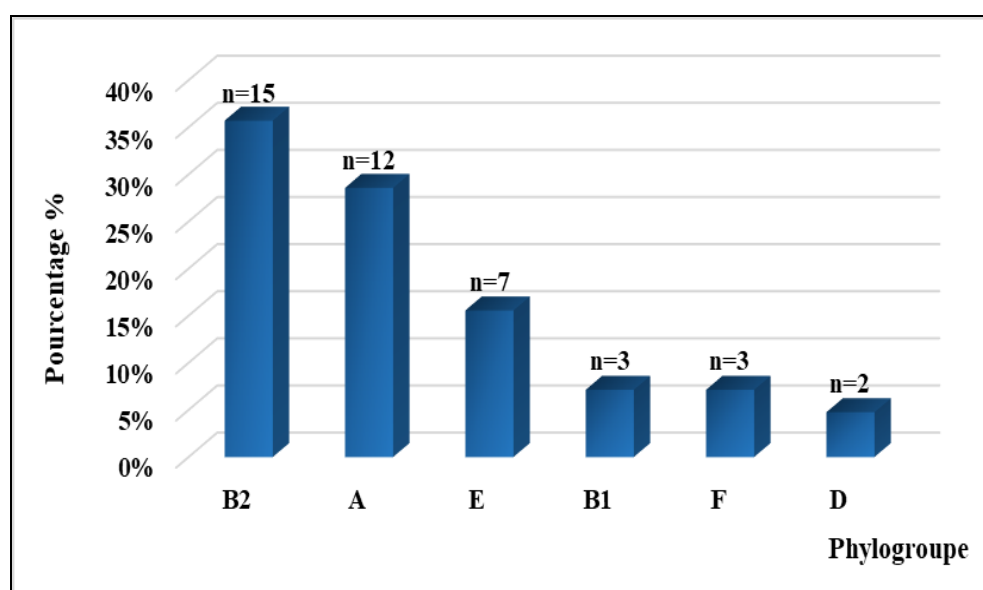
Les souches ont été géotypées en utilisant l'ERIC-PCR qui a généré des bandes de taille allant d'environ 100 pb à 3000 pb, la majorité allant d'environ 270 pb à 400 pb (Figure 43 A). À une distance génétique de 0,6 (60 % de similarité génétique), l'analyse du dendrogramme a montré 7 clusters (A, B, E, G, I, J, K) incluant chacun au moins 2 isolats (Figure 43 B) et 5 singletons (C: C34 ; D: C22 ; F: H16 ; H: H25 ; L: H24), ce qui indique des isolats présentant des profils particuliers. Le géotypage a permis donc de regrouper les isolats d'*E.coli* sans révéler de divergence génotypique majeure entre les souches des patients hospitalisés et celles des patients externes.



**Figure 43:** Profils ERIC-PCR des isolats sur gel d'agarose (A) et le dendrogramme classifiant les souches d'*E. coli* en clusters selon leur degré de similitude (B)

## 5.2 Phylogroupage

L'analyse de la distribution des phylogroupes, réalisée à l'aide de la méthode de phylogroupage revisitée de Clermont, a révélé que la majorité des isolats d'*E. coli* appartiennent au phylogroupe B2 (n = 15), suivi des phylogroupes A (n = 12) et E (n = 7). Les phylogroupes F (n = 3), B1 (n = 3), et D (n = 2) sont les moins représentés. Le génotype quadruplex obtenu pour chaque souche a permis de préciser cette répartition (Figure 44).



**Figure 44:** Distribution des phylogroupes des isolats d'*E. coli*

Une forte prévalence des isolats du phylogroupe B2 a été observée chez les patients externes (9 sur 22 ; 40,91%), suivie par le phylogroupe E (6 sur 22 ; 27,27%). À l'inverse, les souches isolées chez les patients hospitalisés appartenait principalement au phylogroupe A (10 sur 20 ; 50 %), suivies par le phylogroupe B2 (6 sur 20 isolats ; 30%) (Tableau 15).

**Tableau 15:** Distribution des phylogroupes parmi les souches d'*E. coli* des patients hospitalisés et des patients externes

Souches bactériennes	Phylogroupes n(%)					
	B2 (n=15)	D (n=2)	A (n=12)	B1 (n=3)	E (n=7)	F (n=3)
<i>E. coli</i> des PE (n=22)	9 (40,91%)	01 (4,55%)	2 (9,09%)	1 (4,55%)	6 (27,27%)	3 (13,64%)
<i>E. coli</i> des PH (n=20)	6 (30%)	01(5%)	10 (50%)	2 (10%)	01 (5%)	0 (0%)

n = nombre ; PE : Patients externes ; PH : Patients hospitalisés.

Les souches d'*E. coli* du phylogroupe pathogène B2 chez les patients externes (PE) montrent une résistance de 100 % à la ciprofloxacine et au triméthoprime-sulfaméthoxazol, et sont toutes multirésistantes. En revanche, les souches des patients hospitalisés (PH) du même phylogroupe présentent également une résistance de 100 % à la ciprofloxacine, mais une résistance plus faible de 66,7 % au triméthoprime sulfaméthoxazol et 66,7 % d'incidence de multirésistance.

Les souches des PH appartenant au phylogroupe commensal A (n=10) affichent des résistances élevées à plusieurs antibiotiques : amoxicilline-clavulanique (70 %), piperacilline-tazobactam (60 %), céfoxitine (50 %), céftazidime (90 %), ciprofloxacine (80 %), sulfaméthoxazole-triméthoprime (80 %) et à moindre degré l'ertapénem (30 %), avec 80 % ayant un profil MDR. Il est à noter que la majorité des souches résistantes aux carbapénèmes ont été trouvées parmi les phylogroupes commensaux B1 et A, chez les patients hospitalisés (Tableau 16).

**Tableau 16:**Prévalence et distribution phylogénétique de la résistance aux antibiotiques chez *E. coli* des patients hospitalisés et des patients externes.

ATB	<i>E. coli</i> des PE (n=22) ; n (%)					<i>E. coli</i> des PH (n=20) ; n (%)				
	B2 (n=9)	A (n=2)	B1(n=1)	D (n=1)	E (n=6)	B2 (n=6)	A(n=10)	B1(n=2)	D (n=1)	E (n=1)
AMC	6 (66,67%)	2 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	2 (33,33%)	2 (33,33%)	7 (70%)	2 (100%)	1 (100%)	1 (100%)
TAZ	2 (22,22%)	2 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	2 (33,33%)	1 (16,7%)	6 (60%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
FOX	2 (22,22%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (33,33%)	0 (0%)	5 (50%)	2 (100%)	1 (100%)	0 (0%)
CAZ	8 (88,9%)	1 (50%)	0 (0%)	1 (100%)	3 (50%)	4 (66,7%)	9 (90%)	2 (100%)	1 (100%)	1 (100%)
ERT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (16,7%)	0 (0%)	3 (30%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
IMP	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (10%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
AK	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
GEN	7 (77,78%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)	1 (16,7%)	4 (66,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)
CIP	9 (100%)	1 (50%)	1 (100%)	1 (100%)	2 (33,33%)	6 (100%)	8 (80%)	2 (100%)	1 (100%)	1 (100%)
NIT	1 (11,11%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
CHL	1(10%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	2 (33,33%)	0 (0%)	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
FOS	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (16,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
SXT	9 (100%)	1 (50%)	1 (100%)	1 (100%)	5 (83,33%)	4 (66,7%)	8 (80%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)
MR	9 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	2 (33,33%)	4(66,7%)	8 (80%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)

ATB : Antibiotique ; AMC : Amoxicilline acide clavulanique ; AK : Amikacine ; CAZ : Ceftazidime ; CHL : Chloramphénicol ; ERT : Ertapénème ; FOS : Fosfomycine ; FOX :

Céfoxitine ; GEN : Gentamicine ; IMP : Imipénème ; MR : Phénotype de multi-résistance ; NIT : Nitrofurantoïne ; PE : Patient externe ; PH : Patient hospitalisé ; SXT : Triméthoprime sulfaméthoxazole ; TAZ : Pipéracilline tazobactam.

### 5.3 Virulence des *E. coli*

L'analyse des facteurs de virulence a révélé une prévalence plus élevée de la plupart des gènes de virulence chez les souches d'*E. coli* provenant des patients externes. Les scores des facteurs de virulence, indiquant le nombre de gènes de virulence présents dans chaque souche, montrent que 13 (59,1 %) des souches des patients externes ont un score  $\geq 7$ , contre 9 (45 %) des souches des patients hospitalisés (Tableau 17).

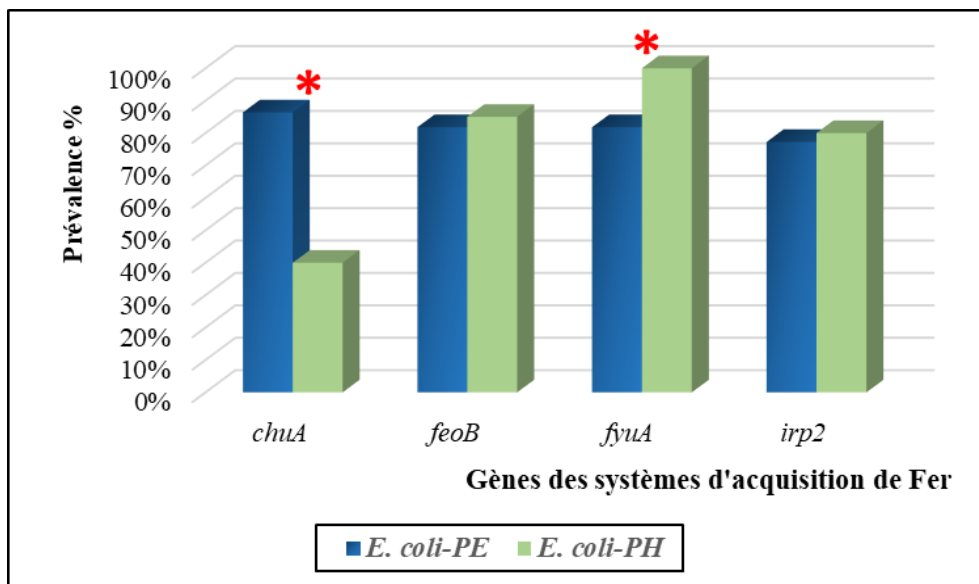
**Tableau 17:** Scores des facteurs de virulence des isolats d'*E. coli* des patients hospitalisés et des patients externes

Souches	Score des facteurs de virulence		
	[2-5]	[6-9]	[10-13]
<i>E. coli</i> des PH (n=20)	10	3	7
<i>E. coli</i> des PE (n=22)	7	7	8

PH : Patients hospitalisé ; PE : Patients externe

#### ✓ Genes codant pour les systèmes d'acquisition du fer

Parmi les différents gènes de virulence recherchés, les plus fréquents sont ceux codant pour les systèmes d'acquisition du fer : *fyuA* détecté chez 38 souches (90,48 %), suivi de *feoB* chez 35 souches (83,33 %), *irp2* chez 33 souches (78,57 %) et *chuA* chez 27 souches (64,29%). Le gène *fyuA* est particulièrement plus fréquent parmi les souches des patients hospitalisés (100 % contre 81,82 % pour les patients externes ;  $p = 0,045$ ), tandis que le gène *chuA* est statistiquement associé aux isolats de patients externes (82,61 % contre 38,10 % ;  $p = 0,002$ ). En revanche, les gènes *feoB* et *irp2* ne montrent aucune différence significative entre les souches des deux groupes (Figure 45).

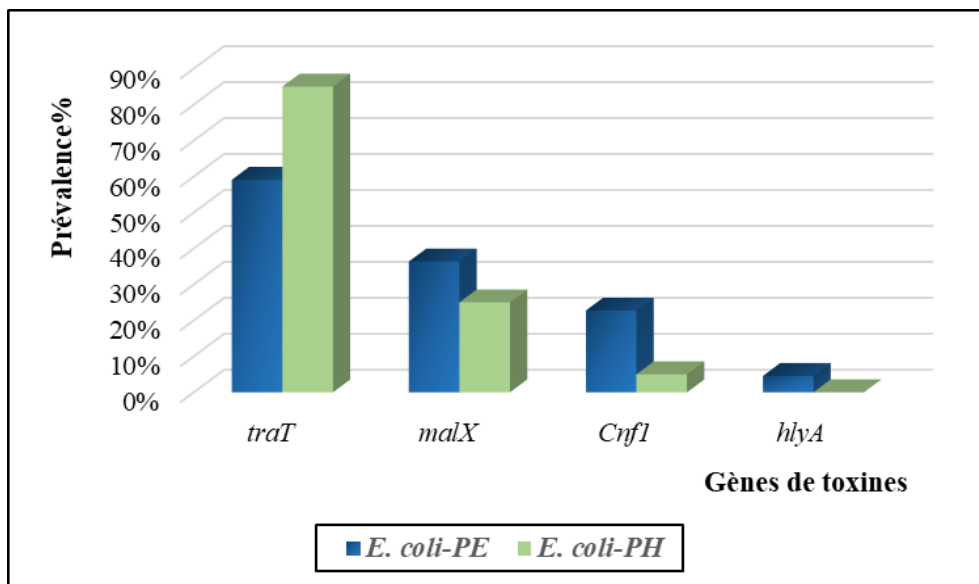


**Figure 45:** Prévalence des gènes codant les systèmes d'acquisition de fer chez les souches d'*E. coli* des patients hospitalisés et des patients externes

\* : Différence statistiquement significative dans la prévalence des gènes *chuA* ( $p = 0,002$ ) et *fyuA* ( $p = 0,003$ ) entre les *E. coli* des patients hospitalisés (PH) et patients externes (PE).

#### ✓ Gènes codant pour les toxines

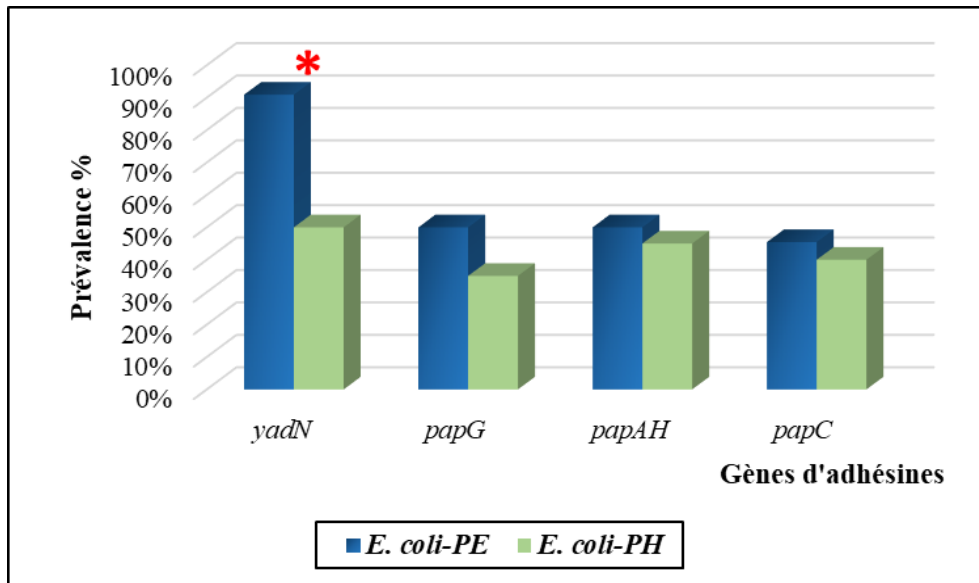
Parmi les gènes codant pour des toxines, le gène *traT* est le plus fréquent parmi les souches d'*E. coli* étudiées, avec une prévalence de 71,43 %. Les gènes *malX* et *cnf1* sont plus fréquents chez les souches des patients externes, en particulier *cnf1* (22,73 % contre 5 %). Cependant, le gène *traT* est plus courant chez les isolats de patients hospitalisés (85 % contre 59,09 % pour les patients externes). Le gène *hlyA* est le moins fréquent (4,55 % chez les patients externes contre 0 % chez les patients hospitalisés). En revanche, les différences observées pour tous ces gènes ne sont pas statistiquement significatives ( $p > 0,05$ ) (Figure 46).



**Figure 46:** Prévalence des gènes codant les toxines chez les *E. coli* des patients hospitalisés et des patients externes

#### ✓ Genes codant pour les adhésines

Parmi les gènes analysés associés à l'adhésion, le gène *yadN* est le plus fréquent, étant présent chez 71,43 % des souches d'*E. coli*. Les gènes *papC*, *papG* et *papAH* sont plus courants chez les souches provenant de patients externes, mais cette différence n'est pas statistiquement significative ( $p > 0,05$ ). En revanche, le gène *yadN* est significativement plus présent chez les souches des patients externes par rapport à celles des patients hospitalisés, (90,91 % contre 50 %,  $p = 0,003$ ) (Figure 47).

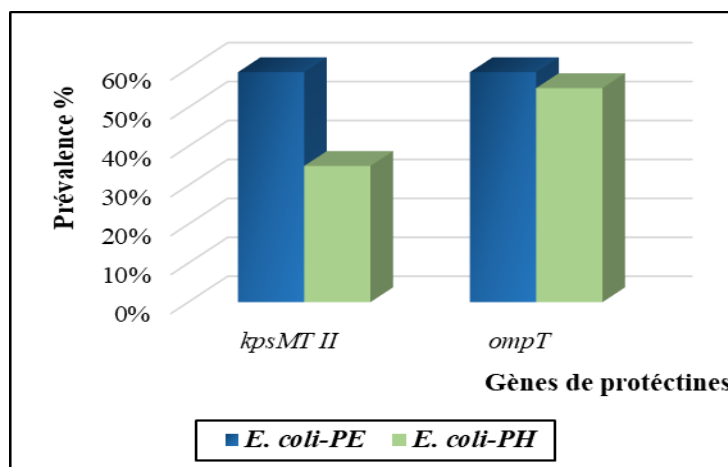


**Figure 47:** Prévalence des gènes codant les adhésines chez les *E. coli* des patients hospitalisés et des patients externes

\* : Différence statistiquement significative dans la prévalence du gène *yadN* entre les *E. coli* des patients hospitalisés (PH) et patients externes (PE) ( $p = 0,003$ ).

✓ **Genes codant pour les protectines**

Les gènes codant pour les protectines, tels que *kpsMT II* et *ompT*, sont plus fréquents chez les souches d'*E. coli* provenant des patients externes comparativement à celles des patients hospitalisés (59,09 % contre 35 % pour *kpsMT II*, et 59,09 % contre 55 % pour *ompT*). Cependant, ces différences ne sont pas statistiquement significatives ( $p > 0,05$ ) (Figure 48).



**Figure 48:** Prévalence des gènes codant les protectines chez les *E. coli* des patients hospitalisés et des patients externes

✓ **Relation entre virulence et phylogroupage**

Les souches du phylogroupe B2 sont les plus virulentes par rapport aux autres phylogroupes, avec une forte prévalence des gènes de virulence. Les gènes *pap C/G/AH* ( $p < 0,001$ ), *chuA* ( $p = 0,003$ ), *kpsMT II* ( $p < 0,001$ ) et *ompT* ( $p < 0,001$ ) sont présents chez plus de 88 % des isolats B2, avec des valeurs statistiquement significatives. En revanche, les phylogroupes A et B1 présentent des fréquences beaucoup plus faibles pour ces mêmes gènes. Les souches B2 se distinguent également par la présence notable du gène *malX* ( $p < 0,001$ ), absent chez les souches des autres phylogroupes, avec une différence également statistiquement significative (Tableau 18). (Annexe 6 f-6 l).

**Tableau 18:** Distribution des gènes de virulence selon les phylogroupes

	<b>B2 (n=15)</b> n(%)	<b>A (n=12)</b> n(%)	<b>B1 (n=3)</b> n(%)	<b>D (n=2)</b> n(%)	<b>E (n=7)</b> n(%)	<b>F (n=3)</b> n(%)
<i>malX</i>	11 (73%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>traT</i>	12 (80%)	8 (67%)	2 (67%)	1 (50%)	5 (71%)	2 (67%)
<i>hlyA</i>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (14%)	2 (67%)
<i>cnfI</i>	4 (27%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (67%)
<i>papC</i>	13 (88%)	1 (8%)	0 (0%)	2 (100%)	2 (29%)	0 (0%)
<i>papG</i>	13 (88%)	1(8%)	0 (0%)	1 (50%)	2 (29%)	1 (33%)
<i>yadN</i>	13 (88%)	2 (17%)	3(100%)	2 (100%)	7 (100%)	3 100%)
<i>papAH</i>	13 (88%)	1(8%)	0 (0%)	2 (100%)	1 (14%)	1 (33%)
<i>feoB</i>	14 (93%)	10 (83%)	2 (67%)	2 (100%)	7 (100%)	0 (0%)
<i>fyuA</i>	14 (93%)	6 (50%)	3(100%)	2 (100%)	4 (57%)	3 (100%)
<i>chuA</i>	14 (93%)	2 (17%)	0 (0%)	2 (100%)	7 (100%)	2 (67%)
<i>irp2</i>	14 (93%)	8 (67%)	2 (67%)	2 (100%)	6 (86%)	1 (33%)
<i>kpsMT II</i>	13 (88%)	5 (42%)	0 (0%)	1 (50%)	5 (71%)	1 (33%)
<i>ompT</i>	14 (93%)	6 (50%)	2 (67%)	2 (100%)	3 (43%)	2 (67%)

Les souches du phylogroupe B2, qu'elles proviennent de patients externes ou de patients hospitalisés, ont présenté le plus grand nombre de gènes de virulence comparativement aux souches des autres phylogroupes. Parmi les 15 souches appartenant au phylogroupe B2, 13 hébergent plus de 8 gènes, et 40 % (6) portent 12 ou 13 gènes (Tableau 19).

**Tableau 19:** Prévalence des gènes de virulence chez les *E. coli* du phylogroupe B2

	<i>traT</i>	<i>hlyA</i>	<i>malX</i>	<i>cnf1</i>	<i>papC</i>	<i>papG</i>	<i>yadN</i>	<i>papAH</i>	<i>feoB</i>	<i>fyuA</i>	<i>chuA</i>	<i>irp2</i>	<i>kpsMT</i>	<i>ompT</i>	Score V	
PE	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	13
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	12
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	9
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	13
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	3
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	12
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	12
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	11
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	12
PH	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	11
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	10
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	11
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	11
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	11
	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	Case vide	7
n	12	0	11	4	13	13	13	13	14	14	14	14	13	14		

Case vide : Présence du gène de virulence ; Case noire : Absence de gène de virulence ; Score V : Nombre des gènes par souche (Score de virulence) ; n : Nombre de souches positives pour chaque gène ; PE : *E. coli* du phylogroupe B2 des patients externes ; PH : *E. coli* du phylogroupe B2 des patients hospitalisés.

✓ **Relation entre virulence et multirésistance**

L'évaluation de l'association entre la présence des gènes de virulence et la multirésistance des souches *E. coli* a confirmé que seuls les gènes d'adhésion *papC* et *papG* sont significativement associés aux souches multirésistantes, présents chez 55,56 % des *E. coli* multirésistantes et 20 % des souches non multirésistantes ( $p = 0,026$ ) (Tableau 20). (Annexe 6-m et 6-n)

**Tableau 20:** Distribution des facteurs de virulence parmi les *E. coli* multirésistantes et non multirésistantes

Gènes de virulence		MR	Non-MR	Valeur <i>p</i>
		(n= 27) ,n(%)	(n=15 ) ,n(%)	
<b>Toxines</b>	<i>traT</i>	18 (66,67%)	12 (80%)	0,485
	<i>hlyA</i>	1 (3,7%)	0 (0%)	0,451
	<i>malX</i>	11 (40,74%)	2 (13,33%)	0,089
	<i>cnfI</i>	5 (18,52%)	1 (6,67%)	0,395
<b>Adhésines</b>	<i>papC</i>	<b>15 (55,56%)</b>	<b>3 (20%)</b>	<b>0,026</b>
	<i>papG</i>	<b>15 (55,56%)</b>	<b>3 (20%)</b>	<b>0,026</b>
	<i>yadN</i>	17 (62,96%)	13 (86,67%)	0,158
	<i>papAH</i>	15 (55,56%)	4 (26,67%)	0,071
<b>Système d'acquisition de fer</b>	<i>feoB</i>	22 (81,48%)	13 (13,33%)	0,686
	<i>fyuA</i>	26 (96,30%)	12 (80%)	1,22
	<i>chuA</i>	17 (62,96%)	10 (66,67%)	0,816
	<i>irp2</i>	20 (74,07%)	13 (13,33%)	0,451
<b>Protectines</b>	<i>kpsMT II</i>	13 (48,15%)	7 (46,67%)	0,927
	<i>ompT</i>	16 (52,25%)	8 (53,33%)	0,710

MR : Multirésistantes ; Non-MR : Non-multirésistantes

## *Chapitre IV : Discussion*

La résistance aux antibiotiques est une menace croissante pour la santé mondiale, responsable de plus de 700 000 décès par an. Les prévisions des Nations Unies indiquent que ce nombre pourrait atteindre 10 millions par an d'ici 2050, dépassant les taux de mortalité des principales maladies non transmissibles telles que le cancer, le diabète et les maladies cardiaques (Balbina J Plotkin *et al.*, 2022; Bassetti *et al.*, 2017; O'Neill, 2016).

Le dernier rapport de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) de 2024 a classé les entérobactéries résistantes aux  $\beta$ -lactamines, en particulier aux céphalosporines de troisième génération (C3G) et aux carbapénèmes, comme urgence de première catégorie (groupe critique). Cette classification reflète la menace élevée pour la santé publique en raison des traitements limités disponibles, de la forte morbidité et mortalité, des tendances croissantes de résistance aux antibiotiques, et du manque de nouvelles options thérapeutiques. Les infections causées par ces pathogènes sont particulièrement difficiles à prévenir, hautement transmissibles, et peuvent présenter des mécanismes de résistance globaux ainsi que des souches multirésistantes dans certaines populations ou régions géographiques (WHO, 2024). Face à cette situation, une réponse urgente et coordonnée est nécessaire pour contenir cette menace croissante et éviter une crise mondiale.

Notre étude se concentre sur la caractérisation phénotypique et génotypique des entérobactéries résistantes aux C3G isolées dans les établissements de santé de la wilaya de Skikda, à savoir les hôpitaux et les laboratoires privés. En s'appuyant sur des études antérieures ayant adopté une approche similaire (Benammar *et al.*, 2017; Dziri *et al.*, 2019; Gramundi *et al.*, 2023; Nurjadi *et al.*, 2023), cette recherche vise à approfondir les connaissances existantes et à combler les lacunes en analysant spécifiquement les isolats provenant des patients hospitalisés ainsi que des patients non hospitalisés. Cette caractérisation inclut l'analyse des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines, le génotypage, le phylogroupage et l'évaluation de la virulence.

Les isolats provenant de l'hôpital sont attribués aux patients hospitalisés, tandis que ceux provenant de laboratoires privés sont considérés comme provenant de patients externes.

Dans la présente étude, nous avons collecté 82 souches d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (E-RC3G), dont 37 provenant de l'hôpital et 45 de laboratoires privés. Ces résultats corroborent les observations de plusieurs études antérieures (Bhandari *et al.*, 2024; Biguenet *et al.*, 2023; Rhim *et al.*, 2022; Stevanin *et al.*,

2023; Wang *et al.*, 2020), indiquant que les infections à E-RC3G se manifestent à la fois dans les milieux communautaires et hospitaliers.

Nos résultats confirment la prédominance d'*E. coli*, suivie de *K. pneumoniae* et sont en accord avec les observations sur la prévalence de ces espèces parmi les isolats cliniques résistants à de nombreux antibiotiques (Hamprecht *et al.*, 2016; Jalil *et al.* Atbee, 2022). Un rapport de l'OMS sur 22 pays a également souligné un taux élevé de résistance, avec ces deux bactéries parmi les plus fréquentes (Mansouri *et al.*, 2019). De plus, de nombreuses études ont souligné que *E. coli* est l'un des principaux agents pathogènes humains responsables d'une variété d'infections nosocomiales et communautaires (Al-Mayahie *et al.* Kuriashy, 2016; Boutefnouchet *et al.*, 2024; Gramundi *et al.*, 2023; Jeanvoine *et al.*, 2020; Joachim *et al.*, 2023; D. S. Lee *et al.*, 2018; Nabti *et al.*, 2019; Thibaut *et al.*, 2014; Toval *et al.*, 2020).

La prévalence des E-RC3G dans notre hôpital durant la période d'étude était de 23,87 %. Ce taux est comparable à celui rapporté par Aouf *et al.*(2018), qui ont observé 23 % de souches de *Klebsiella pneumoniae* et 5,66 % de souches d'*Escherichia coli* résistantes au céfotaxime, isolées à partir de patients hospitalisés et non hospitalisés à l'Hôpital Universitaire de Benimessous à Alger. Il est également similaire à ceux rapportés dans d'autres régions du monde, notamment au Maroc (21,8 %), en Australie (24,5 %), au Brésil (26 %) et en Italie (23 %) (Belouad *et al.*, 2023; Oliveira *et al.*, 2015; Stevanin *et al.*, 2023; Stewart *et al.*, 2018). Cette convergence souligne que notre région fait face à des défis similaires en matière de résistance aux C3G en milieu hospitalier. Cependant, une étude plus récente réalisée à Batna a rapporté un taux plus élevé d'E-RC3G (38,1 %) (Benammar *et al.*, 2022). Ce qui pourrait refléter des variations locales dans les pratiques de prescription d'antibiotiques, les populations étudiées ou les méthodologies utilisées. Enfin, la détermination de cette prévalence dans les laboratoires privés n'a pas été possible en raison des difficultés à collecter toutes les entérobactéries isolées dans ces laboratoires durant la période de l'étude.

L'admission à l'hôpital et l'exposition antérieure aux C3G sont des facteurs de risque importants contribuant à l'émergence des E-RC3G, en particulier à la cefotaxime (Lee *et al.*, 2014). Ce médicament est couramment prescrit pour traiter diverses infections sévères, tant nosocomiales que communautaires, lorsque la pénicilline est inefficace. Il est utilisé pour les infections des voies respiratoires inférieures, des voies urinaires, des os et des articulations, de

la peau, ainsi que pour les infections génitales. De plus, la cefotaxime est recommandée en association avec d'autres antibiotiques pour le traitement des infections intra-abdominales, telles que la péritonite, les infections du système nerveux central comme la méningite aiguë, ainsi que la septicémie et l'endocardite (Adegoke *et al.*, 2020). En parallèle, la recrudescence des E-RC3G dans les pays africains est également due à la consommation abusive et excessive des C3G pour le traitement des infections bactériennes et pour la prophylaxie post-chirurgicale. Ce mauvais usage est aggravé par la vente non réglementée et la consommation généralisée de ces antibiotiques sans prescription médicale. D'autres facteurs incluent l'absence de stratégies de surveillance des antibiotiques et l'insuffisance des ressources humaines et des soins de santé (Asogwa, 2018).

En Algérie, la prévalence des E-RC3G chez les personnes non hospitalisées est encore méconnue, les études se concentrent principalement sur les milieux hospitaliers. Néanmoins, cette résistance a été observée dans diverses sources communautaires indépendantes des établissements hospitaliers, telles que les animaux, les aliments et l'environnement. Les E-RC3G ont été trouvées dans des échantillons de sol et d'eau à Béjaia (Djenadi *et al.*, 2018), ainsi que dans des fruits et légumes frais provenant des marchés locaux (Mesbah Zekar *et al.*, 2020). Elles ont également été détectées dans des poulets de chair (Yaici *et al.*, 2017), dans des sandwichs achetés dans les rues de la ville (Yaici *et al.*, 2017), et dans des échantillons de sol et d'eau d'irrigation prélevés dans des fermes de la région (Mesbah Zekar *et al.*, 2020). Dans l'Est de l'Algérie, à Souk Ahras, Tebessa et Oum el Bouaghi, ces souches ont été identifiées dans des prélèvements rectaux de bovins (Barour *et al.*, 2019). A Alger, elles ont été retrouvées dans la viande de bœuf hachée fraîche mise en vente (Rebbah *et al.*, 2018) ainsi que dans l'eau de mer (Alouache *et al.*, 2014). A partir de tout cela, on estime que l'environnement (sols ou eau), les animaux ou l'alimentation sont des sources de contamination probables de l'homme et peuvent contribuer à la propagation communautaire des E-RC3G en Algérie. Cette hypothèse est renforcée par les résultats d'une étude menée par Djeflal *et al.* (2017) qui a rapporté que les souches *Salmonella* résistantes à la céfotaxime humaines et aviaires étaient génétiquement liés (avaient même ST), suggérant une origine commune (Djeflal *et al.*, 2017). La monnaie pourrait également servir de véhicule des agents pathogènes, assurant ainsi leur transmission (Akoachere *et al.*, 2014). Ceci est renforcé par les résultats d'une étude récente menée à Batna, qui a confirmé l'existence de bactéries résistantes à la céfotaxime, notamment *E. cloacae* et *E. coli*, dans le dinar algérien provenant des vendeurs de produits alimentaires (Bendjama *et al.*, 2020). De plus, les moyens de transport

peuvent être une source potentielle de contamination bactérienne dans les communautés, ajoutant ainsi un autre vecteur possible pour la propagation des E-RC3G (van der Bij et Pitout, 2012; Yao *et al.*, 2022). Il convient aussi de noter que la résistance aux C3G est généralement le résultat de la production de  $\beta$ -lactamase, principalement BLSE ou AmpC, qui sont souvent à médiation plasmidique : leurs gènes sont principalement localisés sur des plasmides, qui peuvent diffuser facilement entre bactéries et se propager suite à un transfert horizontal et surtout via conjugaison (Mir *et al.*, 2016; Møller *et al.*, 2017).

Notre étude a révélé qu'un pourcentage significatif des E-RC3G provient des urines (n=55, 67,07%), dont 18 isolats (32,73%) de patients hospitalisés et 37 isolats (67,27%) de patients externes. Parmi ces isolats, *E. coli* représente 61,82% (34/55), suggérant son implication dans les infections urinaires d'origine communautaire et hospitalière. Ces observations sont soutenues par de nombreuses études soulignant *E. coli* comme le pathogène prédominant causant les infections des voies urinaires (IVU) entérobactériennes (Aouf *et al.*, 2018; Aziz *et al.*, 2023; Chaudhary *et al.*, 2023; Farfour *et al.*, 2022; Nabti *et al.*, 2019; Yahiaoui *et al.*, 2015; Zagaglia *et al.*, 2022), et corroborent la littérature qui identifie *E. coli* comme responsable de 74,64% des IVU à entérobactéries, dont 80-90% des IVU communautaires et 40% des IVU nosocomiales (Alfaresi *et al.*, 2019). De plus, la majorité des isolats de notre étude impliqués dans les IVU ont été obtenus chez des sujets féminins, une tendance observée dans de nombreuses études (Ait-Mimoune *et al.*, 2022; Aouf *et al.*, 2018; Benmoumou *et al.*, 2023; Bousbia, 2022; Lee *et al.*, 2018). La vulnérabilité des femmes aux IVU peut être attribuée à des facteurs anatomiques, tels que la longueur plus courte de l'urètre féminin, ce qui facilite l'accès des bactéries pathogènes à la vessie, La vulnérabilité des femmes aux infections des voies urinaires (IVU) peut être attribuée à des facteurs anatomiques, tels que la longueur plus courte de l'urètre féminin, facilitant ainsi l'accès des bactéries pathogènes à la vessie, favorisé par la mobilité de ces bactéries. De plus, la proximité de l'anus des voies urogénitales augmente le risque de contamination par des bactéries d'origine intestinale (Czajkowski *et al.*, 2021; Ramos *et al.*, 1996). Environ la moitié des femmes auront au moins une infection urinaire au cours de leur vie, et un tiers nécessiteront un traitement antibiotique pour plus d'un épisode avant l'âge de 24 ans (Foxman, 2002). Il convient également de noter que la majorité des souches isolées à l'hôpital proviennent des patients admis au service d'urologie. Cette prévalence élevée des isolats dans ce service peut expliquer la fréquence accrue des infections urinaires observée dans notre étude.

Notre étude révèle des profils de résistance comparables entre les souches hospitalières et communautaires pour la plupart des antibiotiques testés. Cette homogénéité des profils de résistance peut être attribuée aux mouvements des patients et à la transmission des souches résistantes entre les milieux hospitaliers et communautaires, ainsi qu'aux pratiques de prescription d'antibiotiques (Gupta *et al.*, 2002; Jara *et al.*, 2021; Rosana *et al.*, 2023). Cependant, une exception a été observée pour la gentamicine, avec une résistance significativement plus élevée chez les patients externes, en accord avec les résultats de précédentes études (Akhter et Rizwan, 2021; Frisbie *et al.*, 2022; Gajdács et Urbán, 2019), ce qui pourrait être dû à une utilisation moins surveillée dans les milieux communautaires. De plus, les taux élevés de résistance aux fluoroquinolones (ciprofloxacine) et au triméthoprim-sulfaméthoxazole chez les entérobactéries provenant de patients hospitalisés et non hospitalisés sont en accord avec les résultats des études antérieures (Cantón et Ruiz-Garbajosa, 2011; Nabti *et al.*, 2019; Zurfluh *et al.*, 2015). Cette résistance peut être attribuée à la surprescription, à l'usage inapproprié et à l'automédication de ces antibiotiques, entraînant une forte pression sélective. De plus, la capacité des entérobactéries à échanger des gènes contribue significativement à la propagation de la résistance (Joseph *et al.*, 2023). La susceptibilité accrue des deux souches de l'hôpital et des laboratoires privés à l'amikacine et à la fosfomycine, ainsi que leur faible résistance au chloramphénicol et à la nitrofurantoïne, a été confirmée par des rapports antérieurs (Cho *et al.*, 2015; Graf *et al.*, 2023; Park *et al.*, 2023). Ces résultats suggèrent que ces antibiotiques pourraient constituer des alternatives appropriées pour traiter les infections résistantes aux C3G dans les milieux hospitaliers et communautaires. Enfin, le taux élevé de sensibilité à la colistine chez les souches des deux groupes peut être attribué à son utilisation limitée en thérapie humaine en Algérie, où elle est plus couramment prescrite pour la prévention et le traitement des infections à Enterobacteries chez les animaux (Hamame *et al.*, 2022; Kempf *et al.*, 2016).

Dans la présente étude les isolats de *K. pneumoniae* montrent une résistance accrue à une large gamme d'antibiotiques par rapport à *E. coli*, à savoir à l'amikacine, la nitrofurantoïne, l'ertapénem, l'imipénem, la céfoxitine, la gentamicine, l'amoxicilline/acide clavulanique et la ceftazidime. Ces observations sont corroborées par de nombreuses études récentes, qui démontrent que *K. pneumoniae* présente une résistance supérieure à celle de *E. coli* (Maveke *et al.*, 2024; Seguni *et al.*, 2023). La capacité de *K. pneumoniae* à transférer des gènes de résistance via des vésicules membranaires externes et des plasmides pourrait renforcer sa résistance à divers antibiotiques (Wang *et al.*, 2022). Par ailleurs, au cours de la

pandémie de COVID-19, une augmentation de la résistance aux antibiotiques a été observée chez *K. pneumoniae*, notamment à la gentamicine et à la ceftriaxone, en partie due à l'utilisation accrue d'antibiotiques pour traiter des infections bactériennes secondaires (Lubad *et al.*, 2023).

Dans notre étude, la plupart des souches résistantes à la céfotaxime étaient productrices de BLSE. Ce constat, conforme aux résultats des études de Hamprecht *et al.* (2016) et Benammar *et al.* (2017), qui indiquent que la production de BLSE est le principal mécanisme de résistance aux C3G. Cette constatation renforce l'hypothèse selon laquelle la résistance aux C3G, en particulier à la céfotaxime, sert de marqueur substitut approprié pour identifier les souches produisant des BLSE (Nachimuthu *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2015a). De plus, parmi les trois gènes BLSE ciblés (*blaCTX-M*, *blaSHV*, *blaTEM*), le *blaCTX-M* est le plus prévalent, présent chez 85 % des isolats, ce qui est en accord avec plusieurs études antérieures (Dziri *et al.*, 2019; Hamprecht *et al.*, 2016; Nedjai *et al.*, 2012; Ogbolu *et al.*, 2018). Les gènes *blaCTX-M*, principaux membres de la famille des BLSE, jouent un rôle crucial dans la résistance aux C3G et C4G (Livermore, 2012; Nachimuthu *et al.*, 2020; Rossolini *et al.*, 2008). Leur impact significatif sur la céfotaxime par rapport à la ceftazidime soutient également nos constatations (Edelstein *et al.*, 2003).

Dans notre étude, une faible fréquence des gènes d'AmpC, détectés chez seulement sept souches d'*E. coli*, dont cinq portaient *blaCMY* et deux *blaDHA*. Ce constat est en accord avec les résultats d'Obeng-Nkrumah *et al.* (2023), qui ont trouvé que parmi les 362 souches résistantes aux C3G, 98 % étaient productrices de BLSE de type CTX-M, tandis que seulement 9 isolats (1,2%) portaient les gènes d'AmpC (*blaDHA* ou *blaCMY*) (Obeng-Nkrumah *et al.*, 2023). De plus, plusieurs études antérieures menées en Algérie ont confirmé que parmi les gènes codant pour l'AmpC, le *blaCMY* est le plus fréquent, suivi du *blaDHA*, chez les entérobactéries cliniques isolées de patients hospitalisés et non hospitalisés (Boudjemaa *et al.*, 2019; Gharout-Sait *et al.*, 2015; Nedjai *et al.*, 2012; Souna *et al.*, 2014).

Les souches productrices de BLSE montrent une résistance élevée à la gentamicine par rapport aux souches non BLSE. Cependant, la résistance à la ciprofloxacine et au triméthoprim-sulfaméthoxazole est élevée dans les deux groupes, ce qui est en accord avec plusieurs études (Arundathi *et al.*, 2022; Cantón et Ruiz-Garbajosa, 2011; Joseph *et al.*, 2023; Nabti *et al.*, 2019; Zurfluh *et al.*, 2015). Cette situation reflète l'utilisation non contrôlée et répandue de ces antibiotiques en Algérie, notamment dans le traitement des infections à

BLSE. Elle renforce aussi l'idée que la résistance aux C3G est souvent liée à une résistance à d'autres classes d'antibiotiques en raison de mécanismes partagés ou de résistance associée (Breurec *et al.*, 2016; Hayer *et al.*, 2022). De plus, Une proportion élevée de souches BLSE positives est sensible aux antibiotiques associés aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase, avec 39 % de sensibilité pour l'amoxicilline/acide clavulanique et 59 % pour la pipéracilline/tazobactam. Ainsi, ces deux antibiotiques pourraient constituer des alternatives efficaces pour traiter ces infections. Les études montrent que les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase améliorent l'efficacité des antibiotiques lorsqu'ils sont utilisés en combinaison (Ahmed Kadry *et al.*, 2022; Oman *et al.*, 2023). Kadry *et al.* (2022) ont rapporté que les nouveaux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase, comme l'avibactam, augmentent la susceptibilité, avec une efficacité élevée pour la combinaison ceftazidime/avibactam par rapport aux combinaisons classiques (Ahmed Kadry *et al.*, 2022). Cependant, Luo *et al.* (2021) ont trouvé que ces combinaisons avaient des taux d'échec plus élevés comparés aux carbapénèmes pour les bactériémies à *E. coli* productrices de BLSE, suggérant une efficacité limitée dans ce contexte spécifique (Luo *et al.*, 2021). Le taux de résistance très faible des souches BLSE à la fosfomycine, au chloramphénicol et à l'amikacine, inférieur à 25 %, suggère que ces antibiotiques pourraient être des options thérapeutiques appropriées pour traiter les infections à BLSE.

Dans la présente étude, 70 % des souches sont multirésistantes. Ce résultat corrobore les conclusions de plusieurs études antérieures, qui indiquent que la résistance aux C3G peut être un indicateur d'un profil de résistance étendu, rendant ces bactéries résistantes à plusieurs classes d'antibiotiques (Chang *et al.*, 2022; Ogbolu *et al.*, 2018; Rohde *et al.*, 2018). La majorité des plasmides porteurs de gènes codant pour les BLSE sont associés à une résistance non seulement aux bêta-lactamines, mais aussi à d'autres classes d'antibiotiques, telles que les aminoglycosides et les fluoroquinolones (Yu *et al.*, 2004). Cette multirésistance est probablement due à la coexistence de gènes de résistance à divers antibiotiques au sein des mêmes plasmides, facilitant ainsi le transfert simultané de plusieurs mécanismes de résistance entre bactéries (Nordmann *et al.*, 2012c; Pitout, 2008). Il convient également de noter que cette étude a été réalisée pendant la pandémie de COVID-19, période durant laquelle l'augmentation de la prescription d'antibiotiques a exacerbé le problème de la résistance. En effet, la surutilisation des  $\beta$ -lactamines, souvent attribuée à la gestion des surinfections bactériennes liées à la pandémie, a intensifié la sélection de souches multirésistantes (Chen *et al.*, 2020; Lucien *et al.*, 2021; Rawson *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020).

Dans cette étude, 17 souches résistantes au céfotaxime provenant de patients hospitalisés et non hospitalisés sont résistantes à l'ertapénème. Les études antérieures menées en Algérie se sont principalement concentrées sur la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries cliniques en milieu hospitalier (Tableau 2). Cependant, peu de rapports ont signalé leur émergence dans la communauté chez les patients externes (Abderrahim *et al.*, 2017; Bourafa *et al.*, 2018; Loucif *et al.*, 2018). Les longs séjours à l'hôpital, l'exposition aux antibiotiques, l'utilisation de dispositifs médicaux invasifs et les infections secondaires graves sont les principaux facteurs de risque associés à l'acquisition de souches résistantes aux carbapénèmes en milieu hospitalier. En revanche, l'automédication et l'utilisation excessive d'antibiotiques sont considérées comme les principaux contributeurs à la propagation de ces souches dans la communauté, représentant ainsi un défi important pour la santé publique (Saleem *et al.*, 2019; van Duin et Paterson, 2020).

Dans cette étude, la proportion la plus élevée des personnes atteintes d'infections à entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE) était observée chez ceux âgés de plus de 70 ans (53 %). Ce résultat est en accord avec les observations de plusieurs autres recherches (Aschbacher *et al.*, 2010; Chopra *et al.*, 2012; Nazik *et al.*, 2011; Poulakou *et al.*, 2019; Wilson *et al.*, 2022). Parmi les facteurs expliquant pourquoi les personnes âgées sont plus fréquemment atteintes d'infections à CRE figurent les visites fréquentes à l'hôpital, les séjours prolongés en établissement de santé, ainsi qu'une exposition accrue aux micro-organismes, une réponse immunitaire diminuée, des maladies concomitantes et une mauvaise alimentation (MacLennan, 1998).

Dans cette étude, la carbapénémase de type NDM est apparue comme le mécanisme dominant parmi les souches de CPE provenant aussi bien de l'hôpital et des laboratoires privés, ce qui marque une divergence par rapport à la plupart des études antérieures menées en Algérie, où la  $\beta$ -lactamase de classe D de type OXA-48 était plus fréquemment détectée (Touati et Mairi, 2020). Nos souches de CPE ont été sélectionnées parmi celles résistantes aux C3G. Cette constatation pourrait expliquer la faible prévalence des souches OXA-48 dans cette étude, car les types OXA-48 confèrent généralement une résistance moindre aux C3G et ne présentent une résistance significative que lorsqu'ils sont associés à une autre  $\beta$ -lactamase (BLSE ou AmpC).

Parmi les CRE issues des patients admis dans différents services de l'hôpital Abderrezak-Bouhara, seule la carbapénémase de type NDM a été identifiée, notamment les

deux variantes NDM-1 et NDM-5, avec une prédominance de NDM-5. Une étude menée dans le même établissement hospitalier a signalé la première détection d'une unique souche de *K. pneumoniae* produisant la carbapénémase de type OXA-48 (Mellouk *et al.*, 2017). Plus récemment, Labid *et al.* (2023) ont recherché les carbapénémases chez les Bacilles à Gram négatif (BGN) isolés de l'unité de soins intensifs néonatale du même hôpital, et les gènes de carbapénémase *blaOXA-23* et *blaOXA-51* ont été détectés exclusivement chez les non entérobactéries (*Acinetobacter baumannii*). Cependant, aucune des entérobactéries isolées n'a été confirmée comme productrice de carbapénémase (Labid *et al.*, 2023). Notre étude représente ainsi la première identification d'entérobactéries productrices de carbapénémase de type NDM à Skikda.

En Algérie, les données disponibles concernant l'émergence et la propagation des souches NDM indiquent que la première détection de NDM-5 a eu lieu chez trois isolats d'*E. coli* issus d'échantillons d'urine et de sang collectés à l'hôpital universitaire de Annaba (Sassi *et al.*, 2014). Dans la même ville, deux souches de *K. pneumoniae* produisant le NDM-1 ont été signalées pour la première fois en Algérie (Abderrahim *et al.*, 2017). Plus récemment, des souches d'*Enterobacter cloacae* produisant le NDM-5 ont également été isolées à l'hôpital universitaire de Sétif (Nabti *et al.*, 2022). Au cours de la même période, une souche de *K. pneumoniae* portant le gène *blaNDM-5* et provoquant une infection du pied chez un patient diabétique a également été identifiée à Ouargla (Khaldi *et al.*, 2022). Ces observations confirment la circulation des variantes NDM-1 et NDM-5 dans les établissements hospitaliers en Algérie, reconnues comme prédominantes à l'échelle mondiale. Leur introduction pourrait être associée aux séjours médicaux à l'étranger, notamment en France, en Turquie et en Tunisie. Les patients algériens exposés à ces bactéries lors de soins spécialisés à l'étranger peuvent introduire ces résistances au pays, favorisant leur dissémination dans les établissements de santé.

Selon des rapports antérieurs, NDM-1 a déjà été lié à la communauté de la ville d'Annaba, en Algérie (Abderrahim *et al.*, 2022). Cette variante a également apparu associée à la communauté dans les deux pays voisins Maroc (Poirel *et al.*, 2011) et Tunisie (Sallem *et al.*, 2022). Cependant, nous signalons dans notre étude la première détection de la variante NDM-5 à partir d'une souche clinique chez un patient externe en Algérie. La NDM-5 a également été identifiée précédemment chez des patients non hospitalisés, des individus en bonne santé sans historique hospitalier, ou en milieu communautaire dans plusieurs pays. En

Amérique latine, *E. coli* produisant la NDM-5 a été détectée dans l'urine d'un patient externe (Costa *et al.*, 2021), à partir d'écouvillons rectaux à Rawalpindi, au Pakistan (Habib *et al.*, 2022), dans des échantillons de selles prélevés chez des volontaires en Chine (Shen *et al.*, 2018) et au Tchad (Ouchar Mahamat *et al.*, 2019), chez les femmes enceintes saines à Madagascar (Milenkov *et al.*, 2021) et dans des prélèvements rectaux de pèlerins après le Hajj (Leangapichart *et al.*, 2016). Diverses hypothèses peuvent être envisagées dans cette étude concernant l'émergence de NDM-5 au sein de la communauté, incluant la transmission par le contact direct ou indirect avec des patients hospitalisés ou des animaux ; l'environnement pourrait également constituer un réservoir potentiel. Les entérobactéries productrices de NDM-5 ont été identifiées en Algérie chez des oiseaux migrateurs à longue distance (Loucif *et al.*, 2022), chez les animaux de compagnie, y compris les chiens (Yousfi *et al.*, 2016, 2015) et dans le lait cru (Yaici *et al.*, 2016). Le portage de *bla*NDM-5 par un plasmide conjugable a été confirmé précédemment (Kumwenda *et al.*, 2021), ce qui conforte l'hypothèse de sa transmissibilité à l'homme.

Dans la présente étude, la présence de l'oxacillinase de type OXA-48, a été identifiée chez deux souches provenant de patients non hospitalisés, l'une étant *E. coli* et l'autre *K. pneumoniae*. Deux études antérieures publiées en 2018, ont également signalé l'émergence de ce type de carbapénèmase au sein de la communauté (chez des patients externes), dans le Nord-Est de l'Algérie, à Batna et à Annaba (Bourafa *et al.*, 2018; Loucif *et al.*, 2018). Par ailleurs, cette étude signale la première identification d'un isolat clinique porteur du gène *bla*OXA-244 en Algérie, appartenant à l'espèce *K. pneumoniae*. Il s'agit d'une variante d'OXA-48 avec une seule substitution (Arg214Gly) entraînant une diminution de l'activité de la carbapénèmase (Hoyos-Mallecot *et al.*, 2017). Cette variante a été initialement identifiée en 2012 à Malaga, en Espagne (Oteo *et al.*, 2013). Depuis lors, elle a été observée chez des isolats cliniques et environnementaux, principalement au sein de l'espèce *E. coli*, dans plusieurs autres pays, dont la Russie, l'Allemagne, la France, le Royaume-Uni, l'Égypte, les Pays-Bas, la Colombie, la Turquie et le Liban (European Centre for Disease Prevention and Control, 2021; Hoyos-Mallecot *et al.*, 2017). Une seule étude réalisée en Algérie a signalé la présence de trois souches d'*E. coli* productrices d'OXA-244 dans l'eau de la rivière Summam à Bejaia (Tafoukt *et al.*, 2017). Le gène *bla*OXA-244 est souvent porté par un plasmide conjugatif chez *K. pneumoniae* et *Enterobacter aerogenes*, tandis qu'il est incorporé dans le chromosome chez *E. coli* (ST38) (European Centre for Disease Prevention and Control, 2021; Hoyos-Mallecot *et al.*, 2017). Il est important de souligner aussi que les souches productrices

d'OXA-244 ont une faible activité carbapénèmase et sont donc difficiles à détecter, ce qui entraîne une propagation silencieuse (Hoyos-Mallecot *et al.*, 2017). Il est donc impératif de mener des études additionnelles afin de mieux appréhender la propagation de ce gène en Algérie.

Les résultats de l'antibiogramme ont révélé que, outre leur résistance au bêta-lactamines, plus que la moitié de l'ensemble des CPE de type NDM présentent une résistance à au moins trois autres classes d'antibiotiques, dont les fluoroquinolones (ciprofloxacine), les sulfamides (triméthoprime-sulfaméthoxazole) et un ou deux aminoglycosides. En revanche, les souches OXA-48-like se sont avérées sensibles aux fluoroquinolones et aux aminoglycosides, et l'une d'entre elles est sensible à la ceftazidime. Ces résultats sont cohérents avec d'autres études suggérant que la production de NDM est systématiquement liée à un phénotype multirésistant. Toutefois, la carbapénèmase de type OXA présente souvent une activité réduite envers les carbapénèmes et ne peut engendrer un niveau significatif de résistance que lorsqu'elle est associée à une BLSE (Codjoe et Donkor, 2017; Evans et Amyes, 2014). De plus, les souches produisant l'OXA-48 peuvent montrer une sensibilité aux céphalosporines et présenter des CMI de carbapénèmes moins élevées (Pérez-Blanco *et al.*, 2018; Poirel *et al.*, 2012).

Dans notre étude, parmi les trois CRE produisant de l'AmpC, deux ne produisaient pas de carbapénèmase, tandis que l'un d'entre eux co-produisait une BLSE. Ce résultat concorde avec celui de Abderrahim *et al.* (2022) qui a rapporté qu'environ 83 % des entérobactéries présentant une sensibilité réduite aux carbapénèmes n'étaient pas productrices de carbapénèmase. Cela suggère que la résistance aux carbapénèmes chez les non producteurs de carbapénèmase peut être le résultat de la production de BLSE ou d'enzymes AmpC associée à une perméabilité réduite, résultant d'une modification ou d'une diminution de la régulation des porines, et éventuellement des protéines de liaison à la pénicilline (Doumith *et al.*, 2009; Yamachika *et al.*, 2018).

L'émergence du gène de résistance à la colistine *mcr-1* chez les animaux, notamment les porcs et les bovins, est à l'origine de l'épidémie initiale avant sa propagation à la population humaine (Chopjitt *et al.*, 2024; Lu *et al.*, 2023; Valiakos et Kapna, 2021). Nos résultats montrent que le gène *mcr-1* était absent chez toutes les souches, y compris les trois isolats de *K. pneumoniae* présentant une CMI de colistine de 4 µg/ml. Ce constat est en accord avec les résultats de Belbel *et al.* (2018), suggérant que la résistance à la colistine

observée chez nos isolats est probablement due à des mutations chromosomiques non transmissibles par transfert horizontal de gènes ou à d'autres mécanismes. De plus, le gène *mcr-1* n'a été rapporté chez l'humain que dans très peu d'études antérieures menées en Algérie, à Oran, Sidi Belabess et Sétif (Belbel *et al.*, 2018; Nabti *et al.*, 2019; Yanat *et al.*, 2016). Les principales stratégies de résistance des entérobactéries à la colistine incluent la modification du lipopolysaccharide, la surexpression des pompes à efflux et la production excessive de polysaccharides de capsule (Aghapour *et al.*, 2019). L'inactivation du gène *mgrB*, généralement due à une mutation, est le mécanisme principal induisant la résistance à la colistine chez l'espèce *K. pneumoniae* (Cheng *et al.*, 2015; Giani *et al.*, 2015; Poirel *et al.*, 2015). Ce gène (*mgrB*) une fois exprimé régule négativement les systèmes à deux composants PmrAB et PhoPQ, impliqués dans la modification des LPS, ainsi que la réponse globale des bactéries aux stress environnementale (Cannatelli *et al.*, 2014).

. L'évolution des clones internationaux, tels que *E. coli* ST131, pourrait expliquer les liens clonaux entre les souches des deux milieux. Ce clone, fréquemment associé aux infections urinaires et à la résistance aux céphalosporines de troisième génération par la production de CTX-M15 (Becerra-Aparicio *et al.*, 2023; Vargas-Gutierrez *et al.*, 2024). Ainsi, les clones internationaux peuvent porter des résistances communes, expliquant la présence de profils de résistance similaires dans nos échantillons. Cependant, une limite de notre étude réside dans l'absence de données sur les antécédents d'hospitalisation de certains patients externes, ce qui pourrait expliquer l'acquisition hospitalière de certaines souches et renforcer les liens clonaux observés entre les deux groupes.

Le génotypage a révélé une parenté clonale évidente entre certaines souches des PH et des PE, avec une similitude de 60 %. Cette observation suggère une transmission ou un partage potentiel de souches étroitement apparentées entre l'hôpital et la communauté. Cependant, la présence de cinq souches uniques (singletons) met également en lumière une diversité génétique dans les deux milieux. Ces résultats corroborent les observations de Saeki *et al.* (2020), qui ont mis en évidence une dissémination clonale entre les milieux hospitalier et communautaire, suggérant que certains clones peuvent circuler activement entre ces deux environnements, favorisant l'émergence de clusters clonaux. L'apparition de ces souches singleton, observée également dans l'étude de den Reijer *et al.*(2016), pourrait s'expliquer par des mutations indépendantes ou par des mécanismes d'adaptation spécifiques aux pressions exercées dans les milieux hospitalier et communautaire (Bridier-Nahmias *et al.*, 2021). En

milieu hospitalier, l'utilisation fréquente des antibiotiques favorise la sélection de souches résistantes. En parallèle, dans la communauté, l'automédication exerce une pression sélective différente, contribuant également à la diversité génétique d'*E. coli* (Yar *et al.*, 2022). En plus des mécanismes locaux influençant la diversité génétique, des facteurs globaux, tels que l'émergence et la diffusion de clones internationaux, jouent également un rôle important dans les similitudes observées entre les souches des deux milieux. Par exemple, *E. coli* ST131, fréquemment associé aux infections urinaires et à la résistance aux C3G via la production de CTX-M15 (Becerra-Aparicio *et al.*, 2023; Vargas-Gutierrez *et al.*, 2024), illustre bien comment les souches multirésistantes peuvent circuler et se diversifier dans ces environnements. Ces clones internationaux, porteurs de résistances communes, pourraient expliquer la présence de profils de résistance similaires dans nos échantillons. Ainsi, les clones internationaux peuvent porter des résistances communes, expliquant la présence de profils de résistance similaires dans nos échantillons. Cependant, une limite importante de notre étude réside dans l'absence de données sur les antécédents d'hospitalisation de certains PE. Ainsi, il est possible que certaines souches classées comme provenant de PE soient issues de patients précédemment hospitalisés qui ont contracté l'infection au cours de leur séjour à l'hôpital. Cette limite réduit la possibilité de distinguer clairement entre les souches strictement communautaires et celles d'origine hospitalière, ce qui pourrait affecter l'interprétation des liens clonaux observés.

La présente étude révèle une différence notable dans la distribution des phylogroupes entre les patients hospitalisés et les externes. La majorité des *E. coli* provenant des PH appartiennent aux phylogroupes commensaux A et B1, tandis que le phylogroupe pathogène B2 est davantage répandu parmi les isolats d'*E. coli* des PE. Cette répartition a été confirmée par plusieurs études (Gatya Al-Mayahie *et al.*, 2022; Radera *et al.*, 2022; Zurita *et al.*, 2019). La prédominance des phylogroupes commensaux parmi les souches des PH peut être attribuée à l'exposition fréquente des PH immunodéprimés à divers agents antimicrobiens, ce qui favorise les infections opportunistes à *E. coli*. En outre, les PH vulnérables, souvent atteints d'affections secondaires ou d'un âge avancé, ont généralement un système immunitaire affaibli qui accroît leur sensibilité aux infections (Lara *et al.*, 2017; Tannou *et al.*, 2019). Le manque d'hygiène dans certains hopitaux pourrait également contribuer à la propagation de ces souches, renforçant leur présence parmi les isolats des PH (Bekele *et al.*, 2023). De plus, le phylogroupe B2 présente la plus forte prévalence de souches multirésistantes, par rapport aux autres phylogroupes, ce qui correspond aux résultats de plusieurs études antérieures

menées en Irak et en Iran (Al-Mayahie *et al.*, 2022; Boroumand *et al.*, 2021; M. Mansouri *et al.*, 2022; Moez *et al.*, 2020; Mohammed *et al.*, 2022; Yakhchalian *et al.*, 2024). En revanche, les phylogroupes A, B1, E et F, bien qu'ils soient associés à des résistances à certains antibiotiques, ils présentent des profils moins marqués en termes de multirésistance.

La comparaison du contenu en gènes de virulence entre les souches d'*E. coli* des PH et des PE renforce les résultats obtenus par la classification en phylogroupes. Les souches des PE présentent un contenu en gènes de virulence plus élevé que celles des PH, ce qui pourrait indiquer une pathogénicité potentiellement accrue des souches des PE. Ce constat est en accord avec les résultats de plusieurs études (Derakhshan *et al.*, 2022; Kakian *et al.*, 2019; Radera *et al.*, 2022; Toval *et al.*, 2014). Cela suggère que les infections communautaires peuvent être causées par des souches particulièrement virulentes adaptées à la survie en dehors des milieux hospitaliers (Radera *et al.*, 2022).

Dans notre étude, les facteurs de virulence toxiques étaient plus fréquents chez les souches d'*E. coli* des PE par rapport à celles des PH, à l'exception du gène *traT*. Toutefois, les différences n'étaient pas significatives. La protéine *traT*, codée par les plasmides conjugatifs de type F, joue un rôle crucial dans la protection des cellules bactériennes contre la réponse immunitaire de l'hôte, notamment contre la destruction médiée par le complément sérique, soulignant son importance dans la résistance sérique, essentielle pour la survie bactérienne dans la circulation sanguine et l'évasion des défenses immunitaires de l'hôte (Lim *et al.*, 2022). Ici, ce gène a été trouvé à une fréquence élevée chez les souches provenant des PH, ce qui est en accord avec les observations précédentes (Radera *et al.*, 2022), suggérant que son rôle est moins critique dans les infections communautaires mais significatif dans les infections acquises à l'hôpital.

La prévalence des systèmes d'acquisition du fer *feoB* et *irp2* chez les *E. coli* des PH et des PE n'a montré aucune différence, contrairement aux gènes *fyuA* et *chuA*. Le gène *fyuA*, détecté chez 90,48 % des souches, était significativement plus fréquent chez les PH. Cette observation est corroborée par des recherches antérieures, qui ont également mis en évidence une prévalence accrue de *fyuA* chez les PH (Fonseca-Martínez *et al.*, 2023). Les résultats de Karam *et al.* (2018) renforcent ces données en rapportant une association significative entre la résistance à la ceftazidime et au céfotaxime et la présence du gène *fyuA* (Karam *et al.*, 2018). Le gène *fyuA* est essentiel pour la virulence bactérienne, car il code pour des protéines qui facilitent l'acquisition du fer et contribuent à la pathogénicité (Rakin et Heesemann, 1995).

L'association entre le gène *fyuA* et la résistance aux C3G, particulièrement en milieu hospitalier, peut s'expliquer par son rôle dans l'absorption du fer. Ce mécanisme favorise la survie bactérienne et l'adaptation en milieu de forte pression antibiotique, offrant ainsi un avantage sélectif aux bactéries.

Concernant le gène *chuA*, il est significativement associé aux souches d'*E. coli* des PE, ce qui est en accord avec d'autres études (Shahid et Yousif, 2022; Toval *et al.*, 2020). Cette association indique que ces souches communautaires expriment davantage le gène *chuA* pour optimiser l'acquisition du fer, essentiel à leur survie et virulence. En milieu communautaire, où la pression hospitalière est moindre, cette adaptation leur permet de mieux concurrencer pour les nutriments. Le gène *chuA* joue un rôle clé dans l'acquisition du fer en codant pour une protéine impliquée dans la réception du hème, un complexe contenant du fer, essentiel à la survie dans des environnements pauvres en fer (Sy et Tree, 2022).

Les facteurs de virulence de surface, tels que les adhésines, sont cruciaux pour la colonisation du tractus urinaire par les bactéries, en facilitant leur fixation aux surfaces grâce à des domaines de liaison spécifiques (Graham *et al.*, 2024). Dans cette étude, le gène *yadN* prédomine chez les souches d'*E. coli* des PE, suivi des gènes *Pap*, également fréquents mais légèrement plus représentés chez les PE. Une majorité des souches portant ces gènes étaient responsables d'infections urinaires, avec environ 78 % des souches pathogènes issues des phylogroupes B2 ou D (Annexe 5). Environ 83 % des souches porteuses de gènes *pap* étaient multi-résistantes. Ces résultats corroborent des études antérieures montrant une fréquence élevée des gènes *pap* chez les souches d'*E. coli* pathogènes, responsables d'infections urinaires, tant hospitalières que communautaires. (De Souza *et al.*, 2019; Radera *et al.*, 2022; Kudinha et Kong, 2022; Yahiaoui *et al.*, 2015; Yazdanpour *et al.*, 2020). Une autre étude a également révélé que le gène *pap* est associé aux phylogroupes B2 ou D chez les souches d'*E. coli* impliquées dans les infections urinaires féminines ( Staji *et al.*, 2016). Une étude plus récente a indiqué que les souches d'*E. coli* du phylogroupe B2 résistantes aux C3G sont souvent porteuses du gène *papGII* ainsi que d'autres facteurs de virulence, confirmant ainsi leur pouvoir pathogène (Mansouri *et al.*, 2022).

Les souches du phylogroupe B2 dans la présente étude, qu'elles proviennent des PH ou des PE, présentent une abondance plus élevée de gènes de virulence par rapport aux souches des autres phylogroupes. Ces résultats corroborent ceux de Hyun *et al.* (2021), qui ont observé une association plus marquée entre le phylogroupe B2 et les facteurs de virulence (Hyun *et*

*al.*, 2021). Les souches du phylogroupe B2 d'*E. coli* possèdent des mécanismes génétiques spécifiques qui augmentent leur virulence (Hogins *et al.*, 2023). Elles présentent des modèles d'expression génique distincts et portent des facteurs de virulence essentiels tels que les systèmes de sécrétion, les fimbriae, et les toxines (Sun *et al.*, 2021). Plusieurs gènes comme *malX*, *papG*, *usp*, et *eae*, ainsi que l'opéron *nhaAR*, sont particulièrement associés à la virulence des souches B2, influençant leur pathogénicité et leur capacité à provoquer des infections extra-intestinales (Lescat *et al.*, 2013; M. Mansouri *et al.*, 2022).

*Conclusion et perspectives*

En conclusion, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux C3G figurent parmi les principales espèces d'entérobactéries responsables d'infections, qu'elles surviennent chez les patients hospitalisés ou les patients externes. Ces germes démontrent une résistance accrue à de nombreux antibiotiques, notamment ceux qui en principe sont réservés au traitement des infections sévères ou ceux de dernier recours à savoir les carbapénèmes et, dans une moindre mesure, à la colistine. Les mécanismes de résistance associés à ces agents antibactériens sont en constante évolution, soulignant l'importance épidémiologique cruciale de détecter ces changements.

La présente étude consolide les conclusions de plusieurs études antérieures en mettant en lumière que la principale cause de résistance aux C3G à l'intérieur et à l'extérieur de l'hôpital de la ville de Skikda est attribuable à la production d'enzymes  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) de type CTX-M. De plus, cette étude met en évidence la détection de carbapénémases de types NDM et OXA-48 à Skikda, avec une prévalence notable de NDM-1 et NDM-5. Cette recherche est la première en Algérie à détecter le gène *blaOXA-244* chez un être humain, et aussi la première à identifier une souche *K. pneumoniae* productrice de NDM-5 dans la communauté. Ceci souligne la nécessité impérieuse d'une prompt intervention pour contrôler la propagation de ces infections.

Dans notre étude, la majorité des entérobactéries résistantes aux C3G ont montré un profil de multirésistance. La propagation de ces bactéries au sein de la communauté constitue une menace sérieuse pour la santé publique, augmentant le risque d'infections associées aux soins et compromettant l'efficacité des traitements. De plus, la présence de ces bactéries dans la communauté accroît le risque de transmission interpersonnelle, ce qui aggrave la situation.

Une parenté clonale entre certaines souches communautaires et hospitalières a été observée dans cette étude, suggérant une origine commune ainsi qu'une possible transmission entre ces deux milieux. La diversité génétique observée et les dynamiques complexes de dissémination accentuent la nécessité de recherches plus approfondies et d'une adaptation des stratégies de gestion des infections.

Cette étude met également en lumière la pathogénicité et la virulence accrues des souches d'*E. coli* isolées chez les patients externes par rapport à celles des patients hospitalisés. Cela suggère que ces souches possèdent des caractéristiques plus robustes en termes de virulence. Ces observations soulignent la nécessité d'une surveillance accrue et

d'une gestion adaptée des infections à *E. coli* dans les contextes communautaires, afin de mieux comprendre et contrer leur potentiel pathogène.

Afin de limiter la dissémination des souches multirésistantes aux antibiotiques dans les établissements de santé et la communauté, il est essentiel de mettre en œuvre des mesures rigoureuses de prévention et de contrôle des infections. Cela inclut l'utilisation judicieuse des antibiotiques, le renforcement des pratiques d'hygiène et l'établissement de réseaux de surveillance de la résistance. L'hygiène des mains, en particulier, demeure une mesure fondamentale qui doit être strictement respectée non seulement par le personnel soignant, mais aussi par les patients et leurs visiteurs. De plus, le port d'équipements de protection individuelle, tels que des gants et des blouses, lors des soins aux patients infectés, ainsi que leur isolement dans des unités dédiées lorsque cela est possible, sont indispensables pour réduire les risques de transmission croisée.

Par ailleurs, la désinfection rigoureuse des surfaces et du matériel médical, combinée à des formations régulières pour sensibiliser le personnel soignant aux précautions standard et additionnelles, constitue un élément clé dans la lutte contre la dissémination des bactéries multirésistantes. Il est tout aussi crucial de sensibiliser la communauté à l'importance des mesures d'hygiène, telles que le lavage fréquent des mains et une manipulation sécurisée des aliments, afin de prévenir la transmission interpersonnelle. Enfin, la mise en place d'un système de surveillance robuste permettant de détecter rapidement les mécanismes de résistance aux C3G et aux carbapénèmes, associée à un dépistage régulier alliant des méthodes phénotypiques et moléculaires, est nécessaire pour garantir une intervention précoce et efficace.

Ainsi, une approche intégrée impliquant une collaboration entre les professionnels de santé, les autorités sanitaires, et la communauté est indispensable pour freiner la propagation de ces bactéries et préserver l'efficacité des traitements antimicrobiens.

En perspective de cette étude, il serait intéressant de :

- Caractériser la transférabilité des gènes de résistance afin de comprendre les mécanismes de transfert horizontal entre souches hospitalières et communautaires, et évaluer le potentiel de dissémination de la résistance aux antibiotiques dans ces deux environnements.

- Caractériser les plasmides porteurs de gènes de résistance aux antibiotiques pour mieux appréhender leur rôle dans la propagation de la résistance.
- Etudier les facteurs de risque liés à la transmission des gènes de résistance entre l'hôpital et la communauté afin de comprendre la dynamique de la résistance aux antibiotiques en milieu hospitalier et communautaire.
- Contribuer par le biais de la vulgarisation scientifique à l'amélioration des techniques de diagnostic des entérobactéries productrices de bêta-lactamases, notamment celles des carbapénémases, qui ne sont pas correctement identifiées par les institutions de santé en Algérie. Il est particulièrement important de noter que certains carbapénémases de type oxacillinase sont difficiles à détecter et hydrolysent faiblement les carbapénèmes et peuvent de ce fait se propager silencieusement. La sensibilisation des professionnels de santé et la proposition d'alternatives innovantes permettront d'optimiser la surveillance et les stratégies de traitement.
- Utiliser des techniques biotechnologiques modernes, telles que le séquençage du génome entier (WGS) et le séquençage de nouvelle génération (NGS) pour approfondir notre analyse des souches d'*E. coli*.

## *Références bibliographiques*

1. Abbas, Y. A., & Radhi, G. F. (2016). Rapid Identification Of *Enterobacter Spp.* Isolated From Hospitals In Basrah Province By Automated System (Vitek® 2 Compact). *International Journal of Micro Biology, Genetics and Monocular Biology Research*, 2(2), 9-20.
2. Abderrahim, A., Djahmi, N., Loucif, L., Nedjai, S., Chelaghma, W., Gameci-Kirane, D., Dekhil, M., Lavigne, J.-P., & Pantel, A. (2022). Dissemination of OXA-48- and NDM-1-Producing Enterobacterales Isolates in an Algerian Hospital. *Antibiotics*, 11(6), 750. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060750>
3. Abderrahim, A., Djahmi, N., Pujol, C., Nedjai, S., Bentakouk, M. C., Kirane-Gacemi, D., Dekhil, M., Sotto, A., Lavigne, J.-P., & Pantel, A. (2017). First Case of NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Annaba University Hospital, Algeria. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 23(7), 895–900. <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0213>
4. Abdulateef, S. A., Aal Owaif, H. A., & Hussein, M. H. (2023). Importance of Virulence Factors in Bacterial Pathogenicity: A Review. *International Journal Of Medical Science And Clinical Research Studies*, 03(04). <https://doi.org/10.47191/ijmscrs/v3-i4-35>
5. Adegoke, A. A., Madu, C. E., Aiyegoro, O. A., Stenström, T. A., & Okoh, A. I. (2020). Antibigram and beta-lactamase genes among cefotaxime resistant *E. coli* from wastewater treatment plant. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 9(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-0702-4>
6. Agabou, A., Pantel, A., Ouchenane, Z., Lezzar, N., Khemissi, S., Satta, D., Sotto, A., & Lavigne, J.-P. (2014). First description of OXA-48-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone ST131 from patients hospitalised at a military hospital in Algeria. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 33(9), 1641–1646. <https://doi.org/10.1007/s10096-014-2122-y>
7. Aggoune, N., Tali-Maamar, H., Assaous, F., Benamrouche, N., Naim, M., & Rahal, K. (2014). Emergence of plasmid mediated carbapenemase OXA-48 in a *Klebsiella pneumoniae* strain in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2(4), 327–329. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2014.06.001>
8. Aggoune, N., Tali-Maamar, H., Assaous, F., Guettou, B., Laliem, R., Benamrouche, N., Zerouki, A., Naim, M., & Rahal, K. (2018). Wide spread of oxa-48-producing enterobacteriaceae in algerian hospitals: A four years' study. *Journal of*

- Infection in Developing Countries*, 12(11), 1039–1044.  
<https://doi.org/10.3855/jidc.9692>
9. Aghapour, Z., Gholizadeh, P., Ganbarov, K., Bialvaei, A. Z., Mahmood, S. S., Tanomand, A., Yousefi, M., Asgharzadeh, M., Yousefi, B., & Kafil, H. S. (2019). Molecular mechanisms related to colistin resistance in Enterobacteriaceae. *Infection and Drug Resistance*, 12, 965–975. <https://doi.org/10.2147/IDR.S199844>
  10. Ahmed Kadry, A., El-Antrawy, M. A., & El-Ganiny, A. M. (2022). Management of clinical infections of *Escherichia coli* by new  $\beta$ -lactam/  $\beta$ -lactamase inhibitor combinations. *Iranian Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.18502/ijm.v14i4.10232>
  11. Ait-Mimoune, N., Hassaine, H., & Boulanoir, M. (2022). Bacteriological profile of urinary tract infections and antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* in Algeria. *Iranian Journal of Microbiology*, 14(2), 156–160. <https://doi.org/10.18502/ijm.v14i2.9180>
  12. Akhter, S., & Rizwan, A. S. M. (2021). Antibiotic Resistance Pattern of Common Uropathogens among Adult Inpatients of a Tertiary Teaching Hospital. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*, 59–65. <https://doi.org/10.9734/jammr/2021/v33i430834>
  13. Akoachere, J. F. T. K., Gaelle, N., Dilonga, H. M., & Nkuo-Akenji, T. K. (2014). Public health implications of contamination of Franc CFA (XAF) circulating in Buea (Cameroon) with drug resistant pathogens. *BMC research notes*, 7, 1-13.
  14. Aktaş, Z., Kayacan, C., & Oncul, O. (2012). In vitro activity of avibactam (NXL104) in combination with  $\beta$ -lactams against Gram-negative bacteria, including OXA-48  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39(1), 86–89. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.09.012>
  15. Albiger, B., Glasner, C., Struelens, M. J., Grundmann, H., Monnet, D. L., & European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) working group. (2015). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: Assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveillance : Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin*, 20(45). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2015.20.45.30062>
  16. Alfaresi, M., Hassan, K., & Alnjadat, R. M. H. (2019). Single-Dose Fosfomycin Trometamol Versus Other Antimicrobial Regimens For Treatment Of Uncomplicated Lower Urinary Tract Infection: A Systematic Review And Meta-

- Analysis. *The Open Microbiology Journal*, 13(1).  
<https://doi.org/10.2174/1874285801913010193>
17. Ali, H. R. H., Ali, R., Batakoushy, H. A., & Derayea, S. M. (2017). Spectroscopic analysis and antibacterial evaluation of certain third generation cephalosporins through metal complexation. *Analytical Chemistry Letters*, 7(4), 445–457. <https://doi.org/10.1080/22297928.2017.1366868>
  18. Al-Mayahie, S. M. G., & Al Kuriashy, J. J. H. (2016). Distribution of ESBLs among *Escherichia coli* isolates from outpatients with recurrent UTIs and their antimicrobial resistance. *Journal of Infection in Developing Countries*, 10(6), 575–583. <https://doi.org/10.3855/jidc.6661>
  19. Al-Mayahie, S. M. G., Al-Guranie, D. R. T., Hussein, A. A., & Bachai, Z. A. (2022). Prevalence of common carbapenemase genes and multidrug resistance among uropathogenic *Escherichia coli* phylogroup B2 isolates from outpatients in Wasit Province/ Iraq. *PLOS ONE*, 17(1), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262984>
  20. Alouache, S., Estepa, V., Messai, Y., Ruiz, E., Torres, C., & Bakour, R. (2014). Characterization of ESBLs and associated quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from an urban wastewater treatment plant in Algeria. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 20(1), 30–38. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0264>
  21. Alteri, C. J., & Mobley, H. L. T. (2007). Quantitative profile of the uropathogenic *Escherichia coli* outer membrane proteome during growth in human urine. *Infection and Immunity*, 75(6), 2679–2688. <https://doi.org/10.1128/IAI.00076-07>
  22. Ambler, R. P. (1980). The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 289(1036), 321–331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
  23. Ambrosi, C., Sarshar, M., Aprea, M. R., Pompilio, A., Di Bonaventura, G., Strati, F., Pronio, A., Nicoletti, M., Zagaglia, C., Palamara, A. T., & Scribano, D. (2019). Colonic adenoma-associated *Escherichia coli* express specific phenotypes. *Microbes and Infection*, 21(7), 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.02.001>
  24. Antimicrobial Resistance Collaborators. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *Lancet (London, England)*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)

25. Aouf, A., Gueddi, T., Djeghout, B., & Ammari, H. (2018). Frequency and susceptibility pattern of uropathogenic Enterobacteriaceae isolated from patients in Algiers, Algeria. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 12(04), 244–249. <https://doi.org/10.3855/jidc.10017>
26. Aquino-Andrade, A., Merida-Vieyra, J., Arias de la Garza, E., Arzate-Barbosa, P., & De Colsa Ranero, A. (2018). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Mexico: Report of seven non-clonal cases in a pediatric hospital. *BMC Microbiology*, 18(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1166-z>
27. Arcari, G., Di Lella, F. M., Bibbolino, G., Mengoni, F., Beccaccioli, M., Antonelli, G., Faino, L., & Carattoli, A. (2020). A Multispecies Cluster of VIM-1 Carbapenemase-Producing Enterobacterales Linked by a Novel, Highly Conjugative, and Broad-Host-Range IncA Plasmid Forebodes the Reemergence of VIM-1. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(4), e02435-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.02435-19>
28. Armand-Lefèvre, L., Andremont, A., & Ruppé, E. (2018). Travel and acquisition of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Medecine Et Maladies Infectieuses*, 48(7), 431–441. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2018.02.005>
29. Armbruster, C. E., & Mobley, H. L. T. (2012). Merging mythology and morphology: The multifaceted lifestyle of *Proteus mirabilis*. *Nature Reviews. Microbiology*, 10(11), 743–754. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2890>
30. Armstrong, T., Fenn, S. J., & Hardie, K. R. (2021). JMM Profile: Carbapenems: a broad-spectrum antibiotic. *Journal of Medical Microbiology*, 70(12), 001462. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001462>
31. Arredondo-Alonso, S., Blundell-Hunter, G., Fu, Z., Gladstone, R. A., Fillol-Salom, A., Loraine, J., ... & McCarthy, A. J. (2023). Evolutionary and functional history of the *Escherichia coli* K1 capsule. *Nature Communications*, 14(1), 3294. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39052-w>
32. Arumugham VB, Gujarathi R, Cascella M. Third-Generation Cephalosporins. 2023 Jun 4. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID : 31751071.
33. Arundathi, H. A., Prakash, N., Halesh, H. L., & Siddesh, K. C. (2022). Prevalence of High Level Gentamicin Resistance among the Clinical Isolates of Enterococci Species. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 16(2), 1004–1009. <https://doi.org/10.22207/JPAM.16.2.23>

34. Aschbacher, R., Pagani, L., Doumith, M., Pike, R., Woodford, N., Spoladore, G., Larcher, C., & Livermore, D. M. (2010). Metallo- $\beta$ -lactamases among Enterobacteriaceae from routine samples in an Italian tertiary-care hospital and long-term care facilities during. *Clinical Microbiology and Infection*, *17*(2), 181–189. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03225.x>
35. Asogwa, I. E. (2018). Third-Generation Cephalosporin-Resistant Enterobacteriaceae in Africa. *Archives of Pharmacy Practice*, *9*(1), 1–3.
36. Chantratita, N., Su, K. K., Tribuddharat, C., & Aung, N. M. (2024). Enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PCR analysis as a trace for *Burkholderia pseudomallei* in Myanmar. *bioRxiv*, 2024-02. <https://doi.org/10.1101/2024.02.15.580599>
37. Aziz, E., Abdeljabbar, R., Chaib, Y., & Aouane, M. (2023). Study of the biochemical characteristics of Enterobacteriaceae isolated from patients at the Sidi Kacem provincial hospital, Morocco. *International Journal of Chemical and Biochemical Science*, *24*(4), 16-24.
38. Baba Ahmed, Z., & Arlet, G. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie*, *62*(3), 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2014.01.005>
39. Babar, Z. U., Dodani, S. K., & Nasim, A. (2021). Treatment outcome and adverse effects of colistin in adult patients with carbapenem-resistant gram-negative bacteremia from Pakistan. *International Journal of Infectious Diseases*, *106*, 171–175. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.03.004>
40. Bagley, S. T. (1985). Habitat association of *Klebsiella* species. *Infection Control*, *6*(2), 52–58. <https://doi.org/10.1017/S0195941700062603>
41. Bakour, S., Garcia, V., Loucif, L., Brunel, J.-M., Gharout-Sait, A., Touati, A., & Rolain, J.-M. (2015). Rapid identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a modified Carba NP test. *New Microbes and New Infections*, *7*, 89–93. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2015.07.001>
42. Bakour, S., Sahli, F., Touati, A., & Rolain, J.-M. (2015). Emergence of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* ST512 isolated from cerebrospinal fluid of a child in Algeria. *New Microbes and New Infections*, *3*, 34–36. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2014.09.001>

43. Balbina J Plotkin, Alexis Borrelli, Matthew Erbst, Victoria Zheng, Monika I Konaklieva, Nicholas Schileru, & Ira M Sigar. (2022). Multifunctionality of statins as antimicrobials. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 11(3), 001–012. <https://doi.org/10.30574/wjbphs.2022.11.3.0114>
44. Baraniak, A., Izdebski, R., Fiett, J., Gawryszewska, I., Bojarska, K., Herda, M., Literacka, E., Żabicka, D., Tomczak, H., Pewińska, N., Szarata, M., Ozorowski, T., Milner, A., Hryniewicz, W., & Gniadkowski, M. (2016). NDM-producing Enterobacteriaceae in Poland, 2012-14: Inter-regional outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST11 and sporadic cases. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(1), 85–91. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv282>
45. Barlow, M., & Hall, B. G. (2003). Experimental prediction of the evolution of cefepime resistance from the CMY-2 AmpC beta-lactamase. *Genetics*, 164(1), 23–29. <https://doi.org/10.1093/genetics/164.1.23>
46. Barour, D., Berghiche, A., & Boulebda, N. (2019). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from cattle in Eastern Algeria. *Veterinary World*, 12(8), 1195-1203. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1195-1203>
47. Bassetti, M., Poulakou, G., Ruppe, E., Bouza, E., Van Hal, S. J., & Brink, A. (2017). Antimicrobial resistance in the next 30 years, humankind, bugs and drugs: A visionary approach. *Intensive Care Medicine*, 43(10), 1464–1475. <https://doi.org/10.1007/s00134-017-4878-x>
48. Bauernfeind, A., Chong, Y., & Schweighart, S. (1989). Extended broad spectrum beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* including resistance to cephamycins. *Infection*, 17(5), 316–321. <https://doi.org/10.1007/BF01650718>
49. Becerra-Aparicio, F., Gómez-Zorrilla, S., Hernández-García, M., Gijón, D., Siverio, A., Berbel, D., Sánchez-Carrillo, C., Cercenado, E., Rivera, A., De Malet, A., Xercavins, M., Ruiz De Gopegui, E., Canoura-Fernández, L., Martínez, J. A., Seral, C., Del Pozo, J. L., Cotarelo, M., Díaz-Regañón, J., Cantón, R., ... Ruiz-Garbajosa, P. (2023). Significant increase of CTX-M-15-ST131 and emergence of CTX-M-27-ST131 *Escherichia coli* high-risk clones causing healthcare-associated bacteraemia of urinary origin in Spain (ITUBRAS-2 project). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 78(9), 2291–2296. <https://doi.org/10.1093/jac/dkad234>
50. Bedenić, B., Slade, M., Starčević, L. Ž., Sardelić, S., Vranić-Ladavac, M., Benčić, A., ... & Tambić-Andrašević, A. (2018). Epidemic spread of OXA-48 beta-

- lactamase in Croatia. *Journal of Medical Microbiology*, 67(8), 1031-1041.  
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.000777>
51. Bekele, T., Assefa, A., Verstraete, L., Desta, A. F., Al-Mulla, T., Goyol, K., & Baye, K. (2023). Water, sanitation, and hygiene in selected health facilities in Ethiopia: risks for healthcare acquired antibiotic resistant infections. *medRxiv*, 2023-07. <https://doi.org/10.1101/2023.07.12.23292549>
  52. Belbel, Z., Lalaoui, R., Bakour, S., Nedjai, S., Djahmi, N., & Rolain, J. M. (2018). First report of colistin resistance in an OXA-48- and a CTX-M-15 producing *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate in Algeria due to PmrB protein modification and mgrB inactivation. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 14, 158–160. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.06.014>
  53. Bell, J. R. (2008). A Simple Way to Treat PCR Products Prior to Sequencing Using ExoSAP-IT. *BioTechniques*, 44(6), 834–834. <https://doi.org/10.2144/000112890>
  54. Belouad, E. M., Benaissa, E., El Mrimar, N., Bssaibis, F., Maleb, A., & Elouennass, M. (2023). Predominance of OXA-48 Carbapenemase-Producing Enterobacterales in a Moroccan Hospital. *International Journal of Microbiology*, 2023(1), 8581883. <https://doi.org/10.1155/2023/8581883>
  55. Benammar, S., Benmehidi, M., Bouziane, F., Boukhalifa, S., & Makhloufi, M. (2017). Qu'en est- il de la résistance des entérobactéries aux C3G en ville et à l'hôpital? *Médecine et Maladies Infectieuses*, 47(4), S29–S30. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2017.03.071>
  56. Bendjama, E., Loucif, L., Chelaghma, W., Attal, C., Bellakh, F. Z., Benaldjia, R., Kahlat, I., Meddour, A., & Rolain, J.-M. (2020). First detection of an OXA-48-producing *Enterobacter cloacae* isolate from currency coins in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 23, 162–166. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.09.003>
  57. Benmoumou, S., Hamaidi-Chergui, F., Bouznada, K., Bouras, N., Bakli, M., & Meklat, A. (2023). Antibiotic Resistance Pattern of Strains Isolated from Community Urinary Tract Infections in Algiers, Algeria. *Advanced Research in Life Sciences*, 7(1), 46–53. <https://doi.org/10.2478/arls-2023-0006>
  58. Bezerra, B. M. S., Dantas de Mendonça Y Araujo, S. E., Cordeiro de Macêdo, A., Costa, K. M. N., Sato, M. R., & Oshiro-Junior, J. A. (2022). Potential Application of Cephalosporins Carried in Organic or Inorganic Nanosystems against Gram-

- Negative Pathogens. *Current Medicinal Chemistry*, 29(31), 5212–5229. <https://doi.org/10.2174/0929867329666220329201817>
59. Bhandari, A., Khatiwada, S., Sharma, A., Aryal, S. C., Shrestha, R., Bimali, N. K., Lekhak, B., & Pant, N. D. (2024). Prevalence of drug resistant Enterobacteriaceae in a Nepalese tertiary care hospital. *PLOS Global Public Health*, 4(1), XXXXXX. <https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0000858>
60. Bhonchal Bhardwaj, S. (Ed.). (2022). *Enterobacteria*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98173>
61. Biedenbach, D. J., Kazmierczak, K., Bouchillon, S. K., Sahn, D. F., & Bradford, P. A. (2015). In vitro activity of aztreonam-avibactam against a global collection of Gram-negative pathogens from 2012 and 2013. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(7), 4239–4248. <https://doi.org/10.1128/AAC.00206-15>
62. Biguenet, A., Bouxom, H., Bertrand, X., & Slekovec, C. (2023). Antibiotic resistance in elderly patients: Comparison of Enterobacterales causing urinary tract infections between community, nursing homes and hospital settings. *Infectious Diseases Now*, 53(1), 104640. <https://doi.org/10.1016/j.idnow.2022.12.005>
63. Boivin, S., Caux, C., Soucy, C., & Allard, A. (2016). Les entérobactéries productrices de carbapénémases. *Prévention des infections, s'unir pour prévenir*, 13(5), p53-56
64. Boroumand, M. B., Naghmachi, M., & Ghatee, M. A. (2021). Detection of phylogenetic groups and drug resistance genes of *Escherichia coli* causing urinary tract infection in southwest Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 14(2), 1-9. <https://doi.org/10.5812/jjm.112547>
65. Boudjemaa, H., Allem, R., Fonkou, M. D. M., Zouagui, S., Khennouchi, N. C. E. H., & Kerkoud, M. (2019). Molecular drivers of emerging multidrug resistance in *Proteus mirabilis* clinical isolates from Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 18, 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.01.030>
66. Bouguenoun, W., Bakour, S., Bentorki, A. A., Al Bayssari, C., Merad, T., & Rolain, J. M. (2016). Molecular epidemiology of environmental and clinical carbapenemase-producing Gram-negative bacilli from hospitals in Guelma, Algeria: Multiple genetic lineages and first report of OXA-48 in *Enterobacter cloacae*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 7, 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.08.011>

67. Boulahouat, M., & Aliziane, M. O. (2020). Le coût économique et social des infections nosocomiales en Algérie. 430–411, (1)11, *مجلة الإقتصاد الجديد*, <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/105748>
68. Bourafa, N., Chaalal, W., Bakour, S., Lalaoui, R., Boutefnouchet, N., Diene, S. M., & Rolain, J.-M. (2018). Molecular characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli clinical isolates in Algeria. *Infection and Drug Resistance*, 11, 735–742. <https://doi.org/10.2147/IDR.S150005>
69. BOUSBIA, S. (2022). Antibiotic resistance profile of Escherichia Coli isolated from patients with urinary tract infections. *International Journal of Sciences and Natural Ressources*, 1(1),7-15. <https://doi.org/10.58205/ijnsr.v1i1.197>
70. Boutefnouchet, C., Aouras, H., Khennouchi, N. C. E. H., Berredjem, H., Rolain, J.-M., & Hadjadj, L. (2024). Algerian postcaesarean surgical site infections: A cross-sectional investigation of the epidemiology, bacteriology, and antibiotic resistance profile. *American Journal of Infection Control*, 52(4), 456–462. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.09.022>
71. Bradford, P. A. (2001). Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 933–951. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>
72. Brahmia, S., Lalaoui, R., Nedjai, S., Djahmi, N., Chettibi, S., Rolain, J.-M., & Bakour, S. (2021). First Clinical Cases of KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* ST258 in Algeria and Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST101 Harboring bla OXA-48 Gene in the Urology Department of Annaba Hospital. *Microbial Drug Resistance*, 27(5), 652–659. <https://doi.org/10.1089/mdr.2020.0080>
73. Breurec, S., Bouchiat, C., Sire, J. M., Moquet, O., Bercion, R., Cisse, M. F., ... & Garin, B. (2016). High third-generation cephalosporin resistant Enterobacteriaceae prevalence rate among neonatal infections in Dakar, Senegal. *BMC infectious diseases*, 16, 1-7. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1935-y>
74. Bridier-Nahmias, A., Launay, A., Bleibtreu, A., Magnan, M., Walewski, V., Chatel, J., ... & Tenailon, O. (2021). *Escherichia coli* genomic diversity within extraintestinal acute infections argues for adaptive evolution at play. *MSphere*, 6(1), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/mSphere.01176-20>
75. Brun-Buisson, C., Legrand, P., Philippon, A., Montravers, F., Ansquer, M., & Duval, J. (1987). Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins

- during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet (London, England)*, 2(8554), 302–306. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(87\)90891-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(87)90891-9)
76. Buckle, J. (2015). Chapter 7—Infection. In J. Buckle (Ed.), *Clinical Aromatherapy (Third Edition)* (pp. 130–167). Churchill Livingstone. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5440-2.00007-3>
77. Bui, T., & Preuss, C. V. (2023). Cephalosporins. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551517/>
78. Bush, K., & Bradford, P. A. (2016).  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8), a025247. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>
79. Bush, K., & Bradford, P. A. (2020). Epidemiology of  $\beta$ -lactamase-producing pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(2), 1–37. <https://doi.org/10.1128/CMR.00047-19>
80. Bush, K., & Fisher, J. F. (2011). Epidemiological expansion, structural studies, and clinical challenges of new  $\beta$ -lactamases from gram-negative bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 65, 455–478. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090110-102911>
81. Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of  $\beta$ -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969–976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
82. Bush, K., Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39(6), 1211–1233. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.6.1211>
83. Cannatelli, A., Giani, T., D'Andrea, M. M., Di Pilato, V., Arena, F., Conte, V., ... & Rossolini, G. M. (2014). MgrB inactivation is a common mechanism of colistin resistance in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* of clinical origin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(10), 5696-5703. <https://doi.org/10.1128/AAC.03110-14>
84. Cantón, R., & Coque, T. M. (2006). The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Current Opinion in Microbiology*, 9(5), 466–475. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2006.08.011>
85. Cantón, R., & Ruiz-Garbajosa, P. (2011). Co-resistance: An opportunity for the bacteria and resistance genes. *Current Opinion in Pharmacology*, 11(5), 477–485. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2011.07.007>

86. Carattoli, A. (2009). Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(6), 2227–2238. <https://doi.org/10.1128/AAC.01707-08>
87. Cardoso, T., Ribeiro, O., Aragão, I. C., Costa-Pereira, A., & Sarmiento, A. E. (2012). Additional risk factors for infection by multidrug-resistant pathogens in healthcare-associated infection: a large cohort study. *BMC infectious diseases*, 12, 1-9. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-375>.
88. Carl, C., 2011. Infectiologie et hygiène, gestion des risques et soins infirmiers. UE 2.10 et UE 4.5, 2° éd. ed, Les essentiels en IFSI. Masson, Issy-les-Moulineaux.
89. Caruso, C., Valluzzi, R. L., Colantuono, S., Gaeta, F., & Romano, A. (2021).  $\beta$ -Lactam Allergy and Cross-Reactivity: A Clinician's Guide to Selecting an Alternative Antibiotic. *Journal of Asthma and Allergy*, Volume 14, 31–46. <https://doi.org/10.2147/JAA.S242061>
90. Castanheira, M., Farrell, S. E., Krause, K. M., Jones, R. N., & Sader, H. S. (2014). Contemporary diversity of  $\beta$ -lactamases among Enterobacteriaceae in the nine U.S. census regions and ceftazidime-avibactam activity tested against isolates producing the most prevalent  $\beta$ -lactamase groups. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(2), 833–838. <https://doi.org/10.1128/AAC.01896-13>
91. Castanheira, M., Simner, P. J., & Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(3), dlab092. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>
92. Cavallo, J. D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., & Garrabé, E. (2004). Bêtalactamines. *EMC-Maladies infectieuses*, 1(3), 129-202. <https://doi.org/10.1016/j.emcmi.2004.03.003>
93. Chang, C. Y., Huang, P. H., & Lu, P. L. (2022). The Resistance Mechanisms and Clinical Impact of Resistance to the Third Generation Cephalosporins in Species of *Enterobacter cloacae* Complex in Taiwan. *Antibiotics*, 11(9), 1153. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091153>
94. Chaudhary, M. K., Jadhav, I., & Banjara, M. R. (2023). Molecular detection of plasmid mediated blaTEM, blaCTX–M, and blaSHV genes in Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL) *Escherichia coli* from clinical samples. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 22(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s12941-023-00584-0>

95. Chen, C. Y., Chen, Y. H., Lu, P. L., Lin, W. R., Chen, T. C., & Lin, C. Y. (2012). *Proteus mirabilis* urinary tract infection and bacteremia: risk factors, clinical presentation, and outcomes. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 45(3), 228-236. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2011.11.007>
96. Chen, L., Al Laham, N., Chavda, K. D., Mediavilla, J. R., Jacobs, M. R., Bonomo, R. A., & Kreiswirth, B. N. (2015). First report of an OXA-48-producing multidrug-resistant *Proteus mirabilis* strain from Gaza, Palestine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(7), 4305–4307. <https://doi.org/10.1128/AAC.00565-15>
97. Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., Qiu, Y., Wang, J., Liu, Y., Wei, Y., Xia, J., Yu, T., Zhang, X., & Zhang, L. (2020). Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel *coronavirus pneumonia* in Wuhan, China: A descriptive study. *Lancet (London, England)*, 395(10223), 507–513. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)
98. Cheng, Y.-H., Lin, T.-L., Pan, Y.-J., Wang, Y.-P., Lin, Y.-T., & Wang, J.-T. (2015). Colistin resistance mechanisms in *Klebsiella pneumoniae* strains from Taiwan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(5), 2909–2913. <https://doi.org/10.1128/AAC.04763-14>
99. Chkhaidze, N., Imnadze, P., Malania, L., & Chkhaidze, I. (2024). Epidemiology and Risk Factors of Nosocomial Infection in Hospitalized Children and Adults: A Review. *International Journal of Advanced Multidisciplinary Research and Studies*, 4(2), 516–521. <https://doi.org/10.62225/2583049X.2024.4.2.2527>
100. Cho, S. Y., Choi, S. M., Park, S. H., Lee, D. G., Choi, J. H., & Yoo, J. H. (2016). Amikacin therapy for urinary tract infections caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*. *The Korean journal of internal medicine*, 31(1), 156. <https://doi.org/10.3904/kjim.2016.31.1.156>
101. Choi, A. J., Bennison, D. J., Kulkarni, E., Azar, H., Sun, H., Li, H., ... & Shenoy, A. R. (2024). Aminoglycoside heteroresistance in *Enterobacter cloacae* is driven by the cell envelope stress response. *Mbio*, e01699-24. <https://doi.org/10.1101/2023.10.11.561937>
102. Chopjitt, P., Boueroy, P., Morita, M., Iida, T., Akeda, Y., Hamada, S., & Kerdsin, A. (2024). Genetic characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* harboring colistin-resistant gene isolated from food animals in food supply chain. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1289134>

103. Chopra, T., Rivard, C., Awali, R. A., Krishna, A., Bonomo, R. A., Perez, F., & Kaye, K. S. (2012). *Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae at a Long-term Acute Care Hospital*. 1–6. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy224>
104. Clair, J. D., & Colatrella, S. (2013). Opening Pandora’s (tool) Box: Health care construction and associated risk for nosocomial infection. *Infectious Disorders Drug Targets*, 13(3), 177–183. <https://doi.org/10.2174/1871526511313030005>
105. Clermont, O., Christenson, J. K., Denamur, E., & Gordon, D. M. (2013). The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: Improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental Microbiology Reports*, 5(1), 58–65. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>
106. Clermont, O., Lescat, M., O’Brien, C. L., Gordon, D. M., Tenaillon, O., & Denamur, E. (2008). Evidence for a human-specific *Escherichia coli* clone. *Environmental Microbiology*, 10(4), 1000–1006. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01520.x>
107. CLSI. (2020). *Performance Standards for Anti-Microbial Susceptibility Testing. Performance Standards for Anti-Microbial Susceptibility Testing. 30th Edition, M100.* [https://clsi.org/media/3481/m100ed30\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/3481/m100ed30_sample.pdf) (p. 30th Edition.M100.). [https://clsi.org/media/3481/m100ed30\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/3481/m100ed30_sample.pdf)
108. Codjoe, F., & Donkor, E. (2017). Carbapenem Resistance: A Review. *Medical Sciences*, 6(1), 1–1. <https://doi.org/10.3390/medsci6010001>
109. Cohen-Nahum, K., Saidel-Odes, L., Riesenber, K., Schlaeffer, F., & Borer, A. (2010). Urinary tract infections caused by multi-drug resistant *Proteus mirabilis*: Risk factors and clinical outcomes. *Infection*, 38(1), 41–46. <https://doi.org/10.1007/s15010-009-8460-5>
110. Cooney, S., O’Brien, S., Iversen, C., & Fanning, S. (2014). Bacteria: Other Pathogenic Enterobacteriaceae – *Enterobacter* and Other Genera. In Y. Motarjemi (Ed.), *Encyclopedia of Food Safety* (pp. 433–441). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00104-9>
111. Correa-León, Y. P., Pérez-Hernández, J. M., Martínez-Guerra, B. A., Rodríguez-Noriega, E., Mena-Ramírez, J. P., López-Gutiérrez, E., ... & Garza-González, E. (2023). Evaluation of the BD Phoenix carbapenemase-producing organism panels for the detection of Carbapenemase Producers in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagnostics*, 13(22), 3417. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13223417>

112. Costa, A., Figueroa-Espinosa, R., Gaudenzi, F., Lincopan, N., Fuga, B., Ghiglione, B., ... & Di Conza, J. (2021). Co-occurrence of NDM-5 and RmtB in a clinical isolate of *Escherichia coli* belonging to CC354 in Latin America. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *11*, 654852. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.654852>
113. Crossley, B. M., Bai, J., Glaser, A., Maes, R., Porter, E., Killian, M. L., Clement, T., & Toohey-Kurth, K. (2020). Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, *32*(6), 767–775. <https://doi.org/10.1177/1040638720905833>
114. Cubas-Atienzar, A. I., Williams, C. T., Karkey, A., Dongol, S., Sulochana, M., Rajendra, S., Hobbs, G., Evans, K., Musicha, P., Feasey, N., Cuevas, L. E., Adams, E. R., & Edwards, T. (2021). A novel air-dried multiplex high-resolution melt assay for the detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and carbapenemase genes. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *27*, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.08.006>
115. Cuzon, G., Bentchouala, C., Vogel, A., Héry, M., Lezzar, A., Smati, F., Dortet, L., & Naas, T. (2015). First outbreak of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Constantine, Algeria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *46*(6), 725–727. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.08.005>
116. Cuzon, G., Naas, T., & Nordmann, P. (2010). Carbapénèmases de type KPC: Quel enjeu en microbiologie clinique ? *Pathologie Biologie*, *58*(1), 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.07.026>
117. Czajkowski, K., Broś-Konopielko, M., & Teliga-Czajkowska, J. (2021). Urinary tract infection in women. *Menopause Review/Przegląd Menopauzalny*, *20*(1), 40-47. <https://doi.org/10.5114/pm.2021.105382>
118. Daligault, H. E., Davenport, K. W., Minogue, T. D., Broomall, S. M., Bruce, D. C., Chain, P. S., Coyne, S. R., Gibbons, H. S., Jaissle, J., Rosenzweig, C. N., Scholz, M., Teshima, H., & Johnson, S. L. (2014). Genome Assembly of *Serratia marcescens* Type Strain ATCC 13880. *Genome Announcements*, *2*(5), e00967-14. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00967-14>
119. Dallenne, C., Da Costa, A., Decré, D., Favier, C., & Arlet, G. (2010). Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding

- important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(3), 490–495. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp498>
120. Darbandi, F. (2011). Parallel Comparison of Accuracy in Vitek2 Auto analyzer and API 20 E/API 20 NE Microsystems. <https://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:hb:diva-20405>
121. Datta, N., & Kontomichalou, P. (1965). Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature*, 208(5007), 239–241. <https://doi.org/10.1038/208239a0>
122. Dautzenberg, M. J. D., Ossewaarde, J. M., de Greeff, S. C., Troelstra, A., & Bonten, M. J. M. (2016). Risk factors for the acquisition of OXA-48-producing Enterobacteriaceae in a hospital outbreak setting: A matched case-control study. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(8), 2273–2279. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw119>
123. Davin-Regli, A., Lavigne, J.-P., & Pagès, J.-M. (2019). Enterobacter spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(4), e00002-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-19>
124. de Jonge, B. L. M., Karlowsky, J. A., Kazmierczak, K. M., Biedenbach, D. J., Sahm, D. F., & Nichols, W. W. (2016). In Vitro Susceptibility to Ceftazidime-Avibactam of Carbapenem-Nonsusceptible Enterobacteriaceae Isolates Collected during the INFORM Global Surveillance Study (2012 to 2014). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(5), 3163–3169. <https://doi.org/10.1128/AAC.03042-15>
125. den Reijer, P. M., Van Burgh, S., Burggraaf, A., Ossewaarde, J. M., & van der Zee, A. (2016). The widespread presence of a multidrug-resistant *Escherichia coli* ST131 clade among community-associated and hospitalized patients. *PLoS One*, 11(3), e0150420. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150420>
126. De Souza, G. M., Neto, E. R. D. S., Silva, A. M. D., Iacia, M. V. M. D. S., Rodrigues, M. V. P., Pereira, V. C., & Winkelstroter, L. K. (2019). Comparative Study Of Genetic Diversity, Virulence Genotype, Biofilm Formation And Antimicrobial Resistance Of Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) Isolated From Nosocomial And Community Acquired Urinary Tract Infections. *Infection and Drug Resistance*, Volume 12, 3595–3606. <https://doi.org/10.2147/IDR.S228612>
127. Debby, B. D., Ganor, O., Yasmin, M., David, L., Nathan, K., Ilana, T., Dalit, S., Smollan, G., & Galia, R. (2012). Epidemiology of carbapenem resistant *Klebsiella*

- pneumoniae colonization in an intensive care unit. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 31(8), 1811–1817. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1506-5>
128. Decarli, A., Nascimento, L. V., Hiromi Sayama Esteves, L., Arenas Rocha, P., Yuki, V. M. G., Cieslinski, J., ... & Tuon, F. F. (2022). The impact of VITEK 2 implementation for identification and susceptibility testing of microbial isolates in a Brazilian public hospital. *Journal of Medical Microbiology*, 71(6), 001543. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001543>
129. Derakhshan, S., Saedi, S., Ahmadi, A., & Hedayati, M. A. (2022). Virulence genes, phylogenetic, and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection in hospital inpatients and outpatients. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1634958/v1>
130. Desalegn, Y., Bitew, A., & Adane, A. (2023). A spectrum of non-spore-forming fermentative and non-fermentative Gram-negative bacteria: multi-drug resistance, extended-spectrum beta-lactamase, and carbapenemase production. *Frontiers in Antibiotics*, 2, 1155005. <https://doi.org/10.3389/frabi.2023.1155005>
131. Deshpande, L. M., Rhomberg, P. R., Sader, H. S., & Jones, R. N. (2006). Emergence of serine carbapenemases (KPC and SME) among clinical strains of Enterobacteriaceae isolated in the United States Medical Centers: Report from the MYSTIC Program (1999-2005). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 56(4), 367–372. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2006.07.004>
132. Diamantis, S., Retur, N., Bertrand, B., Lieutier-Colas, F., Carencio, P., Mondain, V., & PROMISE Professional Community Network on Antimicrobial Resistance. (2022). The production of antibiotics must be reoriented: repositioning old narrow-spectrum antibiotics, developing new microbiome-sparing antibiotics. *Antibiotics*, 11(7), 924. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070924>
133. Diene, S. M., Bruder, N., Raoult, D., & Rolain, J.-M. (2011). Real-time PCR assay allows detection of the New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase (NDM-1)-encoding gene in France. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37(6), 544–546. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.006>
134. Ding, L., Shen, S., Chen, J., Tian, Z., Shi, Q., Han, R., Guo, Y., & Hu, F. (2023). *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase variants: The new threat to global public health. *Clinical Microbiology Reviews*, 36(4), e0000823. <https://doi.org/10.1128/cmr.00008-23>

135. Djahmi, N., Dunyach-Remy, C., Pantel, A., Dekhil, M., Sotto, A., & Lavigne, J. P. (2014). Epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean countries. *BioMed research international*, 2014(1), 305784. <https://doi.org/10.1155/2014/305784>
136. Djeffal, S., Bakour, S., Mamache, B., Elgroud, R., Agabou, A., Chabou, S., ... & Rolain, J. M. (2017). Prevalence and clonal relationship of ESBL-producing *Salmonella* strains from humans and poultry in northeastern Algeria. *BMC veterinary research*, 13, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1050-3>
137. Djenadi, K., Zhang, L., Murray, A. K., & Gaze, W. H. (2018). Carbapenem resistance in bacteria isolated from soil and water environments in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 15, 262–267. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.07.013>
138. Doron, S., & Gorbach, S. L. (2008). Bacterial Infections: Overview. *International Encyclopedia of Public Health*, 273–282. <https://doi.org/10.1016/B978-012373960-5.00596-7>
139. Dortet, L., & Naas, T. (2017). Noncarbapenemase OXA-48 Variants (OXA-163 and OXA-405) Falsely Detected as Carbapenemases by the  $\beta$  Carba Test. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(2), 654–655. <https://doi.org/10.1128/JCM.02086-16>
140. Dortet, L., Poirel, L., & Nordmann, P. (2014). Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *BioMed research international*, 2014(1), 249856.
141. Doumith, M., Ellington, M. J., Livermore, D. M., & Woodford, N. (2009). Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant *Klebsiella* and *Enterobacter* spp. Clinical isolates from the UK. February, 659–667. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp029>
142. Dramowski, A., Ong'ayo, G., Rehman, A. M., Whitelaw, A., Labi, A. K., Obeng-Nkrumah, N., ... & MBIRA study collaborators Mujuru Hilda Odipo Emily Mwarumba Salim Mturi Neema Gordon N Claire Diop Amadou Ndiaye Aissatou Thilor Shwe David Diala Udochukwu M Okolo Mark Grundmann Hajo. (2021). Mortality attributable to third-generation cephalosporin resistance in Gram-negative bloodstream infections in African hospitals: a multi-site retrospective study. *JAC-antimicrobial Resistance*, 3(1), dlaa130.
143. Dziri, R., Talmoudi, A., Barguellig, F., Ouzari, H. I., El Asli, M. S., & Klibi, N. (2019). Huge diversity of TEM and SHV  $\beta$ -Lactamases types among CTX-M-15-

- Producing enterobacteriaceae species in Tunisia. *Microbial Drug Resistance*, 25(8), 1149–1154. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0445>
144. Ebongue, C. O., Tsiazok, M. D., Mefo'o, J. P. N., Ngaba, G. P., Beyiha, G., & Adiogo, D. (2015). Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *The Pan African Medical Journal*, 20. <https://doi.org/10.11604/pamj.2015.20.227.4770>
145. Edelstein, M., Pimkin, M., Palagin, I., Edelstein, I., & Stratchounski, L. (2003). Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(12), 3724–3732. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.12.3724>
146. El Chakhtoura, N. G., Saade, E., Iovleva, A., Yasmin, M., Wilson, B., Perez, F., & Bonomo, R. A. (2018). Therapies for multidrug resistant and extensively drug-resistant non-fermenting gram-negative bacteria causing nosocomial infections: a perilous journey toward ‘molecularly targeted’ therapy. *Expert review of anti-infective therapy*, 16(2), 89–110. <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1425139>
147. El Nekidy, W. S., Elrefaei, H., St. John, T. J. L., Attallah, N. M., Kablaoui, F., Nusair, A., ... & Ghazi, I. M. (2021). Ertapenem neurotoxicity in hemodialysis patients—safe and effective dosing is still needed: a retrospective study and literature review. *Annals of Pharmacotherapy*, 55(1), 52–58. <https://doi.org/10.1177/1060028020938059>
148. Eljaaly, K., Bidell, M. R., Gandhi, R. G., Alshehri, S., Enani, M. A., Al-Jedai, A., & Lee, T. C. (2021, February). Colistin nephrotoxicity: meta-analysis of randomized controlled trials. In *Open forum infectious diseases* (Vol. 8, No. 2, p. ofab026). US : Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofab026>
149. Emeraud, C., Girlich, D., Bonnin, R. A., Jousset, A. B., Naas, T., & Dortet, L. (2021). Emergence and Polyclonal Dissemination of OXA-244-Producing *Escherichia coli*, France. *Emerging Infectious Diseases*, 27(4), 1206–1210. <https://doi.org/10.3201/eid2704.204459>
150. Emeraud, C., Petit, C., Gauthier, L., Bonnin, R. A., Naas, T., & Dortet, L. (2022). Emergence of VIM-producing *Enterobacter cloacae* complex in France between 2015 and 2018. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(4), 944–951. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab471>

151. European Centre for Disease Prevention and Control. (2021, July 20). *Increase in OXA-244-producing Escherichia coli in the European Union/European Economic Area and the UK since 2013 – first update*. ECDC: Stockholm.
152. Evans, B. A., & Amyes, S. G. (2014). OXA  $\beta$ -lactamases. *Clinical microbiology reviews*, 27(2), 241-263. <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-13>
153. Farfour, E., Dortet, L., Guillard, T., Chatelain, N., Poisson, A., Mizrahi, A., ... & GMC Study Group. (2022). Antimicrobial resistance in Enterobacterales recovered from urinary tract infections in France. *Pathogens*, 11(3), 356. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030356>
154. Feil, E. J. (2016). Enterobacteriaceae: joining the dots with pan-European epidemiology. *The Lancet. Infectious Diseases*, 17(2), 118-119. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30333-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30333-4)
155. Féria, C., Ferreira, E., Correia, J. D., Gonçalves, J., & Caniça, M. (2002). Patterns and mechanisms of resistance to  $\beta$ -lactams and  $\beta$ -lactamase inhibitors in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs in Portugal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(1), 77-85. <https://doi.org/10.1093/jac/49.1.77>
156. Ferry, S. A., Holm, S. E., Stenlund, H., Lundholm, R., & Monsen, T. J. (2004). The natural course of uncomplicated lower urinary tract infection in women illustrated by a randomized placebo controlled study. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 36(4), 296–301. <https://doi.org/10.1080/00365540410019642>
157. Fonseca-Martínez, S. A., Martínez-Vega, R. A., Farfán-García, A. E., González Rugeles, C. I., & Criado-Guerrero, L. Y. (2023). Association Between Uropathogenic *Escherichia coli* Virulence Genes and Severity of Infection and Resistance to Antibiotics. *Infection and Drug Resistance*, 3707-3718. <https://doi.org/10.2147/IDR.S391378>
158. Foxman, B. (2002). Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *The American journal of medicine*, 113(1), 5-13. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(02\)01054-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(02)01054-9)
159. Franklin, C., Liolios, L., & Peleg, A. Y. (2006). Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo-beta-lactamase-producing gram-negative bacilli in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(9), 3139–3144. <https://doi.org/10.1128/JCM.00879-06>
160. Frisbie, L., Weissman, S. J., Kapoor, H., D'Angeli, M., Salm, A., Radcliff, J., & Rabinowitz, P. (2022). Outpatient antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli*

- urinary isolates differ by specialty type. *Microbiology spectrum*, 10(4), e02373-21.  
<https://doi.org/10.1128/spectrum.02373-21>
161. Gajdács, M., & Urbán, E. (2019). Resistance trends and epidemiology of *citrobacter-enterobacter-serratia* in urinary tract infections of inpatients and outpatients (RECESUTI): a 10-year survey. *Medicina*, 55(6), 285.  
<https://doi.org/10.3390/medicina55060285>
162. García-Fernández, A., Miriagou, V., Papagiannitsis, C. C., Giordano, A., Venditti, M., Mancini, C., & Carattoli, A. (2010). An Ertapenem-Resistant Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Clone Carries a Novel OmpK36 Porin Variant. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(10), 4178–4184.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.01301-09>
163. Gatya Al-Mayahie, S. M., Al-Guranie, D. R. T., Hussein, A. A., & Bachai, Z. A. (2022). Prevalence of common carbapenemase genes and multidrug resistance among uropathogenic *Escherichia coli* phylogroup B2 isolates from outpatients in Wasit Province/ Iraq. *PloS One*, 17(1), e0262984.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262984>
164. Gaultier, N. E., Junqueira, A. C. M., Uchida, A., Purbojati, R. W., Houghton, J. N., Chénard, C., ... & Schuster, S. C. (2018). Complete genome sequence of the bacterium *Serratia marcescens* SGAir0764, isolated from Singapore air. *Genome Announcements*, 6(27), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00637-18>
165. Gauthier, L., Dortet, L., Cotellon, G., Creton, E., Cuzon, G., Ponties, V., ... & Naas, T. (2018). Diversity of carbapenemase-producing *Escherichia coli* isolates in France in 2012-2013. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(8), 10-1128.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.00266-18>
166. Ghafourian, S., Sadeghifard, N., Soheili, S., & Sekawi, Z. (2014). Extended spectrum beta-lactamases: Definition, classification and epidemiology. *Current Issues in Molecular Biology*, 17(1), 11–22. <https://doi.org/10.21775/cimb.017.011>
167. Ghafourian, S., Sadeghifard, N., Soheili, S., & Sekawi, Z. (2015). Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. *Current Issues in Molecular Biology*, 17(1), Article 1. <https://doi.org/10.21775/cimb.017.011>
168. Gharout-Sait, A., Touati, A., Guillard, T., Brasme, L., & de Champs, C. (2015). Molecular characterization and epidemiology of cefoxitin resistance among Enterobacteriaceae lacking inducible chromosomal ampC genes from hospitalized and non-hospitalized patients in Algeria: Description of new sequence type in *Klebsiella*

- pneumoniae* isolates. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases : An Official Publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, 19(2), 187–195. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2014.12.001>
169. Giani, T., Arena, F., Vaggelli, G., Conte, V., Chiarelli, A., Henrici De Angelis, L., Fornaini, R., Grazzini, M., Niccolini, F., Pecile, P., & Rossolini, G. M. (2015). Large Nosocomial Outbreak of Colistin-Resistant, Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Traced to Clonal Expansion of an mgrB Deletion Mutant. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(10), 3341–3344. <https://doi.org/10.1128/JCM.01017-15>
170. Girlich, D., Bonnin, R. A., Dortet, L., & Naas, T. (2020). Genetics of acquired antibiotic resistance genes in *Proteus spp.* *Frontiers in microbiology*, 11, 256. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00256>
171. Godbey, W. T. (2022). Chapter 10—The polymerase chain reaction (PCR). In W. T. Godbey (Ed.), *Biotechnology and its Applications (Second Edition)* (pp. 219–246). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817726-6.00010-1>
172. Goodlet, K. J., Benhalima, F. Z., & Nailor, M. D. (2019). A systematic review of single-dose aminoglycoside therapy for urinary tract infection: is it time to resurrect an old strategy?. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(1), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/AAC.02165-18>
173. Graf, F. E., Goodman, R. N., Gallichan, S., Forrest, S., Picton-Barlow, E., Fraser, A. J., ... & Feasey, N. A. (2024). Molecular mechanisms of re-emerging chloramphenicol susceptibility in extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacterales. *Nature Communications*, 15(1), 9019. <https://doi.org/10.1101/2023.11.16.567242>
174. Graham, L. A., Hansen, T., Yang, Y., Sherik, M., Ye, Q., Soares, B. P., Kinrade, B., Guo, S., & Davies, P. L. (2024). Adhesin domains responsible for binding bacteria to surfaces they colonize project outwards from companion split domains. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 92(8), 933–945. <https://doi.org/10.1002/prot.26689>
175. Grahnquist, L., Lundberg, B., & Tullus, K. (1992). Neonatal *Proteus meningoencephalitis*. *APMIS*, 100(7–12), 734–736. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1992.tb03992.x>
176. Gramundi, I., Albornoz, E., Boutureira, M., Rapoport, M., Gomez, S., Corso, A., Castro, G., & Faccone, D. (2023). Characterization of third generation

- cephalosporin-resistant *Escherichia coli* clinical isolates from Ushuaia, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 55(1), 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2022.06.002>
177. Greenwood, D., Slack, R. C. B., Barer, M. R., & Irving, W. L. (2012). *Medical Microbiology E-Book: A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Diagnosis and Control. With STUDENT CONSULT Online Access*. Elsevier Health Sciences.
178. Guérin, F. (2015). Infections à *Enterobacter cloacae* complex: Résistance aux antibiotiques et traitement. *Journal Des Anti-Infectieux*, 17(3), 79–89. <https://doi.org/10.1016/j.antinf.2015.03.002>
179. Guérin, F., Isnard, C., Cattoir, V., & Giard, J. C. (2015). Complex Regulation Pathways of AmpC-Mediated  $\beta$ -Lactam Resistance in *Enterobacter cloacae* Complex. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(12), 7753–7761. <https://doi.org/10.1128/AAC.01729-15>
180. Gupta, V., Yadav, A., & Joshi, R. M. (2002). Antibiotic resistance pattern in uropathogens. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 20(2), 96–98.
181. Habib, A., Lo, S., Villageois-Tran, K., Petitjean, M., Malik, S. A., Armand-Lefevre, L., ... & Zahra, R. (2022). Dissemination of carbapenemase-producing Enterobacterales in the community of Rawalpindi, Pakistan. *PLoS One*, 17(7), e0270707. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270707>
182. Hamada, Y., Watanabe, K., Tada, T., Mezaki, K., Takeuchi, S., Shimizu, T., Kirikae, T., & Ohmagari, N. (2013). Three cases of IMP-type metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* bloodstream infection in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy: Official Journal of the Japan Society of Chemotherapy*, 19(5), 956–958. <https://doi.org/10.1007/s10156-012-0520-6>
183. Hamame, A., Davoust, B., Hasnaoui, B., Mwenebitu, D. L., Rolain, J. M., & Diene, S. M. (2022). Screening of colistin-resistant bacteria in livestock animals from France. *Veterinary Research*, 53(1), 96. <https://doi.org/10.1186/s13567-022-01113-1>
184. Hamprecht, A., Rohde, A. M., Behnke, M., Feihl, S., Gastmeier, P., Gebhardt, F., ... & von Eschen, U. (2016). Colonization with third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae on hospital admission: prevalence and risk factors. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(10), 2957–2963. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw216>

185. Harris, P. N. (2015, February). Clinical management of infections caused by Enterobacteriaceae that express extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and AmpC enzymes. In *Seminars in respiratory and critical care medicine* (Vol. 36, No. 01, pp. 056-073). Thieme Medical Publishers. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1398387>
186. Hashimoto, M., Ma, Y. F., Wang, S. T., Chen, C. S., & Teng, C. H. (2021). Iron acquisition of urinary tract infection *Escherichia coli* involves pathogenicity in *Caenorhabditis elegans*. *Microorganisms*, 9(2), 310. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020310>
187. Hayer, S. S., Casanova-Higes, A., Paladino, E., Elnekave, E., Nault, A., Johnson, T., ... & Alvarez, J. (2022). Global Distribution of Extended Spectrum Cephalosporin and Carbapenem Resistance and Associated Resistance Markers in *Escherichia coli* of Swine Origin—A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in microbiology*, 13, 853810.
188. Hernández-García, M., León-Sampedro, R., Pérez-Viso, B., Morosini, M. I., López-Fresneña, N., Díaz-Agero, C., ... & Cantón, R. (2018). First report of an OXA-48-and CTX-M-213-producing *Kluyvera* species clone recovered from patients admitted in a university hospital in Madrid, Spain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(11), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/AAC.01238-18>
189. Hogins, J., Xuan, Z., Zimmern, P. E., & Reitzer, L. (2023). The distinct transcriptome of virulence-associated phylogenetic group B2 *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, 11(5). <https://doi.org/10.1128/spectrum.02085-23>
190. Hossain, A., Reisbig, M. D., & Hanson, N. D. (2004). Plasmid-encoded functions compensate for the biological cost of AmpC overexpression in a clinical isolate of *Salmonella typhimurium*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(6), 964–970. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh240>
191. Hoyos-Mallecot, Y., Naas, T., Bonnin, R. A., Patino, R., Glaser, P., Fortineau, N., & Dortet, L. (2017). OXA-244-Producing *Escherichia coli* Isolates, a Challenge for Clinical Microbiology Laboratories. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(9), 10.1128/aac.00818-17. <https://doi.org/10.1128/aac.00818-17>
192. Hsieh, W. C., & Ho, S. W. (1975). Evaluation of antibacterial activities of cephalosporin antibiotics: cefazolin, cephaloridine, cephalothin, and cephalixin. *Zhonghua Minguo wei sheng wu xue za zhi= Chinese journal of microbiology*, 8(1), 1-11.

193. Huletsky, A., Knox, J. R., & Levesque, R. C. (1993). Role of Ser-238 and Lys-240 in the hydrolysis of third-generation cephalosporins by SHV-type beta-lactamases probed by site-directed mutagenesis and three-dimensional modeling. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(5), 3690–3697.
194. Hyun, M., Lee, J. Y., & Kim, H. ah. (2021). Differences of virulence factors, and antimicrobial susceptibility according to phylogenetic group in uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from Korean patients. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 20(1), 77. <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00481-4>
195. Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Alouache, S., Verdet, C., Bakour, R., & Arlet, G. (2009). Prevalence of plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamases among Enterobacteriaceae in Algiers hospitals. *International journal of antimicrobial agents*, 34(4), 340-342. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.05.011>
196. Iovleva, A., & Doi, Y. (2017). Carbapenem-resistant enterobacteriaceae. *Clinics in laboratory medicine*, 37(2), 303-315. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2017.01.005>
197. Ishii, S., Ksoll, W. B., Hicks, R. E., & Sadowsky, M. J. (2006). Presence and growth of naturalized *Escherichia coli* in temperate soils from Lake Superior watersheds. *Applied and environmental microbiology*, 72(1), 612-621. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.612-621.2006>
198. Isler, B., Aslan, A. T., Akova, M., Harris, P., & Paterson, D. L. (2022). Treatment strategies for OXA-48-like and NDM producing *Klebsiella pneumoniae* infections. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 20(11), 1389–1400. <https://doi.org/10.1080/14787210.2022.2128764>
199. Izdebski, R., Biedrzycka, M., Urbanowicz, P., Żabicka, D., & Gniadkowski, M. (2023). Genome-Based Epidemiologic Analysis of VIM/IMP Carbapenemase-Producing *Enterobacter spp.*, Poland. *Emerging Infectious Diseases*, 29(8), 1618–1626. <https://doi.org/10.3201/eid2908.230199>
200. Jacoby, G. A. (2009). AmpC B-Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1), 161–182. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-08>
201. Jacoby, G. A., & Munoz-Price, L. S. (2005). The new  $\beta$ -lactamases. *New England Journal of Medicine*, 352(4), 380-391. <https://doi.org/10.1056/NEJMra041359>

202. Jain, S., Self, W. H., Wunderink, R. G., Fakhran, S., Balk, R., Bramley, A. M., ... & Finelli, L. (2015). Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among US adults. *New England Journal of Medicine*, 373(5), 415-427. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1500245>
203. Jalil, M. B., & Al Atbee, M. Y. N. (2022). The prevalence of multiple drug resistance *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients with urinary tract infections. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(9). <https://doi.org/10.1002/jcla.24619>
204. Jara, M. C., Frediani, A. V., Zehetmeyer, F. K., Bruhn, F. R. P., Müller, M. R., Miller, R. G., & Nascente, P. D. S. (2021). Multidrug-resistant hospital bacteria: epidemiological factors and susceptibility profile. *Microbial drug resistance*, 27(3), 433-440. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0209>
205. Jarlier, V., Nicolas, M. H., Fournier, G., & Philippon, A. (1988). Extended broad-spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Clinical Infectious Diseases*, 10(4), 867-878. <https://doi.org/10.1093/clinids/10.4.867>
206. Jean, S. S., Lee, W. S., Lam, C., Hsu, C. W., Chen, R. J., & Hsueh, P. R. (2015). Carbapenemase-producing Gram-negative bacteria: current epidemics, antimicrobial susceptibility and treatment options. *Future microbiology*, 10(3), 407-425.
207. Jeanvoine, A., Bouxom, H., Leroy, J., Gbaguidi-Haore, H., Bertrand, X., & Slekovec, C. (2020). Resistance to third-generation cephalosporins in *Escherichia coli* in the French community: The times they are a-changin'? *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5), 105909.
208. Joachim, A., Manyahi, J., Issa, H., Lwoga, J., Msafiri, F., & Majigo, M. (2023). Predominance of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria on Contaminated Surfaces at a Tertiary Hospital in Tanzania: A Call to Strengthening Environmental Infection Prevention and Control Measures. *Current Microbiology*, 80(5), 148. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03254-8>
209. Joseph, I. S., Okolo, I. O., Udenweze, E. C., Nwankwo, C. E., Peter, I. U., Ogbonna, I. P., & Iroha, I. R. (2023). Comparison of Antibiotic-Resistant Pattern of Extended Spectrum Beta-Lactamase and Carbapenem-Resistant *Escherichia coli* Isolates from Clinical and Non-Clinical Sources. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 13(7), 107-118. <https://doi.org/10.22270/jddt.v13i7.5918>

210. Jung, Y., Lee, M. J., Sin, H. Y., Kim, N. H., Hwang, J. H., Park, J., ... & Oh, M. D. (2012). Differences in characteristics between healthcare-associated and community-acquired infection in community-onset *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection in Korea. *BMC infectious diseases*, *12*, 1-9. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-239>
211. Kakian, F., Abadi, M. S. S., Gholipour, A., Fadaie, M., Zamanzad, B., Khairi, S., ... & Damavandi, M. S. (2019). Evaluating the prevalence of virulence genes of *Escherichia coli* in patients affected by urinary tract infection. *Gene Reports*, *16*, 100433. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2019.100433>
212. Kakoullis, L., Papachristodoulou, E., Chra, P., & Panos, G. (2021). Mechanisms of antibiotic resistance in important gram-positive and gram-negative pathogens and novel antibiotic solutions. *Antibiotics*, *10*(4), 415. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040415>
213. Karam, M. R. A., Habibi, M., & Bouzari, S. (2018). Relationships between Virulence Factors and Antimicrobial Resistance among *Escherichia coli* Isolated from Urinary Tract Infections and Commensal Isolates in Tehran, Iran. *Osong Public Health and Research Perspectives*, *9*(5), 217–224. <https://doi.org/10.24171/j.phrp.2018.9.5.02>
214. Kaye, K. S., & Belley, A. (2022). Third-generation cephalosporin-resistant Enterobacterales are critical priority pathogens, too!. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *66*(4), e00213-22. <https://doi.org/10.1128/aac.00213-22>
215. Kazmierczak, K. M., Rabine, S., Hackel, M., McLaughlin, R. E., Biedenbach, D. J., Bouchillon, S. K., Sahm, D. F., & Bradford, P. A. (2016). Multiyear, Multinational Survey of the Incidence and Global Distribution of Metallo- $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *60*(2), 1067–1078. <https://doi.org/10.1128/AAC.02379-15>
216. Kelly, A. M., Mathema, B., & Larson, E. L. (2017). Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the community: A scoping review. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *50*(2), 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.03.012>
217. Kempf, I., Jouy, E., & Chauvin, C. (2016). Colistin use and colistin resistance in bacteria from animals. *International journal of antimicrobial agents*, *48*(6), 598-606. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.09.016>

218. Khaldi, Z., Nayme, K., Bourjilat, F., Bensaci, A., Timinouni, M., & El-Hadj-Khelil, A. O. (2022). Detection of ESBLs and carbapenemases among Enterobacteriaceae isolated from diabetic foot infections in Ouargla, Algeria. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 16(11), 1732-1738. <https://doi.org/10.3855/jidc.16660>
219. Khan, A. R., Park, G. S., Asaf, S., Hong, S. J., Jung, B. K., & Shin, J. H. (2017). Complete genome analysis of *Serratia marcescens* RSC-14: A plant growth-promoting bacterium that alleviates cadmium stress in host plants. *PloS one*, 12(2), e0171534. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171534>
220. Kiiru, J., Kariuki, S., Goddeeris, B. M., & Butaye, P. (2012). Analysis of  $\beta$ -lactamase phenotypes and carriage of selected  $\beta$ -lactamase genes among *Escherichia coli* strains obtained from Kenyan patients during an 18-year period. *BMC microbiology*, 12, 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-155>
221. Kim, J. K., Chung, D. R., Wie, S. H., Yoo, J. H., Park, S. W., & Korean Study Group for Liver Abscess. (2009). Risk factor analysis of invasive liver abscess caused by the K1 serotype *Klebsiella pneumoniae*. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 28, 109-111. <https://doi.org/10.1007/s10096-008-0595-2>
222. Kirby, W. M. (1944). Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant *staphylococci*. *Science*, 99(2579), 452-453. <https://doi.org/10.1126/science.99.2579.452>
223. Klein, N. C., & Cunha, B. A. (1995). Third-generation cephalosporins. *The medical clinics of North America*, 79(4), 705-719. [https://doi.org/10.1016/S0025-7125\(16\)30034-7](https://doi.org/10.1016/S0025-7125(16)30034-7)
224. Koebnik, R., Locher, K. P., & Van Gelder, P. (2000). Structure and function of bacterial outer membrane proteins: barrels in a nutshell. *Molecular microbiology*, 37(2), 239-253. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.01983.x>
225. Köhler, C.-D., & Dobrindt, U. (2011). What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*? *International Journal of Medical Microbiology: IJMM*, 301(8), 642–647. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2011.09.006>
226. Krivitskaya, A. V., & Khrenova, M. G. (2021). Boronic Acids as Prospective Inhibitors of Metallo- $\beta$ -Lactamases: Efficient Chemical Reaction in the Enzymatic Active Site Revealed by Molecular Modeling. *Molecules*, 26(7), 2026. <https://doi.org/10.3390/molecules26072026>

227. Kudinha, T., & Kong, F. (2022). Distribution of papG alleles among uropathogenic *Escherichia coli* from reproductive age women. *Journal of Biomedical Science*, 29(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s12929-022-00848-5>
228. Kumar, P., & Kumar, R. (2017). Enteric Fever. *Indian Journal of Pediatrics*, 84(3), 227–230. <https://doi.org/10.1007/s12098-016-2246-4>
229. Kumarasamy, K. K., Toleman, M. A., Walsh, T. R., Bagaria, J., Butt, F., Balakrishnan, R., ... & Woodford, N. (2010). Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet infectious diseases*, 10(9), 597-602. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70143-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70143-2)
230. Kumarasamy, K., & Kalyanasundaram, A. (2012). Emergence of *Klebsiella pneumoniae* isolate co-producing NDM-1 with KPC-2 from India. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(1), 243–244. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr431>
231. Kumwenda, G. P., Sugawara, Y., Akeda, Y., Matsumoto, Y., Motooka, D., Tomono, K., & Hamada, S. (2021). Genomic features of plasmids coding for KPC-2, NDM-5 or OXA-48 carbapenemases in Enterobacteriaceae from Malawi. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 76(1), 267-270. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa387>
232. Kushwaha, S. P., Sharma, P. K., & Kumar, S. (2024). Emerging Strategies in Antibacterial Drug Resistance Management Mechanisms: Challenges and Novel Interventions. In *Frontiers in Combating Antibacterial Resistance: Current Perspectives and Future Horizons* (pp. 274-299). IGI Global. <https://doi.org/10.4018/979-8-3693-4139-1.ch011>
233. Labid, A., Benouagueni, S., Mehainaoui, A., Kirane, D. G., & Touati, A. (2023). Antimicrobial Resistance Among Gram-Negative Bacteria Isolated in the Newborn Intensive Care Unit at Abderrezak-Bouhara Hospital of Skikda, Algeria. *Microbial Drug Resistance*. <https://doi.org/10.1089/mdr.2022.0254>
234. Lara, F. B., Nery, D. R., De Oliveira, P. M., Araujo, M. L., Carvalho, F. R., Messias-Silva, L. C., ... & Pereira, A. L. (2017). Virulence markers and phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains with hybrid EAEC/UPEC genotypes recovered from sporadic cases of extraintestinal infections. *Frontiers in microbiology*, 8, 146. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00146>
235. Larsonneur, F., Martin, F. A., Mallet, A., Martinez-Gil, M., Semetey, V., Ghigo, J. M., & Beloin, C. (2016). Functional analysis of *Escherichia coli* Yad

- fimbriae reveals their potential role in environmental persistence. *Environmental microbiology*, 18(12), 5228-5248. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13559>
236. Leangapichart, T., Gautret, P., Griffiths, K., Belhouchat, K., Memish, Z., Raoult, D., & Rolain, J. M. (2016). Acquisition of a high diversity of bacteria during the Hajj pilgrimage, including *Acinetobacter baumannii* with bla OXA-72 and *Escherichia coli* with bla NDM-5 carbapenemase genes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(10), 5942-5948. <https://doi.org/10.1128/AAC.00669-16>
237. Lee, D. S., Lee, S. J., & Choe, H. S. (2018). Community-Acquired Urinary Tract Infection by *Escherichia coli* in the Era of Antibiotic Resistance. *BioMed research international*, 2018(1), 7656752. <https://doi.org/10.1155/2018/7656752>
238. Lee, S., Han, S. W., Kim, K. W., Song, D. Y., & Kwon, K. T. (2014). Third-generation cephalosporin resistance of community-onset *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in a secondary hospital. *Korean Journal of Internal Medicine*, 29(1), 49–56. <https://doi.org/10.3904/kjim.2014.29.1.49>
239. Legros, N., Ptascheck, S., Pohlentz, G., Karch, H., Dobrindt, U., & Müthing, J. (2019). PapG subtype-specific binding characteristics of *Escherichia coli* towards globo-series glycosphingolipids of human kidney and bladder uroepithelial cells. *Glycobiology*, 29(11), 789-802. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwz059>
240. Lepe, J. A., & Martínez-Martínez, L. (2022). Resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. *Medicina Intensiva (English Edition)*, 46(7), 392-402. <https://doi.org/10.1016/j.medine.2022.05.004>
241. Lescat, M., Clermont, O., Woerther, P. L., Glodt, J., Dion, S., Skurnik, D., ... & Denamur, E. (2013). Commensal *Escherichia coli* strains in Guiana reveal a high genetic diversity with host-dependant population structure. *Environmental microbiology reports*, 5(1), 49-57. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2012.00374.x>
242. Leulmi, Z., Kandouli, C., Mihoubi, I., Benlabed, K., Lezzar, A., & Rolain, J. M. (2019). First report of blaOXA-24 carbapenemase gene, armA methyltransferase and aac (6')-Ib-cr among multidrug-resistant clinical isolates of *Proteus mirabilis* in Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 16, 125-129. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.08.019>
243. Li, Y., Dai, J., Zhuge, X., Wang, H., Hu, L., Ren, J., ... & Tang, F. (2016). Iron-regulated gene ireA in avian pathogenic *Escherichia coli* participates in adhesion and stress-resistance. *BMC Veterinary Research*, 12, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0800-y>

244. Lim, C. H., Bhati, A., Lott, K., Whitfield, J., Land, J., & Sysoeva, T. (2022). MP02-11 Characterization of complement resistance factor *trtA* encoded in drug resistance plasmids of uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Urology*, 207(Supplement 5), e14. <https://doi.org/10.1097/JU.0000000000002514.11>
245. Livermore, D. M. (2012). Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *The Korean journal of internal medicine*, 27(2), 128. <https://doi.org/10.3904/kjim.2012.27.2.128>
246. Livermore, D. M., Nicolau, D. P., Hopkins, K. L., & Meunier, D. (2020). Carbapenem-resistant Enterobacterales, carbapenem resistant organisms, carbapenemase-producing Enterobacterales, and carbapenemase-producing organisms: terminology past its “sell-by date” in an era of new antibiotics and regional carbapenemase epidemiology. *Clinical Infectious Diseases*, 71(7), 1776-1782.. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa122>
247. Lombardi, G., Luzzaro, F., Docquier, J. D., Riccio, M. L., Perilli, M., Coli, A., ... & Toniolo, A. (2002). Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase. *Journal of clinical microbiology*, 40(11), 4051-4055. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.11.4051-4055.2002>
248. Lombardi, G., Luzzaro, F., Docquier, J. D., Riccio, M. L., Perilli, M., Coli, A., ... & Toniolo, A. (2002). Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase. *Journal of clinical microbiology*, 40(11), 4051-4055. <https://doi.org/10.1128/AAC.01443-17>
249. Longhi, C., Comanducci, A., Riccioli, A., Ziparo, E., Marazzato, M., Aleandri, M., Conte, A. L., Lepanto, M. S., Goldoni, P., & Conte, M. P. (2016). Features of uropathogenic *Escherichia coli* able to invade a prostate cell line. *The New Microbiologica*, 39(2), 146–149.
250. Loucif, L., Chelaghma, W., Cherak, Z., Bendjama, E., Beroual, F., & Rolain, J. M. (2022). Detection of NDM-5 and MCR-1 antibiotic resistance encoding genes in Enterobacterales in long-distance migratory bird species *Ciconia ciconia*, Algeria. *Science of the Total Environment*, 814, 152861. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152861>
251. Loucif, L., Chelaghma, W., Helis, Y., Sebaa, F., Baoune, R. D., Zaatout, W., & Rolain, J. M. (2018). First detection of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in community-acquired urinary tract infection in Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 12, 115-116. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.12.017>

252. Loucif, L., Kassah-Laouar, A., Saidi, M., Messala, A., Chelaghma, W., & Rolain, J. M. (2016). Outbreak of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* involving a sequence type 101 clone in Batna University Hospital, Algeria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *60*(12), 7494-7497. <https://doi.org/10.1128/AAC.00525-16>
253. Lu, X., Zhang, P., Du, P., Zhang, X., Wang, J., Yang, Y., ... & Bai, L. (2023). Prevalence and genomic characteristics of mcr-positive *Escherichia coli* strains isolated from humans, pigs, and foods in China. *Microbiology Spectrum*, *11*(3), e04569-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04569-22>
254. Lubad, M. A. A., Abu-Helalah, M. A., Al-Hajaia, T. S., Al-Hutaibat, K. A., Aqel, A. A., & Alzoubi, H. (2023). COVID-19 pandemic impact on antibiotics sensitivity of *E. coli* and *K. pneumoniae* from urine specimens: A retrospective study. *The Journal of Infection in Developing Countries*, *17*(08), 1070-1075. <https://doi.org/10.3855/jidc.17615>
255. Lucien, M. A. B., Canarie, M. F., Kilgore, P. E., Jean-Denis, G., Fénélon, N., Pierre, M., ... & Ramon-Pardo, P. (2021). Antibiotics and antimicrobial resistance in the COVID-19 era: Perspective from resource-limited settings. *International journal of infectious diseases*, *104*, 250-254. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.12.087>
256. Luo, H., Xiao, Y., Hang, Y., Chen, Y., Zhu, H., Fang, X., ... & Hu, L. (2021). Comparison of therapy with  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor combinations or carbapenems for bacteraemia of nonurinary source caused by ESBL-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, *20*, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00471-6>
257. Ma, J., Song, X., Li, M., Yu, Z., Cheng, W., Yu, Z., ... & Li, L. (2023). Global spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Epidemiological features, resistance mechanisms, detection and therapy. *Microbiological Research*, *266*, 127249. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127249>
258. MacLennan, W. J. (1998). Infections in elderly patients. *Reviews in Clinical Gerontology*, *8*(3), 203-216. <https://doi.org/10.1017/S0959259898008338>
259. Madueño, A., Garcia, J. G., Aguirre-Jaime, A., & Lecuona, M. (2017). A hospital-based matched case-control study to identify risk factors for clinical infection with OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in rectal carriers. *Epidemiology & Infection*, *145*(12), 2626-2630. <https://doi.org/10.1017/S095026881700142X>

260. Magnet, S., & Blanchard, J. S. (2005). Molecular insights into aminoglycoside action and resistance. *Chemical Reviews*, 105(2), 477–498. <https://doi.org/10.1021/cr0301088>
261. Mairi, A., Barraud, O., Muggeo, A., de Champs, C., & Touati, A. (2020). Genomic analysis of a multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST11 strain recovered from Barbary deer (*Cervus elaphus barbarus*) in Akfadou Forest, Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 515-518. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.04.027>
262. Mairi, A., Pantel, A., Ousalem, F., Sotto, A., Touati, A., & Lavigne, J.-P. (2019). OXA-48-producing Enterobacterales in different ecological niches in Algeria: Clonal expansion, plasmid characteristics and virulence traits. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(7), 1848–1855. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz146>
263. Mairi, A., Pantel, A., Sotto, A., Lavigne, J. P., & Touati, A. (2018). OXA-48-like carbapenemases producing Enterobacteriaceae in different niches. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 37, 587-604. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3112-7>
264. Mairi, A., Touati, A., Bessai, S. A., Boutabtoub, Y., Khelifi, F., Sotto, A., ... & Pantel, A. (2019). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae among pregnant women and newborns in Algeria: Prevalence, molecular characterization, maternal-neonatal transmission, and risk factors for carriage. *American Journal of Infection Control*, 47(1), 105-108. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2018.07.009>
265. Majowicz, S. E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F. J., Kirk, M., O'Brien, S. J., ... & International Collaboration on Enteric Disease “Burden of Illness” Studies. (2010). The global burden of nontyphoidal *Salmonella gastroenteritis*. *Clinical infectious diseases*, 50(6), 882-889. <https://doi.org/10.1086/650733>
266. Mansouri, F., Sheibani, H., Javedani Masroor, M., & Afsharian, M. (2019). Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* and urinary tract infections in pregnant/postpartum women: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Clinical Practice*, 73(12). <https://doi.org/10.1111/ijcp.13422>
267. Mansouri, M., Peerayeh, S. N., Mobarez, A. M., Bakhshi, B., Karbalaei, M., & Abdolvand, Z. (2022). Phylogenetic groups/B2 subgroup distributions, serogrouping and identification of virulence factors in extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* strains isolated from the stool of healthy children under 10 years old.

- Archives of Pediatric Infectious Diseases*, 10(3). <https://doi.org/10.5812/pedinfect-118889>
268. Marrs, E. C., Day, K. M., & Perry, J. D. (2014). In vitro activity of mecillinam against Enterobacteriaceae with NDM-1 carbapenemase. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(10), 2873-2875. <https://doi.org/10.1093/jac/dku204>
269. Martínez-Martínez, L. (2008). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and the permeability barrier. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 82-89. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01860.x>
270. Maseda, E., Salgado, P., Anillo, V., Ruiz-Carrascoso, G., Gómez-Gil, R., Martín-Funke, C., ... & Gilsanz, F. (2017). Risk factors for colonization by carbapenemase-producing enterobacteria at admission to a Surgical ICU: A retrospective study. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 35(6), 333-337. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.02.017>
271. Mathers, A. J., Peirano, G., & Pitout, J. D. (2015). The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 565-591. <https://doi.org/10.1128/CMR.00116-14>
272. Matteoli, F. P., Passarelli-Araujo, H., Reis, R. J. A., Da Rocha, L. O., De Souza, E. M., Aravind, L., ... & Venancio, T. M. (2018). Genome sequencing and assessment of plant growth-promoting properties of a *Serratia marcescens* strain isolated from vermicompost. *BMC genomics*, 19, 1-19. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5130-y>
273. Matteoli, F. P., Pedrosa-Silva, F., Dutra-Silva, L., & Giachini, A. J. (2021). The global population structure and beta-lactamase repertoire of the opportunistic pathogen *Serratia marcescens*. *Genomics*, 113(6), 3523-3532. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2021.08.009>
274. Maveke, S. M., Aboge, G. O., Kanja, L. W., Mainga, A. O., Gachau, N., Muchira, B. W., & Moriasi, G. A. (2024). Phenotypic and Genotypic Characterization of Extended Spectrum Beta-Lactamase-Producing Clinical Isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Two Kenyan Facilities: A National Referral and a Level Five Hospital. *International Journal of Microbiology*, 2024, 1-18. <https://doi.org/10.1155/2024/7463899>
275. McCowan, C., Bakhshi, A., McConnachie, A., Malcolm, W., Barry, S. J., Santiago, V. H., & Leanord, A. (2022). E. coli bacteraemia and antimicrobial

- resistance following antimicrobial prescribing for urinary tract infection in the community. *BMC infectious diseases*, 22(1), 805. <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07768-7>
276. McGarry, N., Roe, D., & Smith, S. G. (2024). Synergy between Group 2 capsules and lipopolysaccharide underpins serum resistance in extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Microbiology*, 170(8), 001493. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001493>
277. Meletis, G. (2016). Carbapenem resistance: Overview of the problem and future perspectives. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 3(1), 15–21. <https://doi.org/10.1177/2049936115621709>
278. Mellouk, F. Z., Bakour, S., Meradji, S., Al-Bayssari, C., Bentakouk, M. C., Zouyed, F., ... & Rolain, J. M. (2017). First detection of VIM-4-producing *Pseudomonas aeruginosa* and OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in Northeastern (Annaba, Skikda) Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 23(3), 335-344. <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0032>
279. Mesbah Zekar, F., Granier, S. A., Touati, A., & Millemann, Y. (2020). Occurrence of third-generation cephalosporins-resistant *Klebsiella pneumoniae* in fresh fruits and vegetables purchased at markets in Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 26(4), 353-359. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0249>
280. Meziani, D. Y., Barnich, N., Boucheham, A., Rezgoune, M. L., Benlabed, K., Rodrigues, M., & Satta, D. (2023). Identification of Virulence Markers and Phylogenetic Groups' Association, and Antimicrobial Susceptibility of Uropathogenic *Escherichia coli* Isolates. *Infectious Disorders-Drug TargetsDisorders*, 23(2), 21-31. <https://doi.org/10.2174/1871526522666220908161529>
281. Meziani, M. M., Benlabed, K., Bogaerts, P., & Glupczynski, Y. (2020). The first report of the coproduction of CMY-16 and ArmA 16S rRNA methylases in carbapenemase-ESBL producing *Escherichia coli* isolates. *European Journal of Biological Research*, 10(2), 96-104.
282. Mezzatesta, M. L., Gona, F., & Stefani, S. (2012). *Enterobacter cloacae* complex: Clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiology*, 7(7), 887–902. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.61>
283. Milenkov, M., Rasoanandrasana, S., Rahajamanana, L. V., Rakotomalala, R. S., Razafindrakoto, C. A., Rafalimanana, C., ... & Armand-Lefevre, L. (2021). Prevalence, risk factors, and genetic characterization of extended-spectrum beta-

- lactamase *Escherichia coli* isolated from healthy pregnant women in Madagascar. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 786146. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.786146>
284. Mir, R. A., Weppelmann, T. A., Johnson, J. A., Archer, D., Morris Jr, J. G., & Jeong, K. C. (2016). Identification and characterization of cefotaxime resistant bacteria in beef cattle. *PLoS One*, *11*(9), e0163279. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163279>
285. Moez, N. M., Mashouf, R. Y., Sedighi, I., Shokoozadeh, L., & Taheri, M. (2020). Phylogroup classification and investigation the relationships between phylogroups and antibiotic resistance patterns of uropathogenic *E. coli* isolated from pediatric urinary tract infection. *Gene Reports*, *20*, 100758. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100758>
286. Mohammed, E. J., Hasan, K. C., & Allami, M. (2022). Phylogenetic groups, serogroups and virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection in Baghdad, Iraq. *Iranian Journal of Microbiology*, *14*(4), 445. <https://doi.org/10.18502/ijm.v14i4.10230>
287. Møller, T. S., Liu, G., Boysen, A., Thomsen, L. E., Lüthje, F. L., Mortensen, S., ... & Olsen, J. E. (2017). Treatment with cefotaxime affects expression of conjugation associated proteins and conjugation transfer frequency of an Inc11 plasmid in *Escherichia coli*. *Frontiers in microbiology*, *8*, 2365. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02365>
288. Moosavian, M., & Emam, N. (2019). The first report of emerging mobilized colistin-resistance (mcr) genes and ERIC-PCR typing in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in southwest Iran. *Infection and drug resistance*, 1001-1010. <https://doi.org/10.2147/IDR.S192597>
289. Morice, V. (2003). *Chapitre 7—Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non exigeants* [Internet]. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.html>
290. Morrill, H. J., Pogue, J. M., Kaye, K. S., & LaPlante, K. L. (2015, April). Treatment options for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. In *Open forum infectious diseases* (Vol. 2, No. 2, p. ofv050). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofv050>
291. Moyá, B., Beceiro, A., Cabot, G., Juan, C., Zamorano, L., Alberti, S., & Oliver, A. (2012). Pan-β-lactam resistance development in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains: Molecular mechanisms, penicillin-binding protein profiles, and binding

- affinities. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(9), 4771–4778. <https://doi.org/10.1128/AAC.00680-12>
292. Mueller, M., & Tainter, C. R. (2023). *Escherichia coli* infection. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>
293. Müller, H. E. (1986). Occurrence and pathogenic role of Morganella-Proteus-Providencia group bacteria in human feces. *Journal of Clinical Microbiology*, 23(2), 404–405. <https://doi.org/10.1128/jcm.23.2.404-405.1986>
294. Munoz-Price, L. S., Poirel, L., Bonomo, R. A., Schwaber, M. J., Daikos, G. L., Cormican, M., ... & Quinn, J. P. (2013). Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *The Lancet infectious diseases*, 13(9), 785–796. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70190-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70190-7)
295. Nabti, L. Z., Sahli, F., Olowo-Okere, A., Benslama, A., Harrar, A., Lupande-Mwenebitu, D., Diene, S. M., & Rolain, J. M. (2022). Molecular Characterization of Clinical Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolates from Sétif, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 28(3), 274–279. <https://doi.org/10.1089/mdr.2021.0123>
296. Nabti, L. Z., Sahli, F., Radji, N., Mezaghcha, W., Semara, L., Aberkane, S., Lounnas, M., Solassol, J., Didelot, M. N., Jean-Pierre, H., Dumont, Y., & Godreuil, S. (2019). High Prevalence of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* in Urine Samples from Inpatients and Outpatients at a Tertiary Care Hospital in Sétif, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 25(3), 386–393. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0314>
297. Nachimuthu, R., Kannan, V. R., Bozdogan, B., Krishnakumar, V., S, K. P., & Manohar, P. (2020). CTX-M-type ESBL-mediated resistance to third-generation cephalosporins and conjugative transfer of resistance in Gram-negative bacteria isolated from hospitals in Tamil Nadu, India. *Access Microbiology*, 3(3), 000142. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000142>
298. Nasi, G. I., Georgakopoulou, K. I., Theodoropoulou, M. K., Papandreou, N. C., Chrysina, E. D., Tsiolaki, P. L., & Iconomidou, V. A. (2023). Bacterial Lectin FimH and Its Aggregation Hot-Spots: An Alternative Strategy against Uropathogenic *Escherichia coli*. *Pharmaceutics*, 15(3), 1018. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15031018>
299. Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), 142–201. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.1.142>
300. Navarro, F., Perez-Trallero, E., Marimon, J. M., Aliaga, R., Gomariz, M., & Mirelis, B. (2001). CMY-2-producing *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*,

- Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* strains isolated in Spain (October 1999-December 2000). *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(3), 383–389. <https://doi.org/10.1093/jac/48.3.383>
301. Navarro-San Francisco, C., Mora-Rillo, M., Romero-Gómez, M. P., Moreno-Ramos, F., Rico-Nieto, A., Ruiz-Carrasco, G., ... & Paño-Pardo, J. R. (2013). Bacteraemia due to OXA-48-carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a major clinical challenge. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(2), E72-E79. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12091>
302. Nazik, H., Bektore, B., Ongen, B., Ozyurt, M., Yazici, H., Baylan, O., & Haznedaroğlu, T. (2011). Determination of *Escherichia coli* and *Citrobacter koseri* isolates with OXA-48 carbapenemase in İstanbul. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 31(6), 1502–1506. <https://doi.org/10.5336/medsci.2010-22148>
303. Nedjai, S., Barguigua, A., Djahmi, N., Jamali, L., Zerouali, K., Dekhil, M., & Timinouni, M. (2012). Prevalence and characterization of extended spectrum  $\beta$ -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 42(1), 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2011.10.001>
304. Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 67(4), 593–656. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.593-656.2003>
305. Nordmann, P., Boulanger, A. E., & Poirel, L. (2012). NDM-4 metallo- $\beta$ -lactamase with increased carbapenemase activity from *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(4), 2184–2186. <https://doi.org/10.1128/AAC.05961-11>
306. Nordmann, P., Dortet, L., & Poirel, L. (2012). Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: Here is the storm! *Trends in Molecular Medicine*, 18(5), 263–272. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.03.003>
307. Nordmann, P., Naas, T., & Poirel, L. (2011). Global spread of carbapenemase producing Enterobacteriaceae. *Emerging Infectious Diseases*, 17(10), 1791–1798. <https://doi.org/10.3201/eid1710.110655>
308. Nordmann, P., & Poirel, L. (2013). Strategies for identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(3), 487–489. <https://doi.org/10.1093/jac/dks426>
309. Nordmann, P., Poirel, L., & Dortet, L. (2012). Rapid detection of carbapenemase-producing enterobacteriaceae. *Emerging Infectious Diseases*, 18(9), 1503–1507. <https://doi.org/10.3201/eid1809.120355>

310. Nordmann, P., Poirel, L., Walsh, T. R., & Livermore, D. M. (2011). The emerging NDM carbapenemases. *Trends in microbiology*, *19*(12), 588-595. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.09.005>
311. Norrby, S. R. (2000). Neurotoxicity of carbapenem antibiotics: consequences for their use in bacterial meningitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *45*(1), 5-7. <https://doi.org/10.1093/jac/45.1.5>
312. Nurjadi, D., Eichel, V. M., Pöschl, J., Gille, C., Kranig, S., Heeg, K., & Boutin, S. (2023). Monocentric observational cohort study to investigate the transmission of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacterales in a neonatal intensive care unit in Heidelberg, Germany. *Microbiology spectrum*, *11*(5), e02038-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02038-23>
313. Obeng-Nkrumah, N., Hansen, D. S., Awuah-Mensah, G., Blankson, N. K., Frimodt-Møller, N., Newman, M. J., ... & Krogfelt, K. A. (2023). High level of colonization with third-generation cephalosporin-resistant Enterobacterales in African community settings, Ghana. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *106*(1), 115918. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2023.115918>
314. Ogbolu, D. O., Terry Alli, O. A., Webber, M. A., Oluremi, A. S., & Oloyede, O. M. (2018). CTX-M-15 is established in most multidrug-resistant uropathogenic Enterobacteriaceae and *Pseudomonaceae* from hospitals in Nigeria. *European Journal of Microbiology and Immunology*, *8*(1), 20-24. <https://doi.org/10.1556/1886.2017.00012>
315. O'Hara, C. M., Brenner, F. W., & Miller, J. M. (2000). Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews*, *13*(4), 534-546. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.4.534>
316. Okamoto, M. P., Nakahiro, R. K., Chin, A., Bedikian, A., & Gill, M. A. (1994). Cefepime: A new fourth-generation cephalosporin. *American Journal of Hospital Pharmacy*, *51*(4), 463-477; quiz 541-542.
317. Oliveira, M. C., Oliveira, C. R. A., Gonçalves, K. V., Santos, M. S., Tardelli, A. C. S., & Nobre, V. A. (2015). Enterobacteriaceae resistant to third generation cephalosporins upon hospital admission: Risk factors and clinical outcomes. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, *19*(3), 239-245. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2015.01.006>

318. Oman, H. S., Kharat, A. A., Phatak, P. S., Haval, K. P., Kulkarni, J. A., Kakde, G. S., ... & Kharat, A. S. (2023). Synthesis and evaluation of 1, 2, 3-triazole benzoate derivatives for inhibition of serine  $\beta$ -lactamases in extensively drug resistant pathogenic *E. coli* strains. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, 9, 100109. <https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2023.100109>
319. O'Neill, J. (2016). Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. <https://apo.org.au/node/63983>
320. Oteo, J., Hernández, J. M., Espasa, M., Fleites, A., Sáez, D., Bautista, V., ... & Campos, J. (2013). Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* and the novel carbapenemases OXA-244 and OXA-245 in Spain. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(2), 317-321. <https://doi.org/10.1093/jac/dks383>
321. Oteo, J., Pérez-Vázquez, M., & Campos, J. (2010). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Current opinion in infectious diseases*, 23(4), 320-326. <https://doi.org/10.1097/qco.0b013e3283398dc1>
322. Ouchar Mahamat, O., Lounnas, M., Hide, M., Tidjani, A., Benavides, J., Diack, A., ... & Godreuil, S. (2019). Spread of NDM-5 and OXA-181 carbapenemase-producing *Escherichia coli* in Chad. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(11), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/AAC.00646-19>
323. Pagès, J. M., James, C. E., & Winterhalter, M. (2008). The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 6(12), 893-903. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1994>
324. Pais, G. M., Chang, J., Barreto, E. F., Stitt, G., Downes, K. J., Alshaer, M. H., ... & Scheetz, M. H. (2022). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefepime. *Clinical pharmacokinetics*, 61(7), 929-953. <https://doi.org/10.1007/s40262-022-01137-y>
325. Pandey, N., & Cascella, M. (2023). Beta-lactam antibiotics. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545311/>
326. Paniagua-Contreras, G. L., Monroy-Pérez, E., Rodríguez-Moctezuma, J. R., Domínguez-Trejo, P., Vaca-Paniagua, F., & Vaca, S. (2017). Virulence factors, antibiotic resistance phenotypes and O-serogroups of *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infection patients in Mexico. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 50(4), 478-485. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2015.08.005>

327. Pantel, A., Boutet-Dubois, A., Jean-Pierre, H., Marchandin, H., Sotto, A., Lavigne, J. P., & CARB-LR group. (2014). French regional surveillance program of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli: results from a 2-year period. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 33, 2285-2292. <https://doi.org/10.1007/s10096-014-2189-5>
328. Papagiannitsis, C. C., Izdebski, R., Baraniak, A., Fiett, J., Herda, M., Hrabák, J., ... & Fierro, J. (2015). Survey of metallo- $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae colonizing patients in European ICUs and rehabilitation units, 2008–11. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(7), 1981-1988. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv055>
329. Park, K. S., Kim, D. R., Baek, J. Y., Shin, A., Kim, K. R., Park, H., ... & Kim, Y. J. (2023). Susceptibility to Fosfomycin and Nitrofurantoin of ESBL-Positive *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolated From Urine of Pediatric Patients. *Journal of Korean Medical Science*, 38(48). <https://doi.org/10.3346/jkms.2023.38.e361>
330. Paterson, D. L. (2006). Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *American journal of infection control*, 34(5), S20-S28. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2006.05.238>
331. Paterson, D. L., & Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases: A clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4), 657–686. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005>
332. Peirano, G., Matsumura, Y., Adams, M. D., Bradford, P., Motyl, M., Chen, L., Kreiswirth, B. N., & Pitout, J. D. D. (2018). Genomic Epidemiology of Global Carbapenemase-Producing *Enterobacter spp.*, 2008-2014. *Emerging Infectious Diseases*, 24(6), 1010–1019. <https://doi.org/10.3201/eid2406.171648>
333. Pérez-Blanco, V., Redondo-Bravo, L., Ruíz-Carrascoso, G., Paño-Pardo, J. R., Gómez-Gil, R., Robustillo-Rodela, A., García-Rodríguez, J., Mingorance, J., & Herruzo, R. (2018). Epidemiology and control measures of an OXA-48-producing Enterobacteriaceae hospital-wide oligoclonal outbreak. *Epidemiology and Infection*, 146(5), 656–662. <https://doi.org/10.1017/S0950268818000249>
334. Pernodet, N. (1996). *Mecanismes de l'electrophorese de l'adn en double brins sur gels d'agarose* [These de doctorat, Université Louis Pasteur (Strasbourg) (1971-2008)]. <https://www.theses.fr/1996STR13279>
335. Pestourie, N., Garnier, F., Barraud, O., Bedu, A., Ploy, M.-C., & Mounier, M. (2014). Outbreak of AmpC  $\beta$ -lactamase-hyper-producing *Enterobacter cloacae* in a

- neonatal intensive care unit in a French teaching hospital. *American Journal of Infection Control*, 42(4), 456–458. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2013.11.005>
336. Picard, B., Garcia, J. S., Gouriou, S., Duriez, P., Brahimi, N., Bingen, E., Elion, J., & Denamur, E. (1999). The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. *Infection and Immunity*, 67(2), 546–553. <https://doi.org/10.1128/IAI.67.2.546-553.1999>
337. Pincus, D. H. (2006). Microbial identification using the bioMérieux Vitek® 2 system. *Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods*. Bethesda, MD: Parenteral Drug Association, 2006, 1-32.
338. Pitout, J. D. (2008). Multiresistant Enterobacteriaceae: New threat of an old problem. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 6(5), 657–669. <https://doi.org/10.1586/14787210.6.5.657>
339. Pitout, J. D., & Laupland, K. B. (2008). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *The Lancet infectious diseases*, 8(3), 159-166. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70041-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70041-0)
340. Pitout, J. D., Peirano, G., Kock, M. M., Strydom, K. A., & Matsumura, Y. (2019). The global ascendancy of OXA-48-type carbapenemases. *Clinical microbiology reviews*, 33(1), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/CMR.00102-19>
341. Poirel, L., Benouda, A., Hays, C., & Nordmann, P. (2011). Emergence of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Morocco. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(12), 2781–2783. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr384>
342. Poirel, L., Héritier, C., Tolün, V., & Nordmann, P. (2004). Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(1), 15–22. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.1.15-22.2004>
343. Poirel, L., Jayol, A., Bontron, S., Villegas, M. V., Ozdamar, M., Türkoglu, S., & Nordmann, P. (2015). The mgrB gene as a key target for acquired resistance to colistin in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(1), 75-80. <https://doi.org/10.1093/jac/dku323>
344. Poirel, L., Potron, A., & Nordmann, P. (2012). OXA-48-like carbapenemases: The phantom menace. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(7), 1597–1606. <https://doi.org/10.1093/jac/dks121>
345. Popa, G. L., & Popa, M. I. (2021). *Salmonella* spp. Infection – a continuous threat worldwide. *GERMS*, 11(1), 88–96. <https://doi.org/10.18683/germs.2021.1244>

346. Porreca, A. M., Sullivan, K. V., & Gallagher, J. C. (2018). The Epidemiology, Evolution, and Treatment of KPC-Producing Organisms. *Current Infectious Disease Reports*, 20(6), 13. <https://doi.org/10.1007/s11908-018-0617-x>
347. Potron, A., Poirel, L., & Nordmann, P. (2014). Derepressed transfer properties leading to the efficient spread of the plasmid encoding carbapenemase OXA-48. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(1), 467–471. <https://doi.org/10.1128/AAC.01344-13>
348. Potron, A., Poirel, L., Rondinaud, E., & Nordmann, P. (2013). Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae over a 11-year period, 2001 to 2011. *Eurosurveillance*, 18(31). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2013.18.31.20549>
349. Poulakou, G., Lagou, S., Papadatos, S., Anagnostopoulos, I., Papatheodoridi, M., & Dimopoulos, G. (2019). Infections in elderly intensive care unit patients. *Journal of Emergency and Critical Care Medicine*, 3. <https://doi.org/10.21037/jeccm.2019.09.01>
350. Quale, J., Bratu, S., Gupta, J., & Landman, D. (2006). Interplay of efflux system, ampC, and oprD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(5), 1633–1641. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.5.1633-1641.2006>
351. Queenan, A. M., & Bush, K. (2007). Carbapenemases: The versatile beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(3), 440–458. <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07>
352. Radera, S., Srivastava, S., & Agarwal, J. (2022). Virulence genotyping and multidrug resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from community-acquired and hospital-acquired urinary tract infections. *Cureus*, 14(9). <https://doi.org/10.7759/cureus.29404>
353. Rahman, M., Prasad, K. N., Gupta, S., Singh, S., Singh, A., Pathak, A., ... & Gonzalez-Zorn, B. (2018). Prevalence and molecular characterization of New Delhi metallo-beta-lactamases in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from India. *Microbial Drug Resistance*, 24(6), 792-798. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0078>
354. R Rakin, A., & Heesemann, J. (1995). Virulence-associated fyuA/irp2 gene cluster of *Yersinia enterocolitica* biotype 1B carries a novel insertion sequence IS

1328. *FEMS microbiology letters*, 129(2-3), 287-292. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1995.tb07594.x>
355. Ramos, J. M., Aguado, J. M., Pilar, G. C., Ales, J. M., & Soriano, F. (1996). Clinical spectrum of urinary tract infections due to nontyphoidal *Salmonella* species. *Clinical infectious diseases*, 23(2), 388-390. <https://doi.org/10.1093/clinids/23.2.388>
356. Ramsey, C., & MacGowan, A. P. (2016). A review of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of aztreonam. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(10), 2704–2712. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw231>
357. Rawson, T. M., Ming, D., Ahmad, R., Moore, L. S., & Holmes, A. H. (2020). Antimicrobial use, drug-resistant infections and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 18(8), 409-410. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0395-y>
358. Raymann, K., Coon, K. L., Shaffer, Z., Salisbury, S., & Moran, N. A. (2018). Pathogenicity of *Serratia marcescens* strains in honey bees. *MBio*, 9(5), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/mBio.01649-18>
359. Rebbah, N., Messai, Y., Chatre, P., Haenni, M., Madec, J. Y., & Bakour, R. (2018). Diversity of CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Escherichia coli* isolates from retail raw ground beef: first report of CTX-M-24 and CTX-M-32 in Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 24(7), 896-908. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0171>
360. Rebelo, A. R., Bortolaia, V., Kjeldgaard, J. S., Pedersen, S. K., Leekitcharoenphon, P., Hansen, I. M., ... & Hendriksen, R. S. (2018). Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4 and mcr-5 for surveillance purposes. *Eurosurveillance*, 23(6), 17-00672. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.6.17-00672>
361. Regev-Yochay, G., Smollan, G., Tal, I., Pinas Zade, N., Haviv, Y., Nudelman, V., Gal-Mor, O., Jaber, H., Zimlichman, E., Keller, N., & Rahav, G. (2018). Sink traps as the source of transmission of OXA-48-producing *Serratia marcescens* in an intensive care unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 39(11), 1307–1315. <https://doi.org/10.1017/ice.2018.235>
362. Rhim, H., Trad, R. B., Haddad, O., Kadri, Y., & Mastouri, M. (2022). Comparative study of multidrug-resistant bacterial infections in hospitals and community settings in the region of Monastir–Tunisia. *La Tunisie Medicale*, 100(5), 390.

363. Ribić, R., Meštrović, T., Neuberg, M., & Kozina, G. (2018). Effective anti-adhesives of uropathogenic *Escherichia coli*. *Acta Pharmaceutica*, 68(1), 1–18. <https://doi.org/10.2478/acph-2018-0004>
364. Rice, L. B. (2008). Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *The Journal of infectious diseases*, 197(8), 1079–1081. <https://doi.org/10.1086/533452>
365. Richter, S. S., & Marchaim, D. (2017). Screening for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Who, When, and How? *Virulence*, 8(4), 417–426. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1255381>
366. Robin, F., Aggoune-Khinache, N., Delmas, J., Naim, M., & Bonnet, R. (2010). Novel VIM metallo-beta-lactamase variant from clinical isolates of Enterobacteriaceae from Algeria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(1), 466–470. <https://doi.org/10.1128/AAC.00017-09>
367. Robin, F., Gibold, L., & Bonnet, R. (2012). Résistances naturelles et acquises aux  $\beta$ -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? *Revue Francophone des laboratoires*, 2012(445), 47-58. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(12\)71676-3](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(12)71676-3)
368. Rodríguez-Guerrero, E., Cabello, H. R., Expósito-Ruiz, M., Navarro-Marí, J. M., & Gutiérrez-Fernández, J. (2023). Antibiotic resistances of enterobacteriaceae with chromosomal ampc in urine cultures: review and experience of a spanish hospital. *Antibiotics*, 12(4), 730. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040730>
369. Rodriguez-Martinez, J. M., Nordmann, P., Fortineau, N., & Poirel, L. (2010). VIM-19, a metallo- $\beta$ -lactamase with increased carbapenemase activity from *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(1), 471-476. <https://doi.org/10.1128/AAC.00458-09>
370. Rodríguez-Martínez, J. M., Poirel, L., & Nordmann, P. (2009). Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(11), 4783-4788.. <https://doi.org/10.1128/AAC.00574-09>
371. Rohde, A. M., Wiese-Posselt, M., Zweigner, J., Schwab, F., Mischnik, A., Seifert, H., ... & Kern, W. V. (2018). High admission prevalence of fluoroquinolone resistance in third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in German university hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(6), 1688-1691. <https://doi.org/10.1093/jac/dky040>

372. Roll, D. M., Yang, Y., Wildey, M. J., Bush, K., & Lee, M. D. (2010). Inhibition of metallo- $\beta$ -lactamases by pyridine monothiocarboxylic acid analogs. *The Journal of Antibiotics*, *63*(5), 255-257. <https://doi.org/10.1038/ja.2010.20>
373. Rosana, Y., Herliyana, L., Krisandi, G., & Suwarsono, E. A. (2023). Profile of multidrug-resistant bacteria causing urinary tract infections in inpatients and outpatients in Jakarta and Tangerang. *Universa Medicina*, *42*(3), 303-313. <https://doi.org/10.18051/UnivMed.2023.v42.303-313>
374. Rosenthal, V. D., Maki, D. G., & Graves, N. (2008). The International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC): goals and objectives, description of surveillance methods, and operational activities. *American journal of infection control*, *36*(9), e1-e12. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2008.06.003>
375. Rossolini, G. M., D'andrea, M. M., & Mugnaioli, C. (2008). The spread of CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, *14*, 33-41. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01867.x>
376. Russo, T. A., & Johnson, J. R. (2000). Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *The Journal of Infectious Diseases*, *181*(5), 1753–1754. <https://doi.org/10.1086/315418>
377. Russo, T. A., & Johnson, J. R. (2003). Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: Focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes and Infection*, *5*(5), 449–456. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(03\)00049-2](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(03)00049-2)
378. Russo, T. A., & Marr, C. M. (2019). Hypervirulent *klebsiella pneumoniae*. *Clinical microbiology reviews*, *32*(3), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-19>
379. Rusu, A., & Lungu, I. (2020). The new fifth-generation cephalosporins – a balance between safety and efficacy. *Romanian Journal of Pharmaceutical Practice*, *13*, 121–126. <https://doi.org/10.37897/RJPhP.2020.3.2>
380. Sadek, M., Bosch Duran, J., Poirel, L., & Nordmann, P. (2023). Impact of minor carbapenemases on susceptibility to novel  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor combinations and cefiderocol in enterobacterales. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *67*(5), e00078-23. <https://doi.org/10.1128/aac.00078-23>
381. Sadek, M., Bosch Duran, J., Poirel, L., & Nordmann, P. (2023). Impact of minor carbapenemases on susceptibility to novel  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor

- combinations and cefiderocol in enterobacterales. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 67(5), e00078-23. <https://doi.org/10.1128/AAC.01856-17>
382. Saeki, M., Sato, T., Furuya, D., Yakuwa, Y., Sato, Y., Kobayashi, R., ... & Takahashi, S. (2020). Clonality investigation of clinical *Escherichia coli* isolates by polymerase chain reaction-based open-reading frame typing method. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 26(1), 38-42. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2019.06.014>
383. Sah, R., Begum, S., & Anbumani, N. (2022). Colistin and Tigecycline susceptibility among carbapenemase producing Enterobacteriaceae at a tertiary care hospital of South India. *Microbes and Infectious Diseases*, 3(2), 387-397. <https://doi.org/10.21608/mid.2021.74375.1146>
384. Salamanca-Rivera, E., Palacios-Baena, Z. R., Cañada, J. E., Moure, Z., Pérez-Vázquez, M., Calvo-Montes, J., ... & Rodríguez-Baño, J. (2024). Epidemiological and clinical characterization of community, healthcare-associated and nosocomial colonization and infection due to carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Spain. *Infection*, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s15010-024-02267-0>
385. Saleem, Z., Saeed, H., Hassali, M. A., Godman, B., Asif, U., Yousaf, M., ... & Raza, S. A. (2019). Pattern of inappropriate antibiotic use among hospitalized patients in Pakistan: a longitudinal surveillance and implications. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8, 1-7. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0649-5>
386. Sallem, N., Hammami, A., & Mnif, B. (2022). Trends in human intestinal carriage of ESBL-and carbapenemase-producing Enterobacterales among food handlers in Tunisia: emergence of C1-M27-ST131 subclades, bla OXA-48 and bla NDM. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(8), 2142-2152. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac167>
387. Sanchez, S., Hofacre, C. L., Lee, M. D., Maurer, J. J., & Doyle, M. P. (2002). Animal sources of salmonellosis in humans. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221(4), 492-497. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.221.492>
388. Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences*, 74(12), 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
389. Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*

- isolated from different sources: recent reports. *Gut pathogens*, 11, 1-16. <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>
390. Sarshar, M., Scribano, D., Limongi, D., Zagaglia, C., Palamara, A. T., & Ambrosi, C. (2022). Adaptive strategies of uropathogenic *Escherichia coli* CFT073: from growth in lab media to virulence during host cell adhesion. *International Microbiology*, 25(3), 481-494. <https://doi.org/10.1007/s10123-022-00235-y>
391. Sarshar, M., Scribano, D., Marazzato, M., Ambrosi, C., Aprea, M. R., Aleandri, M., Pronio, A., Longhi, C., Nicoletti, M., Zagaglia, C., Palamara, A. T., & Conte, M. P. (2017). Genetic diversity, phylogroup distribution and virulence gene profile of *pks* positive *Escherichia coli* colonizing human intestinal polyps. *Microbial Pathogenesis*, 112, 274–278. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.10.009>
392. Sassi, A., Loucif, L., Gupta, S. K., Dekhil, M., Chettibi, H., & Rolain, J. M. (2014). NDM-5 carbapenemase-encoding gene in multidrug-resistant clinical isolates of *Escherichia coli* from Algeria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(9), 5606–5608. <https://doi.org/10.1128/AAC.02818-13>
393. Schliamser, S. E., Cars, O., & Norrby, S. R. (1991). Neurotoxicity of beta-lactam antibiotics: Predisposing factors and pathogenesis. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 27(4), 405–425. <https://doi.org/10.1093/jac/27.4.405>
394. Seguni, N. Z., Kimera, Z. I., Msafiri, F., Mgaya, F. X., Joachim, A., Mwingwa, A., & Matee, M. I. (2023). Multidrug-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from hospital sewage flowing through community sewage system and discharging into the Indian Ocean. *Bulletin of the National Research Centre*, 47(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s42269-023-01039-4>
395. Seiffert, S. N., Perreten, V., Johannes, S., Droz, S., Bodmer, T., & Endimiani, A. (2014). OXA-48 carbapenemase-producing *Salmonella enterica* serovar Kentucky isolate of sequence type 198 in a patient transferred from Libya to Switzerland. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(4), 2446–2449. <https://doi.org/10.1128/AAC.02417-13>
396. Selvan, S. R., & Ganapathy, D. (2016). Efficacy of fifth generation cephalosporins against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* -A review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 9(10), 1815. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2016.00369.3>

397. Shahar, S., Arimuthu, D. A., & Mazlan, S. A. (2022). Ertapenem-induced neurotoxicity in an end-stage renal disease patient on intermittent haemodialysis: a case report. *BMC nephrology*, *23*(1), 360. <https://doi.org/10.1186/s12882-022-02980-8>
398. Shahid, S. S., & Yousif, M. G. (2022). Prevalence of *chuA* gene virulence factor in *Escherichia coli* isolated from clinical samples in AL-Diwaniyah province. *International journal of health sciences*, *6*(S5), 2610-2618. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS5.10489>
399. Shaji, S., Selvaraj, R. K., & Shanmugasundaram, R. (2023). *Salmonella* infection in poultry: a review on the pathogen and control strategies. *Microorganisms*, *11*(11), 2814. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112814>
400. Shen, Z., Hu, Y., Sun, Q., Hu, F., Zhou, H., Shu, L., ... & Wang, S. (2018). Emerging carriage of NDM-5 and MCR-1 in *Escherichia coli* from healthy people in multiple regions in China: a cross sectional observational study. *EClinicalMedicine*, *6*, 11-20. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2018.11.003>
401. Sheng, W.-H., Badal, R. E., Hsueh, P.-R., & SMART Program. (2013). Distribution of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, AmpC  $\beta$ -lactamases, and carbapenemases among Enterobacteriaceae isolates causing intra-abdominal infections in the Asia-Pacific region: Results of the study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *57*(7), 2981–2988. <https://doi.org/10.1128/AAC.00971-12>
402. Shin, S. Y., Bae, I. K., Kim, J., Jeong, S. H., Yong, D., Kim, J. M., & Lee, K. (2012). Resistance to carbapenems in sequence type 11 *Klebsiella pneumoniae* is related to DHA-1 and loss of OmpK35 and/or OmpK36. *Journal of Medical Microbiology*, *61*(Pt 2), 239–245. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.037036-0>
403. Singh, N., & Anand, S. (2022). Enterobacteriaceae. In P. L. H. McSweeney & J. P. McNamara (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition)* (pp. 482–489). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22978-8>
404. Sligl, W., Taylor, G., & Brindley, P. G. (2006). Five years of nosocomial Gram-negative bacteremia in a general intensive care unit: Epidemiology, antimicrobial susceptibility patterns, and outcomes. *International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases*, *10*(4), 320–325. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2005.07.003>

405. Smith, J. L., Fratamico, P. M., & Gunther, N. W. (2007). Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 4(2), 134–163. <https://doi.org/10.1089/fpd.2007.0087>
406. Sora, V. M., Meroni, G., Martino, P. A., Soggiu, A., Bonizzi, L., & Zecconi, A. (2021). Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Virulence Factors and Antibiotic Resistance. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(11), 1355. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111355>
407. Sougakoff, W., Goussard, S., Gerbaud, G., & Courvalin, P. (1988). Plasmid-mediated resistance to third-generation cephalosporins caused by point mutations in TEM-type penicillinase genes. *Reviews of Infectious Diseases*, 10(4), 879–884. <https://doi.org/10.1093/clinids/10.4.879>
408. Souna, D., Amir, A. S., Bekhoucha, S. N., Berrazeg, M., & Drissi, M. (2014). Molecular typing and characterization of TEM, SHV, CTX-M, and CMY-2  $\beta$ -lactamases in *Enterobacter cloacae* strains isolated in patients and their hospital environment in the west of Algeria. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 44(4), 146–152. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.01.008>
409. Staji, H., Khoshgoftar, J., Javaheri Vayeghan, A., & Bejestani, M. (2016). Phylogenetic grouping and assessment of virulence genotypes, with antibiotic resistance patterns, of *Escherichia coli* strains implicated in female urinary tract infections. *Int J Enteric Pathog*, 4(1), 1-7. <https://www.sid.ir/paper/347497/fa>
410. Stevanin, G., Tocco Tussardi, I., Palladini, F., Montesarchio, L., Aprili, I., Zandonà, E., & Tardivo, S. (2023). Colonizations and infections due to 3GCR Enterobacteriaceae in a University hospital in Italy. *European Journal of Public Health*, 33(Supplement\_2), ckad160-1263. <https://doi.org/10.1093/eurpub/ckad160.1263>
411. Stewart, A., Harris, P., Henderson, A., & Paterson, D. (2018). Treatment of infections by OXA-48-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(11), 1–10. <https://doi.org/10.1128/AAC.01195-18>
412. Stokes, H. W., & Gillings, M. R. (2011). Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(5), 790–819. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00273.x>
413. Sun, M., Gao, X., Zhao, K., Ma, J., Yao, H., & Pan, Z. (2021). Insight into the virulence related secretion systems, fimbriae, and toxins in O2: K1 *Escherichia coli*

- isolated from bovine mastitis. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 622725. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.622725>
414. Sweeney, M. T., Lubbers, B. V., Schwarz, S., & Watts, J. L. (2018). Applying definitions for multidrug resistance, extensive drug resistance and pandrug resistance to clinically significant livestock and companion animal bacterial pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(6), 1460-1463. <https://doi.org/10.1093/jac/dky043>
415. Sy, B. M., & Tree, J. J. (2022). The small RNA CyaR activates translation of the outer membrane haem receptor chuA in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 13, 821196. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.821196>
416. Tafoukt, R., Touati, A., Leangapichart, T., Bakour, S., & Rolain, J.-M. (2017). Characterization of OXA-48-like-producing Enterobacteriaceae isolated from river water in Algeria. *Water Research*, 120, 185–189. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.073>
417. Tannou, T., Koeberle, S., Manckoundia, P., & Aubry, R. (2019). Multifactorial immunodeficiency in frail elderly patients: Contributing factors and management. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 49(3), 167-172. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.01.012>
418. Tantray, J. A., Mansoor, S., Wani, R. F. C., & Nissa, N. U. (2023). Chapter 23—PCR for gene amplification. In J. A. Tantray, S. Mansoor, R. F. C. Wani, & N. U. Nissa (Eds.), *Basic Life Science Methods* (pp. 99–102). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-19174-9.00023-4>
419. Tartaglione, T. A., & Polk, R. E. (1985). Review of the new second-generation cephalosporins: Cefonicid, ceforanide, and cefuroxime. *Drug Intelligence & Clinical Pharmacy*, 19(3), 188–198. <https://doi.org/10.1177/106002808501900304>
420. Teethaisong, Y., Evans, K., Nakouti, I., Tiamyom, K., Ketudat-Cairns, J. R., Hobbs, G., & Eumkeb, G. (2017). The performance of a resazurin chromogenic agar plate with a combined disc method for rapid screening of extended-spectrum- $\beta$ -lactamases, AmpC  $\beta$ -lactamases and co- $\beta$ -lactamases in Enterobacteriaceae. *Microbiology and Immunology*, 61(8), 297–304. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12499>
421. Thapa, A., Upreti, M. K., Bimali, N. K., Shrestha, B., Sah, A. K., Nepal, K., Dhungel, B., Adhikari, S., Adhikari, N., Lekhak, B., & Rijal, K. R. (2022). Detection of NDM Variants (*blaNDM-1*, *blaNDM-2*, *blaNDM-3*) from Carbapenem-Resistant

- Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: First Report from Nepal. *Infection and Drug Resistance*, 15, 4419–4434. <https://doi.org/10.2147/IDR.S369934>
422. Thibaut, S., Caillon, J., Marquet, A., Grandjean, G., Potel, G., & Ballereau, F. (2014). Epidemiology of third-generation cephalosporin-resistant community-acquired Enterobacteria isolated from elderly patients. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 44(2), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2013.11.008>
423. Toleman, M. A., & Walsh, T. R. (2011). Combinatorial events of insertion sequences and ICE in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(5), 912–935. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00294.x>
424. Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H. A., Takebayashi, Y., & Spencer, J. (2019).  $\beta$ -Lactamases and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of Molecular Biology*, 431(18), 3472–3500. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
425. Touati, A., Benallaoua, S., Forte, D., Madoux, J., Brasme, L., & de Champs, C. (2006). First report of CTX-M-15 and CTX-M-3  $\beta$ -lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae in Béjaia, Algeria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 27(5), 397–402. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.12.007>
426. Touati, A., & Mairi, A. (2020). Carbapenemase-Producing Enterobacterales in Algeria: A Systematic Review. *Microbial Drug Resistance*, 26(5), 475–482. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0320>
427. Toval, F., Köhler, C.-D., Vogel, U., Wagenlehner, F., Mellmann, A., Fruth, A., Schmidt, M. A., Karch, H., Bielaszewska, M., & Dobrindt, U. (2014). Characterization of *Escherichia coli* Isolates from Hospital Inpatients or Outpatients with Urinary Tract Infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(2), 407–418. <https://doi.org/10.1128/JCM.02069-13>
428. Toval, F., Köhler, C. D., Vogel, U., Wagenlehner, F., Mellmann, A., Fruth, A., ... & Dobrindt, U. (2014). Characterization of *Escherichia coli* isolates from hospital inpatients or outpatients with urinary tract infection. *Journal of clinical microbiology*, 52(2), 407-418. <https://doi.org/10.1128/jcm.02069-13>
429. Tsakris, A., Kristo, I., Poulou, A., Themeli-Digalaki, K., Ikonomidis, A., Petropoulou, D., Pournaras, S., & Sofianou, D. (2009). Evaluation of boronic acid disk tests for differentiating KPC-possessing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(2), 362–367. <https://doi.org/10.1128/JCM.01922-08>

430. Tsoumtsia Meda, L. L., Landraud, L., Petracchini, S., Descorps-Declere, S., Perthame, E., Nahori, M.-A., Finn, L. R., Ingersoll, M. A., Patiño-Navarrete, R., Glaser, P., Dussurget, O., Denamur, E., Mettouchi, A., & Lemichez, E. (2021). *The cnf1 gene is associated to an expanding Escherichia coli ST131 H30Rx/C2 sublineage and confers a competitive advantage for host colonization.* <https://doi.org/10.1101/2021.10.13.464032>
431. Tumbarello, M., Trecarichi, E. M., Fiori, B., Losito, A. R., D’Inzeo, T., Campana, L., Ruggeri, A., Di Meco, E., Liberto, E., Fadda, G., Cauda, R., & Spanu, T. (2012). Multidrug-resistant *Proteus mirabilis* bloodstream infections: Risk factors and outcomes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(6), 3224–3231. <https://doi.org/10.1128/AAC.05966-11>
432. Tzouveleakis, L. S., Markogiannakis, A., Psychogiou, M., Tassios, P. T., & Daikos, G. L. (2012). *Carbapenemases in Klebsiella pneumoniae and Other Enterobacteriaceae: An Evolving Crisis of Global Dimensions.* 25(4), 682–707. <https://doi.org/10.1128/CMR.05035-11>
433. Valiakos, G., & Kapna, I. (2021). Colistin resistant mcr genes prevalence in livestock animals (swine, bovine, poultry) from a multinational perspective. A systematic review. *Veterinary Sciences*, 8(11), 265. <https://doi.org/10.3390/vetsci8110265>
434. van der Bij, A. K., & Pitout, J. D. D. (2012). The role of international travel in the worldwide spread of multiresistant Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(9), 2090–2100. <https://doi.org/10.1093/jac/dks214>
435. Van Duin, D., & Paterson, D. (2016). Multidrug resistant bacteria in the community: trends and lessons learned. *Infectious disease clinics of North America*, 30(2), 377. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.004>
436. van Duin, D., & Paterson, D. L. (2020). Multidrug-resistant bacteria in the community: an update. *Infectious Disease Clinics*, 34(4), 709-722. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2020.08.002>
437. Van Elsas, J. D., Semenov, A. V., Costa, R., & Trevors, J. T. (2011). Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. *The ISME journal*, 5(2), 173-183. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.80>
438. Vargas-Gutierrez, P., Silva-Sanchez, J., Uribe-Salas, F. J., Lopez-Jasso, F., Juarez-Perez, E. Y., Gonzalez-Martinez, M. D. R., & Barrios Camacho, H. (2024). Molecular Characterization of Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing

- Escherichia coli*: Insights into the O25b-ST131 Clone in Mexican Urinary Tract Infections. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 17(2). <https://doi.org/10.5812/jjm-143352>
439. Vasoo, S., Cunningham, S. A., Cole, N. C., Kohner, P. C., Menon, S. R., Krause, K. M., ... & Patel, R. (2015). In vitro activities of ceftazidime-avibactam, aztreonam-avibactam, and a panel of older and contemporary antimicrobial agents against carbapenemase-producing Gram-negative bacilli. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(12), 7842-7846. <https://doi.org/10.1128/AAC.02019-15>
440. Vila, J., Sáez-López, E., Johnson, J. R., Römling, U., Dobrindt, U., Cantón, R., Giske, C. G., Naas, T., Carattoli, A., Martínez-Medina, M., Bosch, J., Retamar, P., Rodríguez-Baño, J., Baquero, F., & Soto, S. M. (2016). *Escherichia coli*: An old friend with new tidings. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(4), 437–463. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw005>
441. Villegas, M. V., Pallares, C. J., Escandón-Vargas, K., Hernández-Gómez, C., Correa, A., Álvarez, C., ... & Guzmán-Blanco, M. (2016). Characterization and clinical impact of bloodstream infection caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in seven Latin American countries. *PloS one*, 11(4), e0154092. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154092>
442. Walsh, T. R. (2008). Clinically significant carbapenemases: an update. *Current opinion in infectious diseases*, 21(4), 367-371. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e328303670b>
443. Walsh, T. R., Toleman, M. A., Poirel, L., & Nordmann, P. (2005). Metallo- $\beta$ -lactamases: the quiet before the storm?. *Clinical microbiology reviews*, 18(2), 306-325. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.2.306-325.2005>
444. Wang, J., Zhou, M., Hesketh, T., & Kritsotakis, E. I. (2021). Mortality associated with third generation cephalosporin-resistance in Enterobacteriaceae infections: a multicenter cohort study in Southern China. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 19(11), 1481-1487. <https://doi.org/10.1101/2020.09.11.20192575>
445. Wang, J. T., Chang, S. C., Chang, F. Y., Fung, C. P., Chuang, Y. C., Chen, Y. S., ... & Yang Lauderdale, T. L. (2015). Antimicrobial non-susceptibility of *Escherichia coli* from outpatients and patients visiting emergency rooms in Taiwan. *PloS one*, 10(12), e0144103. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144103>

446. Wang, J. T., Wu, U. I., Lauderdale, T. L. Y., Chen, M. C., Li, S. Y., Hsu, L. Y., & Chang, S. C. (2015). Carbapenem-nonsusceptible enterobacteriaceae in Taiwan. *PloS one*, *10*(3), e0121668. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121668>
447. Wang, Z., Wen, Z., Jiang, M., Xia, F., Wang, M., Zhuge, X., & Dai, J. (2022). Dissemination of virulence and resistance genes among *Klebsiella pneumoniae* via outer membrane vesicle: An important plasmid transfer mechanism to promote the emergence of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Transboundary and Emerging Diseases*, *69*(5), e2661–e2676. <https://doi.org/10.1111/tbed.14615>
448. Wattiau, P., Boland, C., & Bertrand, S. (2011). Methodologies for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* subtyping: Gold standards and alternatives. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(22), 7877–7885. <https://doi.org/10.1128/AEM.05527-11>
449. WHO. (2024). *WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>
450. Wilson, G. M., Fitzpatrick, M. A., Suda, K. J., Smith, B. M., Gonzalez, B., Jones, M., Schweizer, M. L., Evans, M., & Evans, C. T. (2022). Comparative effectiveness of antibiotic therapy for carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE) bloodstream infections in hospitalized US veterans. *JAC-Antimicrobial Resistance*, *4*(5), dlac106. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlac106>
451. Winokur, P. L., Brueggemann, A., DeSalvo, D. L., Hoffmann, L., Apley, M. D., Uhlenhopp, E. K., ... & Doern, G. V. (2000). Animal and human multidrug-resistant, cephalosporin-resistant *Salmonella* isolates expressing a plasmid-mediated CMY-2 AmpC  $\beta$ -lactamase. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *44*(10), 2777–2783. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.10.2777-2783.2000>
452. Wiskirchen, D. E., Nordmann, P., Crandon, J. L., & Nicolau, D. P. (2014). Efficacy of humanized carbapenem and ceftazidime regimens against Enterobacteriaceae producing OXA-48 carbapenemase in a murine infection model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *58*(3), 1678–1683. <https://doi.org/10.1128/AAC.01947-13>

453. Wolff, M., Joly-Guillou, M.-L., & Pajot, O. (2008). Le point sur les carbapénèmes. *Réanimation*, 17(3), 242–250. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2008.03.001>
454. World Health Organization. (2002). *Prevention of hospital-acquired infections: A practical guide* (WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12). <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67350>
455. World Health Organization. (2023, November 21). *Antimicrobial resistance*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
456. Wu, W., Feng, Y., Tang, G., Qiao, F., McNally, A., & Zong, Z. (2019). NDM metallo- $\beta$ -lactamases and their bacterial producers in health care settings. *Clinical microbiology reviews*, 32(2), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/CMR.00115-18>
457. Wyres, K. L., & Holt, K. E. (2018). *Klebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. *Current opinion in microbiology*, 45, 131-139. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.04.004>
458. Wyres, K. L., Lam, M. M., & Holt, K. E. (2020). Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nature Reviews Microbiology*, 18(6), 344-359. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0315-1>
459. Yagi, T., Kurokawa, H., Shibata, N., Shibayama, K., & Arakawa, Y. (2000). A preliminary survey of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. *FEMS Microbiology Letters*, 184(1), 53–56. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb08989.x>
460. Yagoubat, M., El-Hadj-Khelil, A. O., Malki, A., Bakour, S., Touati, A., & Rolain, J. M. (2017). Genetic characterisation of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria isolated from the University Hospital Mohamed Boudiaf in Ouargla, southern Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 8, 55-59. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.10.008>
461. Yahiaoui, M., Robin, F., Bakour, R., Hamidi, M., Bonnet, R., & Messai, Y. (2015). Antibiotic Resistance, Virulence, and Genetic Background of Community-Acquired Uropathogenic *Escherichia coli* from Algeria. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 21(5), 516–526. <https://doi.org/10.1089/mdr.2015.0045>
462. Yaici, L., Haenni, M., Métayer, V., Saras, E., Mesbah Zekar, F., Ayad, M., Touati, A., & Madec, J.-Y. (2017). Spread of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the community through ready-to-eat sandwiches in

- Algeria. *International Journal of Food Microbiology*, 245, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.01.011>
463. Yaici, L., Haenni, M., Saras, E., Boudehouche, W., Touati, A., & Madec, J. Y. (2016). bla NDM-5-carrying IncX3 plasmid in *Escherichia coli* ST1284 isolated from raw milk collected in a dairy farm in Algeria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(9), 2671-2672. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw160>
464. Yakhchalian, N., Hamza, H. J., Al-Hasnawy, H. H., Mohammad, L. J., Judi, M. R., Al-Shirifi, H. M., & Karimi, I. (2024). Phylogenetic Analysis Detected Newly Identified Phylogroups in Uropathogenic *Escherichia coli* Isolates in Iraq. *Authorea Preprints*. <https://doi.org/10.22541/au.170602019.97747088/v1>
465. Yamachika, S., Sugihara, C., & Kamai, Y. (2018). *Correlation between penicillin-binding protein 2 mutations and carbapenem resistance in Escherichia coli*. 2013, 429–436. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.051631-0>
466. Yanat, B., Machuca, J., Yahia, R. D., Touati, A., Pascual, Á., & Rodríguez-Martínez, J. M. (2016). First report of the plasmid-mediated colistin resistance gene mcr-1 in a clinical *Escherichia coli* isolate in Algeria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 48(6), 760–761. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.09.003>
467. Yao, H., Jiang, J., Wang, H., Wei, T., Sangeetha, T., Sun, P., Jia, F., Liu, F., Fang, F., & Guo, J. (2022). An emerging unrated mobile reservoir for antibiotic resistant genes: Does transportation matter to the spread. *Environmental Research*, 213, 113634. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113634>
468. Yar, A., Choudary, M. A., Rehman, A., Hussain, A., Elahi, A., ur Rehman, F., ... & Khan, Z. (2022). Genetic Diversity and Virulence Profiling of Multi-Drug Resistant *Escherichia coli* of Human, Animal, and Environmental Origins. *Antibiotics*, 11(8), 1061. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081061>
469. Yazdanpour, Z., Tadjrobehkar, O., & Shahkhah, M. (2020). Significant association between genes encoding virulence factors with antibiotic resistance and phylogenetic groups in community acquired uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *BMC Microbiology*, 20(1), 241. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01933-1>
470. Yigit, H., Queenan, A. M., Anderson, G. J., Domenech-Sanchez, A., Biddle, J. W., Steward, C. D., Alberti, S., Bush, K., & Tenover, F. C. (2001). Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain

- of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(4), 1151–1161. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.4.1151-1161.2001>
471. Yong, D., Lee, K., Yum, J. H., Shin, H. B., Rossolini, G. M., & Chong, Y. (2002). Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo- $\beta$ -lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* *Journal of Clinical Microbiology*, 40(10), 3798–3801. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.10.3798-3801.2002>
472. Yousfi, H., Hadjadj, L., Dandachi, I., Lalaoui, R., Merah, A., Amoura, K., ... & Rolain, J. M. (2019). Colistin-and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates: Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 25(2), 258-263. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0147>
473. Yousfi, M., Mairi, A., Bakour, S., Touati, A., Hassissen, L., Hadjadj, L., & Rolain, J.-M. (2015). First report of NDM-5-producing *Escherichia coli* ST1284 isolated from dog in Bejaia, Algeria. *New Microbes and New Infections*, 8, 17–18. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2015.09.002>
474. Yousfi, M., Touati, A., Mairi, A., Brasme, L., Gharout-Sait, A., Guillard, T., & De Champs, C. (2016). Emergence of carbapenemase-producing *Escherichia coli* isolated from companion animals in Algeria. *Microbial drug resistance*, 22(4), 342-346. <https://doi.org/10.1089/mdr.2015.0196>
475. Yu, H. S., Lee, J. C., Kang, H. Y., Jeong, Y. S., Lee, E. Y., Choi, C. H., Tae, S. H., Lee, Y. C., Seol, S. Y., & Cho, D. T. (2004). Prevalence of dfr genes associated with integrons and dissemination of dfrA17 among urinary isolates of *Escherichia coli* in Korea. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(3), 445–450. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh097>
476. Yusuf, H. O., Olu, J., & Ajenifujah-solebo, S. O. (2022). Identification and Sequencing of aflP (omt) and aflD (Nor-1) Genes from *Aspergillus flavus* Species isolated from Maize (*Zea mays* L.), Obtained Across Abuja, Nigeria. *Journal of Biochemistry & Molecular Biology*, 1(1).. <https://doi.org/10.36108/jbmb/2202.10.0120>
477. Zagaglia, C., Ammendolia, M. G., Maurizi, L., Nicoletti, M., & Longhi, C. (2022). Urinary tract infections caused by uropathogenic *Escherichia coli* strains—new strategies for an old pathogen. *Microorganisms*, 10(7), 1425. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071425>
478. Zhanel, G. G., Lawson, C. D., Adam, H., Schweizer, F., Zelenitsky, S., Lagacé-Wiens, P. R., ... & Karlowsky, J. A. (2013). Ceftazidime-avibactam: a novel

- cephalosporin/ $\beta$ -lactamase inhibitor combination. *Drugs*, 73, 159-177.  
<https://doi.org/10.1007/s40265-013-0013-7>
479. Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., ... & Cao, B. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The lancet*, 395(10229), 1054-1062.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
480. Zhou, Q., Tang, M., Zhang, X., Lu, J., Tang, X., & Gao, Y. (2022). Detection of AmpC  $\beta$ -lactamases in gram-negative bacteria. *Heliyon*, 8(12), e12245.  
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12245>
481. Zurfluh, K., Nüesch-Inderbinen, M. T., Poirel, L., Nordmann, P., Hächler, H., & Stephan, R. (2015). Emergence of *Escherichia coli* producing OXA-48  $\beta$ -lactamase in the community in Switzerland. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 4(1), 1–3. <https://doi.org/10.1186/s13756-015-0051-x>
482. Zurita, J., Solís, M. B., Ortega-Paredes, D., Barba, P., Paz Y Miño, A., & Sevillano, G. (2019). High prevalence of B2-ST131 clonal group among extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from bloodstream infections in Quito, Ecuador. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 19, 216–221. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.04.019>

# *Annexes*

## Annexe 1 : Tests biochimiques du Vitek 2 compact

<b>Puit</b>	<b>Test biochimique</b>	<b>Code</b>	<b>Puit</b>	<b>Test biochimique</b>	<b>Code</b>
2	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	APPA	33	SACCHAROSE/SUCROSE	SAC
3	ADONITOL	ADO	34	D-TAGATOSE	DTAG
4	L-Pynolydonyl-ARYLAMIDASE	PyrA	35	D-TREHALOSE	DTRE
5	L-ARABITO	IARL	36	CITRATE(SODIUM)	CIT
7	D-CELLOBIOSE	dCEL	37	MALONATE	MNT
9	B-GALACTOSIDASE	BGAL	39	5-KETO D-CLUCONATE	5KG
10	PRODUCTION DE H2S	H2S	40	L-LACTATE alcalinisation	ILATk
11	B-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	BNAG	41	ALPHA-GLUCOSIDASE	AGLU
12	Glutamyl Arylamidase Pna	AGLTo	42	SUCCINATE alcalinisation	SUCT
13	D-GLUCOSE	dGLU	43	B-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE	NAGA
14	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFÉRASES	GGT	44	ALPHA-GALACTOSIDASE	AGAL
15	FERMENTATION/GLUCOSE	OFF	45	PHOSPHATASE	PHOS
17	B-GLUCOSIDASE	BGLU	46	Glycine ARYLAMIDASE	GlyA
18	D-MALTOSE	dMAL	47	ORNITHINE DECARBOXYLASE	ODC
19	D-MANNITOL	dMAL	48	LYSINE DECARBOXYLASE	LDC
20	D-MANNOSE	dMNB	52	DECARBOXYLASE BASE	ODEC
21	B-XYLOSIDASE	BXYL	53	L-HISTIDINE assimilation	IHISa
22	B-Alanine arylamloase Pna	Balap	56	COUMARATE	CMT
23	L-Proline ARYLAMIDASE	ProA	57	B-GLUCORONIDASE	BGUR
26	LIPASE	LIP	58	O/129RESISTANCE(comp.vibrio)	O129R
27	PALATINOSE	PLE	59	Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	GGAA
29	Tyrosine ARYLAMIDASE	TyrA	61	L-MALATE assimilation	IMLTa
31	UREASE	URE	62	ELLMAN	ELLM
32	D-SORBITOL	dSOR	64	L-LACTATE assimilation	ILATa

**Annexe 2 : Profils biochimiques des espèces *E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae* obtenus via le Vitek 2 compact 15**

Informations sur l'identification		Heure de l'analyse :		4,83 heures		État :		Final	
Germe sélectionné		98% Probabilité		Escherichia coli					
Commentaires sur l'ident.		Profil biochimique :		0405610450526611					

Détails biochimiques																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	(+)
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	+	64	ILATa	-			

Informations sur l'identification		Heure de l'analyse :		4,05 heures		État :		Final	
Germe sélectionné		99% Probabilité		Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae					
Commentaires sur l'ident.		Profil biochimique :		6607734753565010					

Détails biochimiques																	
2	APPA	-	3	ADO	+	4	PyrA	+	5	IARL	-	7	dCEL	+	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	+	15	OFF	+
17	BGLU	+	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	+	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	+	29	TyrA	+	31	URE	+	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+
46	GlyA	+	47	ODC	-	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	-	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			

Informations sur l'identification	Heure de l'analyse :	4,92 heures	État :	Final
Germe sélectionné	99% Probabilité	Enterobacter cloacae ssp cloacae		
	Profil biochimique :	0627634553522010		
Commentaires sur l'Ident.				

## Détails biochimiques

2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	+	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	+	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	+	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	+	22	BAIap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	+	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	-	53	IHISa	-	56	CMT	-	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			

## Annexe 3 : Données enregistrées des souches

Annexe 3-a : Données enregistrées pour les espèces d'*E. coli* résistantes aux C3G isolées à l'hôpital

Code 1	Code 2	Date d'isolement	Service	Sexe	Age	Spécimen
H 1	755	17/12/2020	Unité de soins intensifs	M	80	Sang
H 3	924	24/12/2020	Néphrologie	F	75	Urine
H 4	21	11/01/2021	Néphrologie	F	82	Urine
H 7	95	02/03/2021	Urgences	F	27	Urine
H 8	181	08/03/2021	Néonatalogie	M	Nné	Urine
H 12	457	14/07/2021	Urologie	M	52	Pus
H 16	531	10/08/2021	bloc opératoire	F	18	Pus
H 17	579	24/08/2021	Unité de soins intensifs	M	60	Urine
H 18	576	24/08/2021	médecine interne	F	75	Urine
H 19	599	09/06/2021	médecine interne	F	32	Urine
H 20	609	09/11/2021	bloc opératoire	M	60	Pus
H 23	9-896	14/12/2021	Traumatologie	F	75	Pus
H 24	1006	01/02/2022	Chirurgie	F	55	Pus
H 25	295	25/02/2022	Urologie	F	60	Urine
H 26	324	04/03/2022	Bloc opératoire	M	31	Pus
H 27	376	16/03/2022	Traumatologie	M	49	Pus diabétique
H 28	379	18/03/2022	Bloc opératoire	F	60	Pus
H 29	405	22/03/2022	Chirurgie	F	49	Pus
H 31	660	25/05/2022	Néonatalogie	M	Nné	Pus
H 32	680	30/05/2022	Oncologie	F	75	Urine
H 33	713	07/06/2022	Chirurgie	M	12	Pus
H 34	730	11/06/2022	Néonatalogie	F	20	Urine
H 37	727	07/06/2022	Urologie	F	85	Urine

**Annexe 3-b :** Données enregistrées pour les *E. coli* résistantes aux C3G isolées aux laboratoires cliniques privés

Code 1	Code 2	Date d'isolement	La commune	Sexe	Age	Spécimen
C3	588	10/01/2021	Filfila	M	18	Urine
C4	205	12/01/2021	Filfila	F	5	Urine
C5	511	10/02/2021	Skikda centre	M	66	Urine
C6	571	17/02/2021	Filfila	F	50	Urine
C7	2170	03/02/2021	Azzaba	F	70	Urine
C8	1267	16/03/2021	El harrouch	M	80	Urine
C11	810	13/07/2021	Filfila	M	74	Urine
C13	88	02/12/2021	El harrouch	M	1mois	Urine
C15	656	13/12/2021	Skikda centre	F	25	Urine
C16	579	15/12/2021	El harrouch	F	5	Urine
C17	760	18/12/2021	El harrouch	F	36	Urine
C18	56	20/12/2021	Skikda centre	F	63	Urine
C19	247	21/12/2021	Skikda centre	F	96	Urine
C22	143	06/02/2022	Skikda centre	F	44	Urine
C23	360	01/03/2022	Collo	F	50	Urine
C26	97	03/04/2022	Skikda centre	M	31	Pus
C28	664	25/05/2022	Skikda centre	F	35	Urine
C33	400	14/06/2022	Hammadi krouma	F	81	Urine
C34	80	16/06/2022	Skikda centre	M	4mois	Urine
C39	127	12/09/2022	Skikda centre	M	50	Urine
C40	29	19/08/2022	Skikda centre	F	34	Urine
C41	186	19/09/2022	Skikda centre	M	50	Urine
C44	38	15/10/2022	Skikda centre	F	7	Urine
C45	86	22/7/2022	Skikda centre	F	35	Urine

**Annexe 3-c :** Données enregistrées pour les *K. pneumoniae* résistantes aux C3G isolées à l'hôpital

Code 1	Code 2	Date d'isolement	Service	Sexe	Age	Spécimen
H 2	223	20/11/2020	Urologie	F	54	Urine
H 5	373	01/12/2021	Néonatalogie	M	60	LCR
H 9	32	23/03/2021	Chirurgie	M	57	Pus Diabétique
H 10	353	06/02/2021	Chirurgie	F	71	Pus
H 11	359	06/07/2021	Néonatalogie	M	65	Urine
H 14	512	05/08/2021	Bloc opératoire	F	60	Pus
H 15	513	06/08/2021	Traumatologie	M	42	Pus
H 21	638	26/09/2021	Urologie	F	49	Urine
H 22	749	16/11/2021	Urologie	M	82	Urine
H 30	652	23/05/2022	Urgence	M	70	Urine
H 35	236	18/06/2022	Unité des soins intensifs	F	35	Pus
H 36	340	21/06/2022	Néphrologie	M	72	Urine

**Annexe 3-d :** Données enregistrées pour les *K. pneumoniae* résistantes aux C3G isolées aux laboratoires cliniques privés

Code 1	Code 2	Date d'isolement	Commune	Sexe	Age	Spécimen
C1	184	04/02/2020	Filfila	F	32	Urine
C2	K2	12/02/2020	Skikda centre	M	30	Urine
C9	26236	17/06/2021	El harrouch	F	63	Pus
C10	31	06/07/2021	Oudina	F	64	Pus
C20	24476	02/02/2022	El harrouch	F	58	Urine
C21	113	06/02/2022	Skikda centre	F	74	Urine
C24	262	24/03/2022	Skikda centre	F	64	Cathéter
C27	22	24/04/2022	Skikda centre	M	64	Urine
C30	105	03/06/2022	Skikda centre	M	7	Urine
C31	100	09/06/2022	Skikda centre	F	88	Urine
C32	107	10/06/2022	Skikda centre	F	80	Urine
C35	34	10/06/2022	Skikda centre	M	7	Urine
C36	92	11/06/2022	Skikda centre	F	93	Urine
C37	81	20/06/2022	Skikda centre	M	64	Urine
C38	2	23/06/2022	Skikda centre	M	82	Urine
C43	39	28/06/2022	Skikda centre	F	51	Urine

**Annexe 3-e :** Données enregistrées pour les *E. cloacae* résistantes aux C3G isolées à l'hôpital

Code 1	Code 2	Date d'isolement	Service	Sexe	Age	Spécimen
H 6	30	16/01/2020	Néphrologie	M	81	Urine
H 13	27-479	27/07/2021	Néphrologie	F	55	Pus

**Annexe 3-f :** Données enregistrées pour les *E. cloacae* résistantes aux C3G isolées aux laboratoires cliniques privés

Code 1	Code 2	Date d'isolement	Commune	Sexe	Age	Spécimen
C14	36	04/12/2021	El harrouch	M	25	Pus diabétique
C29	195	25/05/2022	Skikda centre	M	77	Pus

**Annexe 3-g : Données enregistrées des autres espèces d'entérobactéries résistantes aux C3G isolées aux laboratoires cliniques privés**

<b>Code 1</b>	<b>Code 2</b>	<b>Date d'isolement</b>	<b>Commune</b>	<b>Sexe</b>	<b>Age</b>	<b>Spécimen</b>	<b>ID</b>
<b>C12</b>	<b>797</b>	12/01/2021	El harrouch	M	6 jours	Selles	<i>Salmonella</i> sp
<b>C25</b>	<b>66</b>	05/04/2022	Skikda centre	M	70	Urine	<i>Serratia marcescens</i>
<b>C42</b>	<b>237</b>	10/12/2022	Skikda centre	M	72	Pus diabétique	<i>Proteus mirabilis</i>

F : Féminin ; M : Masculin ; Nné : Nouveau-né ; ID : Identification

Note : la Commune : le site du laboratoire clinique privé où sont collectées les E-RC3G.

Code1 : Code de la souche de l'étude ; Code2 : code du prélèvement au laboratoire.

**Annexe 4 : Valeurs critiques de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour divers antibiotiques selon le CLSI**

Antibiotique	CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	R	I	S
Ampicilline	$\geq 32$	16	$\leq 8$
Amoxicilline-Acide clavulanique	$\geq 32/16$	16/8	$\leq 8/4$
Piperacilline-tazobactam	$\geq 128$	-	-
Cefazoline	$\geq 32$	16	$\leq 8$
Cefoxitine	$\geq 32$	16	32
Cefotaxime	$\geq 4$	2	$\leq 1$
Ceftazidime	$\geq 8$	4	$\leq 2$
Ertapenem	$\geq 1$	0,5	$\leq 0,025$
Imipeneme	$\geq 4$	2	$\leq 1$
Amikacine	$\geq 64$	32	$\leq 16$
Gentamicine	$\geq 16$	8	$\leq 4$
Ciprofloxacine	$\geq 4$	2	$\leq 8$
Nitrofurantoin	$\geq 128$	-	
Fosfomycine	$\geq 256$	128	$\leq 64$
Chloramphenicol	$\geq 32$	16	$\leq 8$
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	4/76	-	$\leq 2/38$

R : Résistante ; I : Intermédiaire ; S : Sensible

### Annexe 5 : Profils des phylogroupes et des gènes de virulence des souches d'*E. coli*

#### Annexe 5-a : Profils des phylogroupes et des gènes de virulence des souches d'*E. coli* isolées dans les Laboratoires Privés

Type de prélèvement	Phylogroupe	<i>traT</i>	<i>hlyA</i>	<i>malX</i>	<i>cnf1</i>	<i>papC</i>	<i>papG</i>	<i>yadN</i>	<i>papAH</i>	<i>feoB</i>	<i>fyuA</i>	<i>chuA</i>	<i>irp2</i>	<i>kpsMT II</i>	<i>ompT</i>
Urine	B2	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urine	B2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urine	B2	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
Urine	B1	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-
Urine	F	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
Urine	B2	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urine	B2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Urine	A	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
Urine	E	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urine	A	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
Urine	E	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-
Urine	F	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-
Urine	E	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-
Pus	B2	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urine	E	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
Urine	B2	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urine	D	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Urine	B2	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urine	E	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
Urine	B2	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urine	E	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+
Urine	F	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+

+ : Présence du gène ; - : Absence du gène

Annexe 5-b : Profils des phylogroupes et des gènes de virulence des souches d'*E. coli* isolées à l'hôpital

Type de prélèvement	Phylogroupe	<i>traT</i>	<i>hlyA</i>	<i>malX</i>	<i>cnf1</i>	<i>papC</i>	<i>papG</i>	<i>yadN</i>	<i>papAH</i>	<i>feoB</i>	<i>fyuA</i>	<i>chuA</i>	<i>irp2</i>	<i>kpsMT II</i>	<i>ompT</i>
Sang	A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Urine	A	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Urine	A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Urine	A	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Urine	B2	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Pus	A	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Pus	A	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
Urine	A	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Urine	B2	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Urine	E	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pus	B2	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pus	A	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Urine	A	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Pus	B2	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pus	B2	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pus	B2	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+
Pus	B1	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+
Pus	D	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Urine	B1	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+
Urine	A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-

+ : Présence du gène ; - : Absence du gène

## Annexe 6 : Résultats statistiques significatifs

Annexe 6-a : Résistance à la gentamicine (GEN) des souches de l'hôpital (H) et des laboratoires privés (C)

## Code \* GEN

## Tableau croisé

Effectif		GEN		Total
		Autre	R	
Code	C	18	27	45
	H	26	11	37
Total		44	38	82

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	7,482 <sup>a</sup>	1	,006		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	6,314	1	,012		
Rapport de vraisemblance	7,632	1	,006		
Test exact de Fisher				,008	,006
N d'observations valides	82				

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 17,15.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour Code (C / H)	,282	,112	,710
Pour cohorte GEN = Autre	,569	,376	,862
Pour cohorte GEN = R	2,018	1,165	3,497
N d'observations valides	82		

## Annexe 6-b : Résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique (AUG) des souches BLSE+ et BLSE-

## ESBL \* AUG

## Tableau croisé

Effectif

		AUG		Total
		Autre	R	
ESBL	-	0	11	11
	+	28	43	71
Total		28	54	82

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	6,587 <sup>a</sup>	1	,010		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	4,950	1	,026		
Rapport de vraisemblance	10,054	1	,002		
Test exact de Fisher				,013	,007
N d'observations valides	82				

a. 1 cellules (25,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 3,76.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Pour cohorte AUG = R	1,651	1,369	1,992
N d'observations valides	82		

AUG : Augmentin/ Amoxicilline-Acide clavulanique ; ESBL : BLSE

## Annexe 6-c : Résistance à la piperacilline tazobactam (TAZ) des souches BLSE+ et BLSE-

## ESBL \* TAZ

## Tableau croisé

Effectif		TAZ		Total
		Autre	R	
ESBL	-	3	8	11
	+	42	29	71
Total		45	37	82

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	3,910 <sup>a</sup>	1	,048		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	2,728	1	,099		
Rapport de vraisemblance	3,970	1	,046		
Test exact de Fisher				,058	,049
N d'observations valides	82				

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour ESBL (- / +)	,259	,063	1,059
Pour cohorte TAZ = Autre	,461	,172	1,234
Pour cohorte TAZ = R	1,781	1,127	2,814
N d'observations valides	82		

a. 1 cellules (25,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 4,96.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

## Annexe 6-d : Résistance à la céfoxitine (FOX) des souches BLSE+ et BLSE-

## ESBL \* FOX

## Tableau croisé

Effectif

		FOX		Total
		Autre	R	
ESBL	-	0	11	11
	+	47	24	71
Total		47	35	82

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	17,060 <sup>a</sup>	1	,000		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	14,461	1	,000		
Rapport de vraisemblance	21,074	1	,000		
Test exact de Fisher				,000	,000
N d'observations valides	82				

a. 1 cellules (25,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 4,70.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Pour cohorte FOX = R	2,958	2,136	4,097
N d'observations valides	82		

## Annexe 6-e : Résistance à l'ertapenem (ERT) des souches BLSE+ et BLSE-

## ESBL \* ERT

Tableau croisé

Effectif

		ERT		Total
		Autre	R	
ESBL	-	5	6	11
	+	60	11	71
Total		65	17	82

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	8,839 <sup>a</sup>	1	,003		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	6,622	1	,010		
Rapport de vraisemblance	7,319	1	,007		
Test exact de Fisher				,008	,008
N d'observations valides	82				

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour ESBL (- / +)	,153	,040	,589
Pour cohorte ERT = Autre	,538	,279	1,035
Pour cohorte ERT = R	3,521	1,637	7,570
N d'observations valides	82		

a. 1 cellules (25,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 2,28.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

Annexe 6-f : Association significative entre les souches du phylogroupes B2 et le gène de virulence *malX*

Phylogroup * <i>malX</i>					Estimation du risque			
Tableau croisé					de confiance à 95 % asymptotique			
Effectif								
		malX		Total				
		-	+		Valeur	Inférieur	Supérieur	
Phylogroup	Autre	25	2	27	Rapport des cotes pour Phylogroup (Autre / B2)	34,375	5,462	216,348
	B2	4	11	15	Pour cohorte <i>malX</i> = -	3,472	1,490	8,091
Total		29	13	42	Pour cohorte <i>malX</i> = +	,101	,026	,397
Tests du khi-deux					N d'observations valides			
	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)			
khi-deux de Pearson	19,610 <sup>a</sup>	1	,000					
Correction pour continuité <sup>b</sup>	16,647	1	,000					
Rapport de vraisemblance	20,316	1	,000					
Test exact de Fisher				,000	,000			
N d'observations valides	42							

a. 1 cellules (25,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 4,64.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

Annexe 6-g : Association significative entre les souches du phylogroupes B2 et le gène de virulence *papC*

## Phylogroup \* papC

## Tableau croisé

Effectif

		papC		Total
		-	+	
Phylogroup	Autre	22	5	27
	B2	2	13	15
Total		24	18	42

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	18,286 <sup>a</sup>	1	,000		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	15,610	1	,000		
Rapport de vraisemblance	19,709	1	,000		
Test exact de Fisher				,000	,000
N d'observations valides	42				

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 6,43.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour Phylogroup (Autre / B2)	28,600	4,836	169,153
Pour cohorte papC = -	6,111	1,661	22,484
Pour cohorte papC = +	,214	,095	,483
N d'observations valides	42		

Annexe 6-h : Association significative entre les souches du phylogroupes B2 et le gène de virulence *papG*

## Phylogroup \* papG

## Tableau croisé

Effectif

		papG		Total
		-	+	
Phylogroup	Autre	22	5	27
	B2	2	13	15
Total		24	18	42

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	18,286 <sup>a</sup>	1	,000		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	15,610	1	,000		
Rapport de vraisemblance	19,709	1	,000		
Test exact de Fisher				,000	,000
N d'observations valides	42				

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour Phylogroup (Autre / B2)	28,600	4,836	169,153
Pour cohorte papG = -	6,111	1,661	22,484
Pour cohorte papG = +	,214	,095	,483
N d'observations valides	42		

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 6,43.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

Annexe 6-i: Association significative entre les souches du phylogroupes B2 et le gène de virulence *papAH*

## Phylogroup \* papAH

## Tableau croisé

Effectif

		papAH		Total
		-	+	
Phylogroup	Autre	21	6	27
	B2	2	13	15
Total		23	19	42

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	16,166 <sup>a</sup>	1	,000		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	13,669	1	,000		
Rapport de vraisemblance	17,458	1	,000		
Test exact de Fisher				,000	,000
N d'observations valides	42				

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour Phylogroup (Autre / B2)	22,750	3,980	130,054
Pour cohorte papAH = -	5,833	1,580	21,530
Pour cohorte papAH = +	,256	,123	,534
N d'observations valides	42		

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 6,79.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

Annexe 6-j: Association significative entre les souches du phylogroupes B2 et le gène de virulence *chuA*

## Phylogroup \* chuA

## Tableau croisé

Effectif		chuA		Total
		-	+	
Phylogroup	Autre	14	13	27
	B2	1	14	15
Total		15	27	42

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	8,575 <sup>a</sup>	1	,003		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	6,720	1	,010		
Rapport de vraisemblance	10,007	1	,002		
Test exact de Fisher				,006	,003
N d'observations valides	42				

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour Phylogroup (Autre / B2)	15,077	1,731	131,344
Pour cohorte chuA = -	7,778	1,131	53,482
Pour cohorte chuA = +	,516	,341	,781
N d'observations valides	42		

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 5,36.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

**Annexe 6-k** : Association significative entre les souches du phylogroupes B2 et le gène de virulence *KpsMT II*

### Phylogroup \* kpsMT II

#### Tableau croisé

Effectif

		kpsMT II		Total
		-	+	
Phylogroup	Autre	20	7	27
	B2	2	13	15
Total		22	20	42

#### Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	14,263 <sup>a</sup>	1	,000		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	11,932	1	,001		
Rapport de vraisemblance	15,446	1	,000		
Test exact de Fisher				,000	,000
N d'observations valides	42				

#### Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour Phylogroup (Autre / B2)	18,571	3,327	103,673
Pour cohorte kpsMT II = -	5,556	1,500	20,577
Pour cohorte kpsMT II = +	,299	,153	,583
N d'observations valides	42		

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 7,14.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

Annexe 6-1 : Association significative entre les souches du phylogroupes B2 et le gène de virulence *ompT*

## Phylogroup \* ompT

## Tableau croisé

Effectif		ompT		Total
		-	+	
Phylogroup	Autre	17	10	27
	B2	1	14	15
Total		18	24	42

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	12,479 <sup>a</sup>	1	,000		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	10,286	1	,001		
Rapport de vraisemblance	14,422	1	,000		
Test exact de Fisher				,000	,000
N d'observations valides	42				

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour Phylogroup (Autre / B2)	23,800	2,707	209,268
Pour cohorte ompT = -	9,444	1,391	64,129
Pour cohorte ompT = +	,397	,238	,661
N d'observations valides	42		

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 6,43.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

Annexe 6-m : Association significative entre le gène *papC* et la multirésistance aux antibiotiques

<b>MDR profile * <u>papC</u></b>				
<b>Tableau croisé</b>				
Effectif		papC		Total
		-	+	
MDR profile	NO	12	3	15
	YES	12	15	27
Total		24	18	42

<b>Tests du khi-deux</b>					<b>Estimation du risque</b>				
	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)	de confiance à 95 % asymptotique			
						Valeur	Inférieur	Supérieur	
khi-deux de Pearson	4,978 <sup>a</sup>	1	,026			Rapport des cotes pour MDR profile (NO / YES)	5,000	1,143	21,864
Correction pour continuité <sup>b</sup>	3,632	1	,057			Pour cohorte papC = -	1,800	1,101	2,943
Rapport de vraisemblance	5,256	1	,022			Pour cohorte papC = +	,360	,124	1,046
Test exact de Fisher				,049	,02	N d'observations valides	42		
N d'observations valides	42								

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 6,43.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

MDR : Multi-drug-resistant (multirésistance aux antibiotiques)

Annexe 6-n : Association significative entre le gène *papG* et la multirésistance aux antibiotiques

## MDR profile \* papG

## Tableau croisé

Effectif		papG		Total
		-	+	
MDR profile	NO	12	3	15
	YES	12	15	27
Total		24	18	42

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	4,978 <sup>a</sup>	1	,026		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	3,632	1	,057		
Rapport de vraisemblance	5,256	1	,022		
Test exact de Fisher				,049	,027
N d'observations valides	42				

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour MDR profile (NO / YES)	5,000	1,143	21,864
Pour cohorte papG = -	1,800	1,101	2,943
Pour cohorte papG = +	,360	,124	1,046
N d'observations valides	42		

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 6,43.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

**Annexe 6-o :** Différence significative du taux de résistance à la ceftazidime (CAZ) entre les souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*.

<b>ID * CAZ</b>				
<b>Tableau croisé</b>				
Effectif		CAZ		Total
		Autre	R	
ID	E coli	12	35	47
	K pneumoniae	1	27	28
Total		13	62	75

<b>Tests du khi-deux</b>					
	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	5,906 <sup>a</sup>	1	,015		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	4,472	1	,034		
Rapport de vraisemblance	7,140	1	,008		
Test exact de Fisher				,024	,013
N d'observations valides	75				

<b>Estimation du risque</b>			
	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour ID (E coli / K pneumoniae)	9,257	1,133	75,660
Pour cohorte CAZ = Autre	7,149	,982	52,069
Pour cohorte CAZ = R	,772	,644	,926
N d'observations valides	75		

a. 1 cellules (25,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 4,85.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

**Annexe 6-p :** Différence significative du taux de résistance à l'ertapeneme (ERT) entre les souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*.

Effectif		ERT		
		Autre	R	Total
ID	E coli	41	6	47
	K pneumoniae	19	9	28
Total		60	15	75

Tests du khi-deux					Estimation du risque			
	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)	de confiance à 95 % asymptotique		
						Valeur	Inférieur	Supérieur
khi-deux de Pearson	4,118 <sup>a</sup>	1	,042					
Correction pour continuité <sup>b</sup>	2,996	1	,083			Rapport des cotes pour ID (E coli / K pneumoniae)	1,007	10,403
Rapport de vraisemblance	3,996	1	,046			Pour cohorte ERT = Autre	,974	1,697
Test exact de Fisher				,071	,043	Pour cohorte ERT = R	,158	,998
N d'observations valides	75					N d'observations valides	75	

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 5,60.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

**Annexe 6-q** : Différence significative du taux de résistance à l'ipénème (IMP) entre les souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*.

## ID \* IMP

## Tableau croisé

Effectif

		IMP		Total
		Autre	R	
ID	E coli	44	3	47
	K pneumoniae	20	8	28
Total		64	11	75

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	6,902 <sup>a</sup>	1	,009		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	5,243	1	,022		
Rapport de vraisemblance	6,716	1	,010		
Test exact de Fisher				,015	,012
N d'observations valides	75				

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour ID (E coli / K pneumoniae)	5,867	1,406	24,473
Pour cohorte IMP = Autre	1,311	1,025	1,676
Pour cohorte IMP = R	,223	,065	,773
N d'observations valides	75		

a. 1 cellules (25,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 4,11.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

**Annexe 6-r** : Différence significative du taux de résistance à l'amikacine (AK) entre les souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*.

## ID \* AK

## Tableau croisé

Effectif		AK		Total
		Autre	R	
ID	E coli	47	0	47
	K pneumoniae	24	4	28
Total		71	4	75

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	7,093 <sup>a</sup>	1	,008		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	4,545	1	,033		
Rapport de vraisemblance	8,266	1	,004		
Test exact de Fisher				,017	,017
N d'observations valides	75				

a. 2 cellules (50,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 1,49.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Pour cohorte AK = Autre	1,167	1,003	1,357
N d'observations valides	75		

**Annexe 6-s :** Différence significative du taux de résistance à la gentamicine (GEN) entre les souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*.

<b>ID * GEN</b>					<b>Estimation du risque</b>		
<b>Tableau croisé</b>					de confiance à 95 % asymptotique		
Effectif							
		GEN					
		Autre	R	Total			
ID	E coli	31	16				
	K pneumoniae	12	16				
Total		43	32	75			

<b>Tests du khi-deux</b>					<b>Estimation du risque</b>		
	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)		
khi-deux de Pearson	3,828 <sup>a</sup>	1	,050			Valeur	de confiance à 95 % asymptotique
Correction pour continuité <sup>b</sup>	2,942	1	,086			Rapport des cotes pour ID (E coli / K pneumoniae)	Inférieur      Supérieur
Rapport de vraisemblance	3,826	1	,050			Pour cohorte GEN = Autre	,988      6,756
Test exact de Fisher				,058	,043	Pour cohorte GEN = R	,958      2,473
N d'observations valides	75					N d'observations valides	,357      ,993

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 11,95.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

**Annexe 6-t :** Différence significative du taux de résistance à la ciprofloxacine (CIP) entre les souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*.

<b>ID * CIP</b>				
<b>Tableau croisé</b>				
		Effectif		
		CIP		Total
		Autre	R	
ID	E coli	11	36	47
	K pneumoniae	13	15	28
Total		24	51	75

<b>Tests du khi-deux</b>					<b>Estimation du risque</b>			
	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)	de confiance à 95 % asymptotique		
						Valeur	Inférieur	Supérieur
khi-deux de Pearson	4,275 <sup>a</sup>	1	,039					
Correction pour continuité <sup>b</sup>	3,282	1	,070					
Rapport de vraisemblance	4,210	1	,040					
Test exact de Fisher				,045	,036			
N d'observations valides	75							

Rapport des cotes pour ID (E coli / K pneumoniae)	,353	,129	,962
Pour cohorte CIP = Autre	,504	,262	,968
Pour cohorte CIP = R	1,430	,978	2,089
N d'observations valides	75		

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 8,96.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

**Annexe 6-u :** Différence significative du taux de résistance à la fosfomicine (FOS) entre les souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*.

<b>ID * FOS</b>				
<b>Tableau croisé</b>				
Effectif		FOS		Total
		Autre	R	
ID	E coli	45	2	47
	K pneumoniae	17	11	28
Total		62	13	75

<b>Tests du khi-deux</b>					
	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	15,027 <sup>a</sup>	1	,000		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	12,682	1	,000		
Rapport de vraisemblance	15,108	1	,000		
Test exact de Fisher				,000	,000
N d'observations valides	75				

<b>Estimation du risque</b>			
	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour ID (E coli / K pneumoniae)	14,559	2,920	72,591
Pour cohorte FOS = Autre	1,577	1,164	2,137
Pour cohorte FOS = R	,108	,026	,454
N d'observations valides	75		

a. 1 cellules (25,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 4,85.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

**Annexe 6-v :** Différence significative du taux de résistance à la nitrofurantoïne (NIT) entre les souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*.

## ID \* NIT

## Tableau croisé

Effectif		NIT		Total
		Autre	R	
ID	E coli	45	2	47
	K pneumoniae	13	15	28
Total		58	17	75

## Tests du khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
khi-deux de Pearson	24,345 <sup>a</sup>	1	,000		
Correction pour continuité <sup>b</sup>	21,613	1	,000		
Rapport de vraisemblance	25,068	1	,000		
Test exact de Fisher				,000	,000
N d'observations valides	75				

## Estimation du risque

	Valeur	de confiance à 95 % asymptotique	
		Inférieur	Supérieur
Rapport des cotes pour ID (E coli / K pneumoniae)	25,962	5,245	128,495
Pour cohorte NIT = Autre	2,062	1,379	3,084
Pour cohorte NIT = R	,079	,020	,322
N d'observations valides	75		

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 6,35.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

*Productions scientifiques*

### Article

Bougouizi, A., Chekroud, Z., Rahab, H., Boumegoura, A., & Touati, A. (2024). Prevalence and characterization of Carbapenem-Resistant Enterobacterales among inpatients and outpatients in Skikda, Algeria. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 18(03), 383-390. <https://doi.org/10.3855/jidc.18263>

### Liste des communications :

#### ➤ *Communications internationales affichées :*

- 1) Détection d'*Escherichia coli* productrice de carbapénémase à l'EPH Abd-El Rezek Bouhara de Skikda. **Amina Bougouizi**, Zohra Chekroud, Hamza Rahab, Labid Asma, The 1st International Seminar on Pollution, Health, Environment, and Biomonitoring SIPSEB, 21, 27 et 28 décembre 2021, Faculté des Sciences, Département des Sciences de la Nature et de la Vie, Université 20 Août 1955, Skikda.
- 2) Détection de *Klebsiella sp* productrice de beta-lactamase à spectre étendu (BLSE) de type CTX-M chez les patients hospitalisés et externes dans la wilaya de Skikda. **Amina Bougouizi**, Zohra Chekroud, Labid Asma, Hamza Rahab, séminaire international (webinaire) de Microbiologie, 4 juin 2022, Béjaia.
- 3) Première détection d'*Escherichia coli* coproductrice de BLSE et de carbapénémase à l'hôpital Abd El Rezek Bouhara de Skikda-Algérie. **Amina Bougouizi**, Zohra Chekroud, Hamza Rahab, The 1st international seminar on the VALORIZATION OF AGRONOMIC, ECOLOGICAL AND FOOD RESOURCES (ISVAEFR 2022), 18, 19 et 20 octobre 2022, Département des sciences agronomiques, Université 20 Août 1955, Skikda.
- 4) Détection d'*Escherichia coli* productrice de beta-lactamase à spectre étendu (BLSE) de type CTX-M à l'hôpital Abd El Rezek Bouhara de Skikda. **Amina Bougouizi**, Zohra Chekroud, Hamza Rahab, Labid Asma, 1ères Journées Internationales des Sciences de la Nature et de la Vie (INDNS 2022), 1er et 2 mars 2022, Département des Sciences de la Nature et de la Vie, École normale supérieure de Ouargla.

#### ➤ *Communication internationale orale :*

- 5) Phenotypic characterization of Carbapenem-Resistant Enterobacterales (CRE) from hospitalized and non-hospitalized patients in Skikda, Algeria. **Amina Bougouizi**, Zohra Chekroud, Hamza Rahab, International Seminar of AgriFood and industrial Biotechnology, 26, 27 juin 2024, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des sciences biologiques, Université Djilali Bounaâma Khemis Miliana.

### ➤ *Communications nationales affichée :*

- 6) Détection de *Klebsiella sp.* coproductrice de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) et de carbapénémase dans la wilaya de Skikda. **Amina Bougouizi**, Zohra Chekroud, Asma Labid, Hamza Rahab, 1ère Journée Nationale de MICROBIOLOGIE AGRO-ALIMENTAIRE et ENVIRONNEMENTALE (AAME 2022), 11 mai 2022, Département des Sciences Biologiques, Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana.
- 7) Comparison of antimicrobial resistance patterns of Enterobacteriaceae resistant to cephalosporin in urine samples of inpatients and outpatients in Skikda. **Amina Bougouizi**, Zohra Chekroud, Hamza Rahab, Journée Nationale sur l'Antibiorésistance et Environnement (JNARE), 12 décembre 2022, Département de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Frères Mentouri-Constantine1.
- 8) Détection des entérobactéries productrices de métallo-bêta-lactamase de type NDM chez les patients hospitalisés et non hospitalisés dans la wilaya de Skikda. **Amina Bougouizi**, Zohra Chekroud, Hamza Rahab, 1er Séminaire National : Génétique Moléculaire et Santé. Où en est l'Algérie ? (SNGMS), 26, 27 juin 2024, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Frères Mentouri-Constantine1.
- 9) Première détection d'entérobactéries cliniques productrices de carbapénémase de type NDM à Skikda. **Amina Bougouizi**, Zohra Chekroud, Hamza Rahab, 1ères Journées Nationales du Département de Pharmacie de Constantine, 27, 28 novembre 2024, Faculté de Médecine, Université Constantine3-Salah Boubnider.

### ➤ *Communications nationales orales :*

- 10) First detection of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL) from community-acquired urinary tract infection in Skikda-Algeria. **Amina Bougouizi**, Zohra Chekroud, Hamza Rahab, 1er séminaire national hybride de Biotechnologie et Biodiversité Microbienne (BBM 2022), 26, 27 octobre 2022, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abbes Laghrour de Khenchela.

### ***Prix de meilleure communication :***

#### ***1er Prix de la meilleure communication affichée***

1er Séminaire National : Génétique Moléculaire et Santé. Où en est l'Algérie ? (SNGMS).

Catégorie : Génomique et Santé

## Résumé

Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (E-RC3G) suscitent une préoccupation grandissante en raison de leur prévalence croissante, en particulier en pays en développement, notamment en Algérie. Cette étude vise à étudier les déterminants de la résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) et les facteurs de virulence qui leur sont associés, en milieu hospitalier et communautaire à la wilaya de Skikda. Des souches d'E-RC3G sont collectées au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Abderrezek Bouhara ainsi qu'à partir de différents laboratoires cliniques privés (LCP) situés à Skikda, durant une période allant d'octobre 2020 à juin 2022. L'identification et la sensibilité aux antibiotiques sont confirmées au moyen du Système VITEK 2. La recherche de la production de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) ainsi que la production de carbapénémase chez les souches résistantes au carbapénème ont été déterminées par un ensemble de tests phénotypiques (Antibiogramme) et génotypiques (PCR et séquençage). Les souches *Escherichia coli* étaient classées en phylogroupes, génotypées en utilisant la Eric PCR, et les gènes de virulence étaient recherchés par PCR. Au total, 82 E-RC3G sont collectées, 37 provenant de l'hôpital et 45 des LCP, principalement *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*. La majorité (67 %) des isolats provenaient d'infections urinaires. Un taux élevé des souches (69,5 %) étaient multirésistantes. Les souches des patients externes (PE) présentaient des profils de résistance aux antibiotiques comparables à ceux des souches des patients hospitalisés (PH). La plupart des E-RC3G (87 %) étaient productrices de BLSE, avec une prédominance du gène *blaCTX-M* (96 %). Les gènes codant l'AmpC sont détectés chez 7 souches, dont 5 portaient *blaCMY* et 2 *blaDHA*. Parmi les 15 entérobactéries productrices de carbapénémase (CPE), le type NDM (NDM-1 et NDM-5) était prédominant, présent chez 87 % des isolats. Les types OXA-48 et OXA-244 ont chacun été détectés chez un isolat de PE. Les isolats d'*E. coli* de PH appartenaient principalement au phylogroupe A, tandis que ceux des PE étaient majoritairement du phylogroupe B2. Les gènes de virulence étaient plus fréquents chez les souches des PE, à l'exception de *fyuA*, *traT*, *feoB* et *irp2*, plus prévalent chez les souches hospitalières, Cependant, seul *fyuA* y était associé de manière significative, tandis que *yadN* et *chuA* étaient spécifiquement liés aux PE. Le génotypage a révélé des liens clonaux à 60 % entre certaines *E. coli* de l'hôpital et des LCP. L'émergence des E-RC3G virulentes et co-résistantes aux carbapénèmes en milieu hospitalier et communautaire à Skikda représente un défi thérapeutique majeur. Cette étude est la première réalisée à Skikda pour caractériser ces isolats en explorant leurs mécanismes de résistance et leurs facteurs de virulence. Cette situation souligne l'urgence d'une surveillance continue dans ces deux milieux pour limiter leur propagation.

**Mots clés :** Entérobactérie résistante aux céphalosporines de troisième génération (E-RC3G) ; carbapénémase ; BLSE ; patient hospitalisé ; patient externe ; Virulence ; Skikda.